

Inmunología del virus de la inmunodeficiencia humana

Immunology of the human immunodeficiency virus

VICTORIA INÉS BEDOYA, LÁZARO VÉLEZ, PABLO PATIÑO,
MARÍA TERESA RUGELES MEDELLÍN

Resumen

Propósito: realizar una revisión de la literatura sobre las características de los mecanismos de respuesta inmune que se activan en cada una de las etapas de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), los tipos de respuesta observada entre diferentes subgrupos de individuos infectados y los factores genéticos, ambientales y virológicos que influyen o determinan la velocidad de progresión de la infección.

Fuentes de los datos: se hizo una búsqueda sistemática de artículos originales en las bases de datos de PubMed y Medline publicados desde 1988 hasta abril de 2002, se revisaron los artículos identificados y las revisiones publicadas por expertos.

Selección de los estudios: se encontraron 329 artículos. Se seleccionaron estudios clínicos y experimentales controlados o con grupos comparativos prospectivos y retrospectivos con datos suficientes sobre marcadores inmunológicos, virológicos y genéticos relacionados con la historia natural de la infección del VIH y la progresión de la enfermedad que permitieran calcular la razón de disparidad.

Extracción de los datos: los artículos se clasificaron y analizaron de acuerdo a si se referían a marcadores inmunológicos, virológicos, genéticos de infección por VIH-1 y/o progresión a síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y si eran artículos originales o revisiones. En el caso de marcadores inmunológicos se clasificaron de acuerdo a si estudiaban la inmunidad humoral o celular.

Resultados y síntesis de los datos: el sistema inmune es incapaz de asumir el control de la infección por el VIH-1 porque las células CD4+ son blanco del virus, se infectan en forma productiva y mueren rápidamente por diferentes mecanismos. Los linfocitos T CD8+ o células citotóxicas son importantes en la respuesta inmune anti-VIH-1, con una gran correlación entre una respuesta vigorosa y el control inicial de la replicación del VIH-1 durante la infección primaria. La mayor actividad de estas células en los progresores lentos comparada con los progresores rápidos o típicos, sugiere un papel protector de estas células tanto en la prevención como en el control de la infección.

Conclusión: la patogénesis de la infección por el VIH-1 es un proceso variable y complejo; ocurren cambios en el sistema inmune normal del hospedero por efectos directos e indirectos del virus, que determinan en parte la progresión de la infección. No todos los individuos infectados tienen un curso clínico semejante; algunos progresan rápidamente al SIDA y a la muerte, y otros no tienen signos de inmunodeficiencia por décadas. La evolución depende de factores ambientales, virales y del huésped, entre los que se destaca el efecto de las interacciones del sistema inmune con el virus. (*Acta Med Colomb* 2003; 28: 23-35)

Palabras clave: virus de inmunodeficiencia humana, patogénesis, sistema inmune, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, Medellín, Colombia.

Dra. Victoria Inés Bedoya: Especialista en Microbiología y Parasitología Médicas, Grupo de Inmunovirología; Dr. Lázaro Vélez: Especialista en Medicina Interna e Infectología, Grupo Gripe; Dr. Pablo Patiño MSc, Ph.D: Grupo de Inmunodeficiencias Primarias; Dra. María Teresa Rugeles, MSc, Ph.D, Grupo de Inmunovirología. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín.

Abstract

Objective: to review the literature about characteristics of the immune response during HIV infection, the different immune responses observed in the HIV infected individuals, and the influence of genetical, immunological and virological factors in disease progression.

Data sources: MEDLINE and PubMed databases (January 1988 - April 2002), bibliographies of identified articles, and reviews of experts in the field

Studies and data selection: 329 articles were found. Included in the analysis were prospective and retrospective controlled trials, studies with comparison groups for both the clinical disease progression and surrogate viral, genetic and humoral or cellular immune markers, and studies which provided adequate data to calculate a risk estimate for the association with a marker and disease progression.

Results and data synthesis: the immune system fails in control HIV-1 infection because CD4+ lymphocytes are a target for the virus. They became productively infected and die by different mechanisms. CD8+ T lymphocytes are important in the immune response against HIV during the primary infection, and control viral replication. There has been found a high activity of these cells in long term disease progressors in comparison to typical and rapid progressors. This suggests that these cells act as a protector in the prevention and control of infection

Conclusion: pathogenesis of HIV-1 infection is characterized for qualitative and quantitative decrease of CD4+ T lymphocytes, which coordinate the immune response. The control of the virus is lost because of a weak immune response and the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) appears. People infected with HIV have different clinical evolution: some people have a rapid progression to disease and death, but others do not exhibit signs of immunodeficiency for decades. Clinical evolution depends on environmental, viral and host factors such as the interactions of the immune system with the virus. (*Acta Med Colomb* 2003; 28: 23-35)

Key words: human immunodeficiency virus, pathogenesis, immune system, acquired immunodeficiency syndrome, CD4+T lymphocytes, CD8+ T lymphocytes, Medellín, Colombia.

Introducción

En 1983 se identificó el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) como el agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y desde ese momento se han hecho múltiples estudios sobre la interacción virus-hospedero que han permitido conocer los aspectos diversos que influyen sobre la historia natural de la infección. La evolución de la infección por el VIH-1 es diferente entre los individuos infectados e influyen factores genéticos, virológicos e inmunológicos.

La infección por VIH-1 se desarrolla en diferentes etapas y se caracteriza por una disminución progresiva de las células T CD4+, que conduce a la inmunodeficiencia y muerte. En la infección primaria se presentan altos niveles de virus que son neutralizados por los linfocitos T citotóxicos CD8+ (CTL). En la segunda fase de la infección o de latencia clínica, el virus se sigue multiplicando en los tejidos linfoides periféricos y continúa la pérdida gradual de los linfocitos CD4+. En la última fase de la infección o SIDA, hay un estado de inmunosupresión profunda por la caída en el número de los linfocitos CD4+ a menos de 200 células/ml y un aumento en la carga viral.

Los pacientes infectados se han dividido en varios subgrupos con base en la progresión del SIDA: los progresores típicos, son la mayoría y tienen un período de seis a ocho años de latencia clínica; los progresores rápidos, que desarrollan el SIDA dos a tres años después de la

infección primaria; los progresores lentos, que permanecen por más de 10 años con un sistema inmune competente y no experimentan progresión a la enfermedad. Por último, los sobrevivientes a largo plazo que a pesar de haber desarrollado el SIDA en el mismo período de tiempo de los progresores típicos, sobreviven por mucho más tiempo.

El objetivo de esta revisión es analizar los mecanismos de respuesta inmune que se activan en cada una de las etapas de la infección viral y las características de esa respuesta entre los diferentes subgrupos. Inicialmente se discutirán algunos aspectos básicos y epidemiológicos del VIH-1, y posteriormente se analizarán los factores genéticos y virológicos que influyen o determinan la velocidad de progresión de la enfermedad.

Metodología

Los artículos citados en esta revisión fueron recopilados de la literatura médica citada en PubMed desde 1988 hasta abril de 2002. También se incluyeron artículos referenciados por los anteriores y algunas revisiones del tema. Las palabras claves usadas como términos MeSH fueron *HIV*, *disease progression*, *immune response* y *AIDS*. El número de artículos encontrado fue de 329, se excluyeron de la revisión aquellos artículos que no se referían a marcadores inmunológicos y/o virológicos de infección por VIH y progresión a SIDA y artículos escritos en idiomas diferentes al inglés y español. Se incluyeron estu-

dios experimentales y clínicos controlados o con grupos comparativos tanto prospectivos como retrospectivos, que informaran datos suficientes para calcular la razón de disparidad cuando se referían a progresión de la infección a SIDA.

Aspectos básicos y epidemiológicos

Es importante recordar algunos aspectos básicos y epidemiológicos del virus haciendo énfasis en aquellos relacionados con los efectos de la interacción entre el sistema inmune y el virus durante la patogénesis de la infección.

Morfología y ciclo replicativo viral

El VIH-1 es un virus de forma casi esférica, de 100 nm de diámetro, envuelto, con dos cadenas sencillas de ácido ribonucleico (ARN). La envoltura está constituida por proteínas de origen viral, entre las que se destacan la glicoproteína 120 (gp120) en el exterior y la glicoproteína 41 (gp41) inmersa en la envoltura, y proteínas de origen humano como las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase I y clase II (1,2). (Figura 1)

El ciclo viral de VIH-1 en las células blanco se inicia por la unión específica de la gp120 con el receptor CD4, interacción que produce un cambio en la estructura de la

glicoproteína y la expresión de un sitio de enlace para un correceptor, que en la mayoría de los casos es un receptor de quimioquinas, particularmente las moléculas CCR5 y CXCR4. La molécula CCR5 es utilizada principalmente por virus M-trópicos que son cepas con mayor tropismo por macrófagos, no formadoras de sincicios y son la forma de transmisión primaria del virus. Los virus T-trópicos o con mayor tropismo por células T, utilizan principalmente como correceptor la molécula CXCR4; la progresión de la infección se ha asociado con la aparición de estas variantes virales (3-6). La molécula CXCR4 es expresada por linfocitos T "vírgenes" (CD45RA⁺) y la molécula CCR5 es expresada tanto por células CD45RA⁺ como por células de memoria (CD45RO⁺). La activación inmune por patógenos oportunistas, estímulos inflamatorios, o por el mismo virus, puede afectar la expresión de esos correceptores en células no infectadas, modulando su susceptibilidad a la infección por el VIH-1 (7,8).

Una vez ocurre la unión del virus con la célula susceptible, se da la fusión de la envoltura del virus con la membrana plasmática de la célula. El ARN viral junto con la cápside entra al citoplasma celular y una vez liberado es copiado en una molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN) de doble cadena, por acción de la enzima transcriptasa reversa viral (RT); el ADN viral es transportado al núcleo y gracias a la enzima viral integrasa, es inserta-

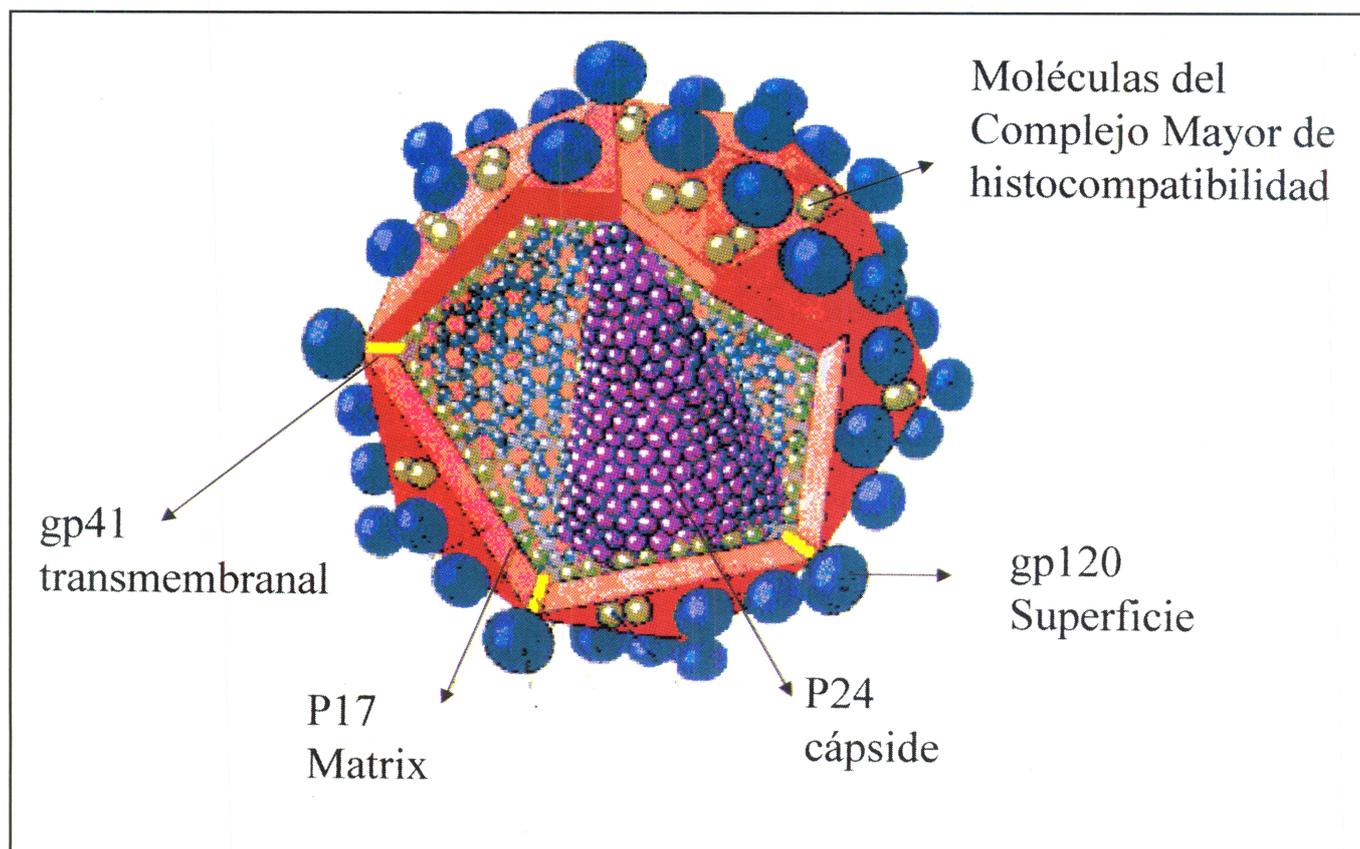


Figura 1 Estructura del virus. Observe la presencia de proteínas de origen viral y humano en la superficie viral.

do al azar en el ADN de la célula hospedera. El material genético viral integrado se denomina provirus. En las primeras etapas de la infección el provirus es quiescente y se replica en forma coordinada con el ADN de la célula hospedera (1,2). En el momento en que ocurre la activación celular, los genes del provirus son transcritos en dos fases: en la fase temprana se transcriben los genes reguladores de la replicación *tat*, *nef* y *rev*. El gen *nef* codifica por una proteína que disminuye la expresión del receptor CD4 y del CMH tipo I en los linfocitos infectados, lo que hace que estas células evadan el reconocimiento inmunológico y la lisis por los linfocitos T citotóxicos CD8+. Al mismo tiempo este gen aumenta la producción de partículas virales, así como su inefectividad (9-11). En la fase tardía se transcriben los genes estructurales del virion: el gen *gag* codifica las proteínas de la nucleocápside, el gen *pol* las enzimas virales y el gen *env* las proteínas de la envoltura. Otros tres genes accesorios, *vif*, *vpr* y *vpr* codifican proteínas necesarias para el ensamblaje, la maduración viral y la degradación intracelular del receptor CD4. Estos precursores proteicos junto con copias completas del ARN vírico, se ensamblan en el citoplasma y se desplazan a la superficie de la célula para salir a través de la membrana. Durante este proceso, las partículas virales arrastran con algunas proteínas celulares incorporándolas en su envoltura, como por ejemplo las moléculas del CMH. Fuera de la célula ocurre la etapa final del ensamblaje, donde la proteasa viral corta los precursores proteicos para formar las proteínas estructurales y las enzimas necesarias para completar el nuevo virion (1,2).

Epidemiología

Desde el primer caso descrito hasta la fecha han muerto 22 millones de personas como consecuencia del SIDA y hasta 1999 se habían reportado 3.6 millones de niños muertos. En 1999 murieron 3 millones de personas y se calcula que ocurrieron 5.8 millones de nuevas infecciones. En la actualidad hay 36 millones de personas infectadas, es decir aproximadamente uno de cada 100 adultos con edades comprendidas entre los 15 y 49 años (12, 13). Desde que la pandemia empezó han muerto aproximadamente 557 mil hombres, mujeres y niños por SIDA en las Américas (14). La mortalidad por VIH/SIDA va en aumento a pesar de los nuevos esquemas de tratamiento; en 1990 el SIDA causó el 1% de las muertes en el mundo, lo que podría aumentar al 2% en el año 2020(13, 15).

Alrededor de una persona por cada 200 en las Américas está infectada con VIH-1. Latinoamérica y el Caribe tienen el 8% de la población mundial y tienen el 5% de la gente viviendo con el VIH-1, 1.3 millones y 360 mil personas respectivamente. El Caribe, es la segunda región más afectada después del Subsahara Africano. En Colombia, hay entre 100.000 y 200.000 personas viviendo con el VIH-1 de los cuales de 20 a 40 mil son mujeres; los casos reportados son aproximadamente 22.000 y se estima que hay cinco a 10 veces más personas infectadas por cada reporte (16).

El 75% de los casos reportados se infectan por contacto sexual, 15 a 25% por exposición a agujas contaminadas y en el cinco al 10% la infección se adquiere verticalmente. El 75% de la transmisión sexual en el mundo es heterosexual, principalmente en África y el sudeste asiático; la homosexualidad todavía es importante en las Américas y Europa occidental, pero explica sólo el 1% de las nuevas infecciones. La transmisión perinatal está en aumento con un 20% de los casos. En Colombia, la transmisión sexual ocurre en el 95% de los casos (13, 15).

Historia natural y respuesta inmune a la infección por VIH-1

El curso clínico de la infección por el VIH-1 incluye tres fases: (a) infección primaria, (b) latencia clínica y (c) SIDA (Tabla 1). Este curso de infección es característico de los llamados progresores, que son la mayoría de los individuos infectados por VIH-1, con un tiempo medio desde la infección al SIDA de ocho a diez años (17).

a) Infección primaria

Durante las primeras semanas posinfección hay niveles altos de viremia y el 50-90% de los individuos infectados con VIH-1 experimentan un síndrome clínico de severidad variable llamado síndrome retroviral agudo (Tabla 1), similar a la mononucleosis infecciosa, caracterizado por fiebre, brote y adenopatías (Figura 2). Alrededor de 120 días después de la infección, la respuesta inmune controla parcialmente la replicación viral pero no es capaz de eliminar el VIH-1 completamente (18-21).

Las primeras células en ser infectadas en el tracto genital son los macrófagos y las células dendríticas, estas últimas transportan el virus al sistema linfóide regional donde se infectan células T CD4+ activadas (22). Diferentes estudios demuestran que durante los primeros estadios de la

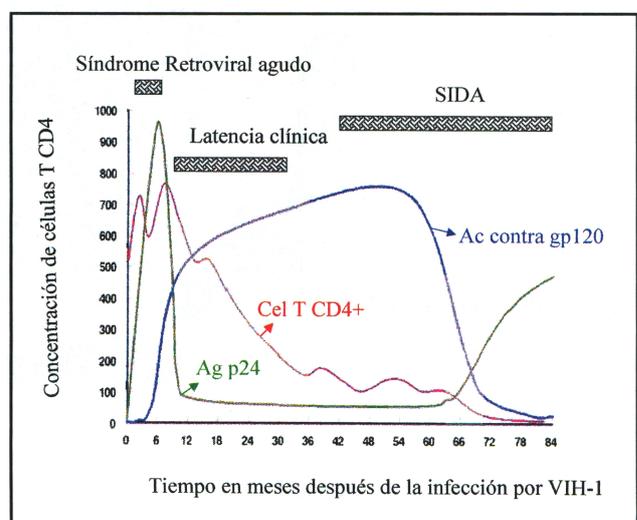


Figura 2. Relación de la concentración de células CD4+ con la detección del antígeno p24 viral, la producción de anticuerpos contra la gp120 y tiempo de la infección por VIH-1.

Tabla 1. Comparación de los diferentes componentes de la respuesta inmune en las diferentes fases de la infección.

		Infección primaria	Latencia	SIDA
Síntomas		Síndrome retroviral agudo	Asintomático	Infecciones oportunistas
Viremia		10 ⁷ copias de ARN viral por ml de plasma	Estabiliza en un promedio de 10.000 a 100.000 copias de ARN viral	Aumenta el título
Linfocitos T CD8+		20% más alto del rango normal antes de empezar a disminuir	Número alto de activación principalmente contra proteínas estructurales	Actividad citotóxica ausente Disminución CTL específicos
Linfocitos T CD4+		Activación alta y disminución lenta en su número y función	Disminución lenta y menor número de células activadas	Niveles menores de 200 células/ml de plasma
Citoquinas	Aumentan replicación del virus	IL-1, IL -2, IL-3, IL-6, IL-12, CSF-GM, CSF-M, TNF α-β	Altas concentraciones en plasma, aumento del TNF-α relacionado con la progresión	Niveles de IL-10 e IFN-α altos
	Disminuyen replicación del virus	IFN-α, IFN-β e IL-10		
	Ambas funciones	IFN-γ, IL-4 y TGF-β		
Inmunidad humoral		Anticuerpos neutralizantes contra proteínas gp120 y p24. Anticuerpos específicos no neutralizantes contra proteínas p24, Nef, Rev, Vpr, Vpu, Tat,	Gran producción de IgG e IgM	Rara vez se detectan anticuerpos neutralizantes. Disminución de anticuerpos específicos contra gran variedad de proteínas.

infección primaria, predominan en el nódulo linfático las células que expresan el VIH-1. Poco después de la seroconversión, ocurre hiperplasia folicular y las partículas virales son atrapadas en la red de células dendríticas foliculares (FDC) que penetran a los centros germinales. Los virus localizados en la red de FDC durante la infección primaria son infecciosos, aun cuando estén formando complejos inmunes con anticuerpos específicos (23, 24).

Entre el día cinco al 11 después de la infección aumentan los títulos del virus, con niveles de viremia de 10⁷ copias del ARN viral por ml de plasma y con un gran número de células infectadas, lo que refleja la diseminación sistémica del VIH-1. Estudios de la dinámica viral durante la infección primaria sugieren que la carga viral se dobla cada seis a 10 horas y por cada célula infectada se pueden infectar 20 células nuevas. La vida media de los viriones en circulación es de seis horas y de los linfocitos T CD4+ infectados es de 1.5 días (18, 20, 25, 26).

Luego del pico de viremia inicial, se detecta una respuesta celular y humoral específica que disminuye el nivel del virus en sangre y su expresión en las células mononucleares de sangre periférica (27).

1. Inmunidad celular

La replicación viral no controlada durante la infección primaria produce una activación de la respuesta inmune celular con (i) aumento en el número de las células T CD8+ activadas, (ii) activación de linfocitos CD4+, y (iii) aumento en la concentración de las citoquinas (Tabla 1).

Linfocitos T CD8+. La inmunidad celular específica está dominada por un aumento inicial en el número de CTL, hasta un 20% por encima del rango normal (200-600 por ml de sangre), los cuales son críticos para el control por

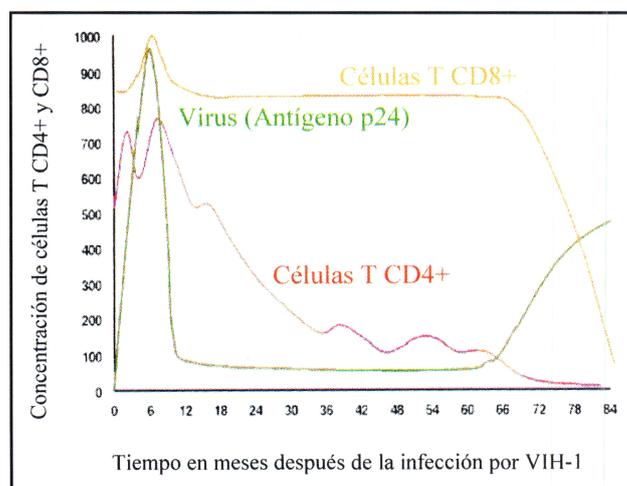


Figura 3. Relación de la concentración de las células CD4+ y CD8+ con el antígeno p24 durante la infección por VIH-1

el hospedero de la infección primaria por VIH-1, pues se correlacionan fuertemente con la disminución de la viremia y con una disminución más lenta de las células CD4 (21, 28) (Figura 3). Los CTL tienen especificidad por varias proteínas del VIH-1, como: la proteína de cápside, la RT, las proteínas de la envoltura y las proteínas reguladoras (29-33). Estas células se detectaron tan temprano como cinco días después de la infección en el modelo simiano de infección aguda, en el cual se demostró que al eliminar las células CD8+ con anticuerpos monoclonales, los primates fueron incapaces de controlar la infección primaria (34, 35). A medida que la infección progresa aumenta la carga viral y se disminuye el nivel de CTL (36, 37) (Figura 3). El mecanismo de acción de los CTL es la citotoxicidad clásica

o la supresión de la replicación viral mediada por factores solubles como interferón (IFN)- γ , factor antiviral soluble (CAF), RANTES, MIP-1 α y MIP-1 β (ligandos naturales del CCR5), quimioquinas derivadas de macrófagos y la interleuquina (IL)-16 (38-41).

Linfocitos T CD4+. La infección de todos los órganos linfoides ocurre como resultado de la viremia que se desarrolla durante la infección primaria. Se ha demostrado que las células T CD4+ asociadas al tejido linfoide intestinal (GALT) son importantes para la replicación viral en la infección primaria y en las fases subsecuentes de la enfermedad (42, 43). Los linfocitos T CD4+ específicos de antígeno, son activados en nódulos linfoides por células dendríticas que presentan epitopes proteicos del VIH-1 en el contexto del CMH clase II. Como resultado de esta activación se secreta IL-2, la cual aumenta la respuesta de los CTL específicos, la respuesta humoral y promueve la integración y la replicación del VIH-1. La sobrevida más corta de los linfocitos T CD4+ como consecuencia de esta infección, no es compensada por un aumento en la producción de nuevas células T (44).

Citoquinas. Las citoquinas tienen un papel inmunorregulatorio y modulan la expresión del VIH-1; pueden ser divididas en tres grupos con base en su efecto sobre la expresión y replicación del virus: (1) *inductoras de expresión viral*, los cuales incluyen IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-12, el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (CSF-GM), el factor estimulador de colonias de macrófagos (CSF-M) y el TNF α / β (Tabla 1); (2) *supresoras de la expresión del virus* como IFN- α , IFN- β e IL-10; y (3) *bifuncionales*, como IFN- γ , IL-4, y el factor de crecimiento de tumores (TGF- β). Durante el curso de la infección por VIH-1 se han descrito altos niveles de expresión constitutiva de citoquinas proinflamatorias como IFN- γ , IL-10 y TNF- α , y de IL-1 β e IL-6 en sangre periférica y en nódulos linfáticos que pueden contribuir a mantener un nivel constante de expresión y replicación viral. La secreción aumentada del IFN- γ en las fases tempranas de la infección se correlaciona con la expansión oligoclonal de las células T CD8+, característica dominante de la respuesta inmune en la infección primaria (8, 17, 45). Por su parte la IL-10 inhibe la replicación del VIH-1 porque bloquea la secreción de TNF- α e IL-6 por los monocitos o macrófagos infectados.

2, Inmunidad humoral

Desde muy temprano en la infección primaria se encuentran títulos altos de anticuerpos específicos para una gran variedad de proteínas del VIH-1 que carecen de actividad neutralizante (46). No es claro por qué no se generan inicialmente anticuerpos neutralizantes y sólo aparecen varios meses después de la seroconversión y de la disminución de la carga viral. Se ha sugerido que la neutralización se dirige contra epitopes que no están expuestos durante la infección primaria (47, 48). Hay evidencia de que la neutralización ocurre cuando los anticuerpos se unen a formas

oligoméricas de la gp120 a través de epitopes discontinuos presentes en estas proteínas plegadas y no a formas monoméricas solubles con epitopes lineales (49, 50). La neutralización ocurre después de la unión del virus a la célula y se hace porque el anticuerpo interfiere con los enlaces polianiónicos entre la región variable (V3) de la gp120 y el receptor celular (51).

Además de los anticuerpos neutralizantes, se sintetizan una variedad de anticuerpos contra proteínas del VIH-1 como la p24, Nef, Rev, Vpr, Vpu y Tat. Los anticuerpos que unen células NK y monocitos por medio del receptor Fc pueden proporcionar un mecanismo de muerte de células infectadas que expresan gp120 en su superficie, a través de la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (ADCC) y así contribuir a la eliminación de los virus (52, 53). Los anticuerpos contra la proteína de la cápside p24 aparecen pocas semanas después de la infección y realizan un papel importante en la disminución de la viremia. La desaparición de esos anticuerpos se ha relacionado con progresión de la infección (1, 2) (Figura 2).

b) Período de latencia

La segunda fase de la infección por VIH -1 (Tabla 1) es un período largo, asintomático entre la infección primaria y el SIDA. Como resultado de la respuesta inmune se disminuye el número de partículas virales en sangre, la carga viral se estabiliza y el paciente entra a un período de latencia clínica. El nivel de carga viral predice el tiempo del comienzo de la sintomatología; con menos de 1.000 copias por ml de sangre, el período de latencia podrá ser de más de diez años; con menos de 200 copias puede no aparecer la enfermedad, mientras que en aquéllos con más de 100.000 copias la pérdida de células CD4+ es más rápida y la progresión a SIDA se da antes de los diez años (Figura 2) (8). La mayoría de los pacientes tienen entre 10.000 y 100.000 copias durante el período de latencia, con replicación del virus en forma activa y continua en los tejidos linfoides periféricos, que sirven como sitio anatómico primario de secuestro viral y de replicación y pérdida gradual de las células T CD4+ (54-56). El virus libre puede detectarse, aunque los niveles son más bajos que los observados durante la infección primaria o cuando los pacientes tienen SIDA (25, 57). Estudios usando reacción en cadena de la polimerasa (PCR) inversa para detectar la unión entre provirus y ADN cromosomal del hospedero han mostrado que el virus integrado está en el 0.01% de células T CD4+ de la sangre periférica, y la proporción de células que llevan el ADN viral es tres a diez veces más alta en los nódulos linfáticos que en la sangre periférica (55).

Aunque la fracción de macrófagos y células dendríticas infectadas es muy baja, estas células constituyen un reservorio importante, ya que el VIH-1 es menos citopático para estas células y pueden continuar secretando el virus durante toda su vida (58, 59). Otro reservorio importante que constituye una de las principales barreras para alcanzar la erradi-

cación del VIH-1 está compuesto de células T CD4+ en reposo, con provirus integrado y expresión baja de genes virales, por lo que son resistentes a los mecanismos citotóxicos efectores del hospedero (60).

Las células infectadas en forma latente se establecen tan temprano en la infección primaria como 48 horas después de la presentación de un síndrome retroviral agudo (61). Aunque la reactivación del virus desde su reservorio latente contribuye sólo a una pequeña fracción del virus plasmático en individuos no tratados, este reservorio hace imposible que se elimine la infección en pacientes con tratamiento antirretroviral altamente efectivo (HAART) y en quienes las células infectadas productivamente han caído a un punto donde el virus plasmático es indetectable. La disminución del reservorio de células T CD4+ infectadas en la fase latente, en las cuales ocurre replicación competente, se demostró *in vitro* en una pequeña porción de pacientes que comenzaron la terapia durante la infección primaria por VIH-1 (62-64). Sin embargo, la persistencia de estos reservorios a largo plazo ha sido claramente establecida en monocitos de sangre periférica después del primer año de terapia (65).

Durante el período de latencia clínica los CTL se encuentran activados en un número elevado contra proteínas estructurales o reguladoras virales (36, 66) (revisado en 64). Los linfocitos T CD4+ se encuentran activados, al igual que los linfocitos B con producción aumentada de IgG e IgM (8). La persistencia de una respuesta específica contra proteínas de la cápside está asociada con un menor riesgo de progresión de la enfermedad (67).

La concentración de citoquinas en plasma es elevada; con la progresión de la enfermedad aumentan las concentraciones del TNF- α , IL-4 e IL-10 (68, 69). La activación crónica de la vía de señalización del TNF- α lleva a un aumento en la transcripción del VIH-1, a una inducción de apoptosis de células mononucleares y a una supresión de la hematopoyesis. La gp120 es la responsable de inducir en forma directa la secreción de esta citoquina por células mononucleares (8).

c) SIDA

El SIDA es la fase final y el estado avanzado de la infección por el VIH-1 que se caracteriza por un estado de inmunosupresión profunda. Cuando el número de células T CD4+ alcanza niveles menores a 200 células/ml, los títulos del virus aumentan rápidamente y comienzan a ocurrir las infecciones oportunistas. Una vez los pacientes llegan a esta etapa rara vez sobreviven por más de dos años sin tratamiento antirretroviral. Uno o dos años antes del desarrollo del SIDA ocurre una disminución rápida de las células T CD4+, que está precedida por un aumento en la carga viral (70). En la mayoría de los casos, la progresión de la enfermedad está asociada con la evolución de especies virales más patogénicas con mayor tropismo por los linfocitos T que utilizan el receptor de la quimioquina CXCR4 (71, 72).

La disminución de las células T CD4+ y el desarrollo del SIDA parece estar determinado por varios factores: el primero, es el nivel de replicación viral, ya que pacientes con niveles plasmáticos virales más altos progresan más rápidamente a SIDA (73). El segundo está asociado con la disminución en la producción de células T por el timo y el aumento en la destrucción de las mismas en la periferia (44, 74, 75). Hay daño en la arquitectura del tejido linfoide, con involución folicular, hipervascularidad y fibrosis. Un último factor es la pérdida de las células dendríticas foliculares, que tiene como consecuencia la incapacidad de mantener la respuesta de células de memoria y de desarrollar una respuesta inmune contra nuevos antígenos.

El número de CTL y su actividad citotóxica está ausente en este estadio de la enfermedad (76, 77). En forma similar, los anticuerpos neutralizantes rara vez son detectados y los títulos de anticuerpos contra varias proteínas del VIH-1 están disminuidos en forma significativa (76). En contraste, los niveles de expresión y producción de ciertas citoquinas como la IL-10 y el IFN- γ permanecen muy altos, lo que refleja el hecho de que las células T CD8+ y los monocitos/macrófagos son la mayoría de las células mononucleares circulantes después del agotamiento de la mayoría de las células T CD4+ (78). La destrucción de los órganos linfoides es el mecanismo primario responsable de la inmunosupresión severa asociada con el estadio tardío de la enfermedad.

Alteraciones inmunológicas causadas por el virus

Durante la infección por el VIH-1 se eliminan células CD4+ infectadas como consecuencia de la replicación viral. Sin embargo, durante las diferentes etapas de la infección también se eliminan células CD4+ no infectadas por mecanismos indirectos. Durante la replicación viral se va produciendo la acumulación del ADN viral no integrado y ARN viral en el citoplasma, lo cual interfiere con el procesamiento del ARN celular normal (79, 80). También se genera una alta concentración intracelular de gp120; esta proteína viral es un potente inmunógeno que activa macrófagos y linfocitos, induce la secreción de citoquinas proinflamatorias e interactúa con moléculas intracelulares de CD4, induciendo la muerte celular por autofusión de la membrana plasmática (81). Además, las células T CD4+ responden a varias proteínas virales, incluyendo Gag y Pol, con una serie de señales intracelulares como la regulación negativa de la vía del receptor del fosfatidilinositol y activación de las vías de ras, que están implicados en la anergia, la formación de sincicios, apoptosis y tráfico celular inapropiado (82-84). La respuesta inmune viral específica mediada por los CTL, por NK y la ADCC también contribuyen en la eliminación de células CD4+.

Entre los mecanismos indirectos que son responsables de la alteración cuantitativa de las células CD4+ está la disminución en la producción de IL-2, disminución en la expresión del receptor de IL-2 y disminución en el porcen-

taje de células T CD4+ que expresan el CD28 y el CD40, lo cual no permite que estas células sean completamente activadas y proliferen (44,85).

La pérdida de la actividad citotóxica específica de los CTL en pacientes con la enfermedad progresiva es el resultado de varios factores: defectos en la función de las células T CD4+ que no proporcionan las citoquinas adecuadas para la activación completa de los CTL; disminución de la expresión celular del CMHI por efecto de proteínas reguladoras virales tales como Tat, Nef y Vpu (9, 86-88); acumulación selectiva de linfocitos CD8+ específicos que no expresan el receptor de IL-2 (89); mutaciones en el epítipo de reconocimiento viral, que aparecen por la presión selectiva ejercida por los CTL (90,91); pérdida clonal de los CTL (92) y disminución en la citotoxicidad por un defecto en la producción de perforina (93).

Simultáneamente se produce hiperactivación de los linfocitos B que conduce a una hipergammaglobulinemia policlonal, pero la capacidad de estas células para responder a los antígenos en forma específica está disminuida. Las células B activadas secretan niveles aumentados de TNF- α e IL-6, que promueven la replicación viral (revisado en 45).

Clasificación de los pacientes con base en la progresión de la enfermedad

Progresores típicos

La mayoría (70-80%) de los individuos infectados pertenecen a este grupo. Luego de la infección primaria, estos pacientes experimentan un período de latencia clínica de seis a ocho años. Hay una relación clara entre los síntomas clínicos y el nivel de células T CD4+: individuos con células T CD4+ >500/ml generalmente están libres de síntomas, pero a medida que disminuye este número y se acerca a 200/ μ l, se hacen más frecuentes las enfermedades oportunistas. Las excepciones son aquellos sujetos que con conteos de células CD4+ mayores de 500 células/ml desarrollan linfadenopatías generalizadas (94), sarcoma de Kaposi (17) o enfermedad neurológica (95). La aparición de fiebre sin causa aparente, pérdida de más del 10% del peso y diarrea de más de un mes de evolución son indicadores de recuentos de células CD4+ bajos o que están disminuyendo rápidamente, aunque estén por encima de 200 células/ml (17). Cuando el número de células CD4+ disminuye por debajo de esta cifra, el cuadro clínico se caracteriza por signos y síntomas constitucionales persistentes y hay una susceptibilidad aumentada a infecciones oportunistas y neoplasias debido a la inmunosupresión (Figura 4) (96).

Progresores rápidos

Entre 10 y 15% de los individuos infectados con VIH-1 experimentan una progresión a SIDA inusualmente rápida, durante los dos a tres años después de la infección primaria. Estos pacientes pueden experimentar un síndrome viral

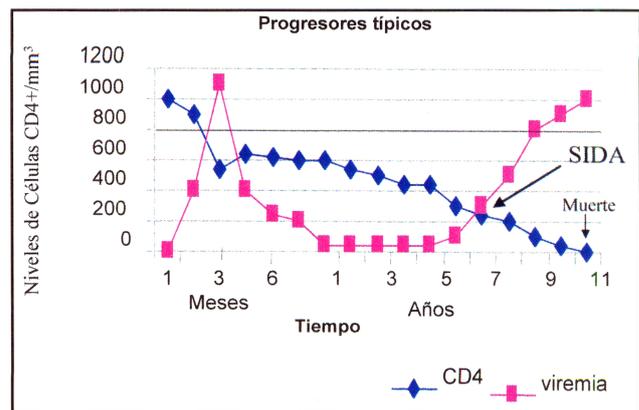


Figura 4. Curva de progresión a SIDA en pacientes progresores típicos y su relación con el conteo de CD4+ y los niveles de viremia.

agudo prolongado y los síntomas constitucionales, de severidad variable, pueden persistir después de la transición a la fase crónica de la infección. Los síndromes virales prolongados, la persistencia de los síntomas y altos niveles de viremia están asociados a un retardo en la activación de los CTL. En estos pacientes puede no haber latencia clínica o ser muy breve. El control de la viremia inicial no es muy eficiente por lo que la carga viral aumenta en forma rápida en el primero o segundo año después de la infección primaria, lo cual refleja un control muy pobre de la infección por parte del sistema inmune (Figura 5). En ellos hay un retardo en la aparición de la respuesta inmune primaria y desaparecen ciertas funciones inmunes en los estadios tempranos de la fase crónica de la infección (21,76,97,98).

Estudios longitudinales de la respuesta inmune en algunos pacientes han mostrado una disminución rápida de los linfocitos T CD4+ y una débil respuesta de anticuerpos neutralizantes, que disminuye con el tiempo. Inicialmente hay una respuesta específica no citolítica de los linfocitos T CD8+, contra epítipes Env y Pol del virus, que suprime la replicación viral pero que desaparece rápidamente. No hay proliferación de linfocitos específicos contra el VIH-1 (99).

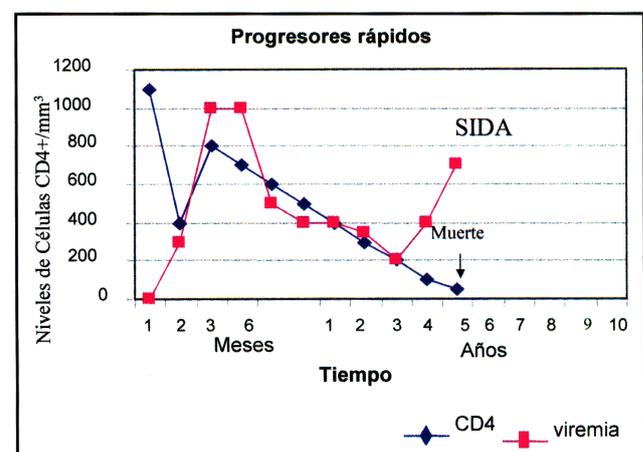


Figura 5. Curva de progresión a SIDA en pacientes progresores rápidos y su relación con el conteo de CD4+ y los niveles de viremia.

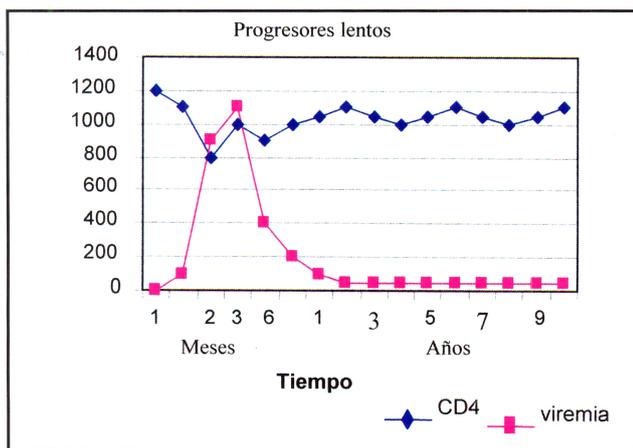


Figura 6. Curva de progresión a SIDA en pacientes progresores lentos y su relación con el conteo de CD4+ y los niveles de viremia.

Progresores lentos o no progresores

Menos del 5% de los individuos infectados no experimentan progresión a la enfermedad. En este grupo se incluyen individuos que a pesar de estar infectados por diez años o más y no haber tomado drogas antirretrovirales permanecen asintomáticos y con recuentos de células T CD4+ dentro de los rangos normales (Figura 6). Este grupo se caracteriza por presentar niveles altos de células T citotóxicas específicas y de anticuerpos neutralizantes y niveles bajos de virus circulante (menos de 50 copias del ARN viral por mililitro de plasma sin terapia antirretroviral) y de células infectadas con el VIH-1. En ellos la arquitectura de los órganos linfoides y la función del sistema inmune se preserva (100-107). Estudios en estos individuos indican que las células T ayudadoras específicas de virus son críticas para el control mediado por CTL (100,108). También se han demostrado factores solubles antivirales de linfocitos T CD8+, más potentes en estos pacientes que en los progresores típicos, y altos niveles de linfocitos T citotóxicos de memoria (109,110).

Sobrevivientes a largo plazo

Se ha llamado sobrevivientes a largo plazo a un pequeño porcentaje de individuos que desarrollan el SIDA dentro de un período de tiempo similar a los progresores típicos, con conteos de células CD4+ menores o iguales a 200 células/ml, pero que después permanecen estables y sobreviven por mucho tiempo (111) (Figura 7). Los mecanismos, ya sea virológicos o inmunológicos, responsables de este fenómeno, no son claros.

Mecanismos que explican las diferencias en la progresión a SIDA

Mecanismos inmunológicos

Las clonas de la población de linfocitos T CD4+ son importantes para determinar la respuesta del hospedero a la infección. Las células conocidas como Th1 son responsa-

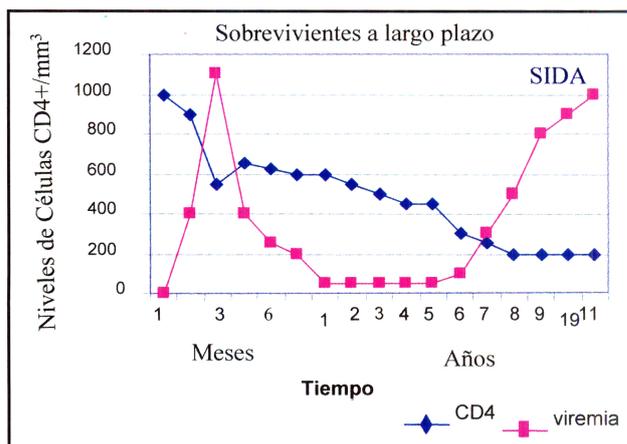


Figura 7. Curva de progresión a SIDA en pacientes sobrevivientes a largo plazo y su relación con el conteo de CD4+ y los niveles de viremia.

bles de dirigir la respuesta de linfocitos T CD8+ citotóxicos, mientras que las Th2 potencian la respuesta humoral. Los individuos infectados con VIH-1, en quienes predomina la respuesta Th1 tienden a sobrevivir más tiempo. El cambio de respuesta de Th1 a Th2 se ha correlacionado con el desarrollo del SIDA, pero no todas las citoquinas detectadas en los diferentes estadios de la infección corroboran esta hipótesis (78). Algunos estudios han encontrado que las clonas de linfocitos Th2 y Th0 son más permisivas para la replicación del virus *in vitro* que las clonas Th1 (69).

Las células T pueden ser identificadas fenotípicamente por la región variable (V) de la cadena b (Vb) del receptor de células T (TCR); se ha demostrado que el principal componente de la respuesta inmune primaria está representado por la expansión oligo o monoclonal de las clonas de linfocitos T CD8+. Se han descrito tres patrones de expansión en pacientes VIH-1 positivos: (1) expansión de una sola de las familias de Vb en sangre periférica (patrón tipo 1); (2) expansión de dos familias de Vb (patrón tipo 2) y (3) expansión de múltiples (mayor de 2) de las familias de Vb (patrón tipo 3). La importancia de estos hallazgos se relaciona con la observación de que esos patrones diferentes, están asociados con los cursos clínicos de la infección; los pacientes que experimentan mayor expansión de una sola familia de Vb generalmente tienen una progresión rápida a SIDA, los sujetos con expansión moderada de dos familias de Vb generalmente tienen un porcentaje de progresión intermedio y aquellos sujetos con expansión múltiple generalmente tienen progresión lenta de la infección (85, 112, 113). El mecanismo responsable de esas diferencias cualitativas en la respuesta inmune primaria de los individuos infectados por VIH-1 no es claro. Una explicación obvia es que esas diferencias son el resultado de un proceso de selección que ocurrió durante la ontogenia de las células T en el timo. Sin embargo, no puede excluirse que esas diferencias puedan estar relacionadas al hecho de que esos individuos hayan estado expuestos previamente al virus sin infectarse, y que durante una nueva exposición que llevó a

la infección se haya dado una respuesta más vigorosa, correspondiente a una respuesta secundaria o terciaria al antígeno (85,113).

Mecanismos genéticos

Diferentes polimorfismos en los receptores de las quimioquinas se han correlacionado con variación en la progresión de la infección. El mejor caracterizado es la delección de 32 pares de bases en el gen que codifica para la molécula CCR5, que conlleva a que no se exprese este receptor en la membrana de las células de los individuos que son homocigóticos para este defecto. Estas personas son altamente resistentes a la infección por virus M-trópicos mientras que los individuos heterocigóticos tienen una progresión más lenta de la infección (114-116). Un retraso en el progreso de la infección también se ha asociado con mutaciones en el gen del receptor CCR2b (117). Por el contrario, la presencia del haplotipo homocigoto CX3CR1 1249 M280 en otro correceptor, el CX3CR1, está asociado con progresión acelerada de la enfermedad (118).

Los polimorfismos en el gen que codifica para la quimioquina RANTES, ligando del receptor CCR5, se han asociado con cambios en la evolución de la infección por el VIH-1. Un polimorfismo que conlleva a una transcripción aumentada de RANTES se ha asociado con un retardo en la progresión de la infección (119). Sin embargo, otros autores lo encontraron como un factor de riesgo porque la producción aumentada puede facilitar la entrada del virus, al promover la inflamación de las superficies mucosas (120). Lo mismo ocurre con una mutación que aumenta la síntesis de SDF-1, el ligando del receptor CXCR4, que compite con el VIH-1 por el receptor expresado en los linfocitos T. Algunos estudios muestran que la mutación homocigota de este gen está asociada con una progresión retardada de la enfermedad (121) y otros con una progresión acelerada (122). Otros polimorfismos en los genes de las citoquinas pueden también ser importantes en la historia natural de la infección, como se ha encontrado con polimorfismos del gen de la IL-10 que se han asociado con una progresión rápida de la enfermedad (123).

La eficiencia con la que el hospedero responde a la infección por VIH-1 también depende de su HLA; existen muchos estudios donde se correlacionan diferentes alelos clase I y II con la evolución de la infección: los que han sido mejor caracterizados son los A2, B27 y B57, que se han asociado a una progresión lenta de la infección, mientras que los alelos B35 y CW*04 se han asociado con una progresión rápida hacia SIDA. En términos generales, la evolución lenta de la infección se ha relacionado con la heterogeneidad máxima del HLA, que permite que un mayor repertorio de péptidos sean presentados a los CTL, mientras que la homogeneidad de estas moléculas con una progresión rápida (124,125).

Mecanismos virológicos

El VIH usa varios mecanismos para evadir la respuesta inmune, entre los cuales se destacan la variación antigénica que lleva a que el virus no sea reconocido por los linfocitos T y no ocurra activación de la inmunidad celular (91), la disminución en la expresión de las moléculas del CMH en la superficie de las células infectadas (9), la localización del virus en el sistema nervioso central, ojos y testículos, donde está menos expuesto a las células inmunes (54). Además, el virus permanece viable por largos periodos en las células dendríticas foliculares de los nódulos linfáticos (24) y en las células T de memoria que le sirven como reservorio, debido a que no se expresan productos virales en su superficie (126,127). Se han reportado virus atenuados debido a modificaciones en su genoma; éstos producen infecciones que progresan más lentamente o que no progresan, como es el caso de los virus que tienen delecciones del gen *nef* (128-130).

Conclusión

La patogénesis de la infección por VIH-1 es variable y compleja, depende tanto de factores virales como del hospedero. Durante este proceso ocurren cambios en el sistema inmune normal del hospedero por efectos directos e indirectos del virus, que determinan en parte la progresión de la infección.

Una razón para que el sistema inmune falle en el control de la infección por VIH-1 es que las células CD4+, componentes centrales del sistema inmune, son blanco del virus; estas células se infectan en forma productiva y mueren rápidamente por diferentes mecanismos. Hay evidencia de que la timopoyesis continúa (131), pero esta función tímica residual no es suficiente para compensar el proceso de eliminación de los linfocitos T en la periferia (75,132). Se destacan como medios efectores principales en la respuesta inmune anti-VIH-1, los linfocitos T CD8+ o células citotóxicas, las cuales también producen un amplio rango de citoquinas y quimioquinas antivirales (93). Existe una correlación importante entre una respuesta vigorosa de los CTL y el control inicial de la replicación del VIH-1 durante la infección primaria; la alta actividad de estas células en los progresores lentos comparada con los progresores rápidos o típicos, sugiere un papel protector de estas células tanto en la prevención como en el control de la infección.

Múltiples estudios realizados en los últimos años en los cuales se explora la relación entre el virus y su hospedero han permitido entender muchos de los mecanismos implicados en el proceso de infección y en el sistema de defensa. Se ha identificado en gran parte la respuesta inmune efectiva para el control de la replicación del VIH-1 *in vivo*. La recuperación de la respuesta inmune específica para VIH-1, principalmente la ayudadora y citolítica, se ha convertido en una de las principales metas de la terapia en la infección por el VIH-1.

Referencias

1. Haseltine W, Wong-Staal F. The molecular biology of the AIDS virus. *Sci Am* 1988;259:52-60.
2. Schwartz S, Nair M. Current concepts in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:295-305.
3. Sattentau Q, Moore J. Conformational changes induced in the human immunodeficiency virus envelope glycoprotein by soluble CD4 binding. *J Exp Med* 1991;174:407-415.
4. Wu L, Gerard N, Wyatt R, Choe H, Parolin C, Ruffing N, et al. CD4 induces interaction of primary HIV 1 gp 120 glycoprotein with the chemokine receptor CCR-5. *Nature* 1996;384:179-183.
5. Feng Y, Broder C, Kennedy P, Berger P. HIV entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, g protein coupled receptor. *Science* 1996;272:872-7.
6. Connor R, Sheridan K, Ceradini D, Choe S, Landau N. Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1 infected individuals. *J Exp Med* 1997;185:621-628.
7. Bleul C, Wu L, Hoxie J, Springer T, Mackay C. The HIV coreceptors CXCR4 and CCR5 are differentially expressed and regulated on human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1925-1930.
8. Lawn S, Butera S, Folks T. Contribution of immune activation to the pathogenesis and transmission of human immunodeficiency type 1 infection. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:753-777.
9. Collins K, Chen B, Kalams S, Walker B, Baltimore D. HIV-1 Nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature* 1998;391:397-401.
10. Aiken C, Trono D. Nef stimulates human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA synthesis. *J Virol* 1995;69:5048-5056.
11. Wang J, Kiyokawa E, Verdin E, Trono D. The Nef protein of HIV-1 associates with rafts and primes T cells for activation. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97:394-9.
12. UNAIDS. Update on AIDS epidemic by UNAIDS. 25 June 2001, <http://www.un.org/News/briefings/docs>
13. ONU/SIDA. Programa de las Naciones Unidas para el VIH/SIDA. Situación a Diciembre de 1999. , Marzo 6 de 2000
14. UNAIDS, PAHO/WHO. Provisional Report: HIV and AIDS in the Americas: an epidemic with many faces. Foro 2000, Latin America and the Caribbean STD/AIDS. Rio de Janeiro, Brazil, November 2000
15. Gómez R. HIV/SIDA al comenzar el milenio: hechos y tendencias. *IATREIA* 2000;13:79-83
16. UNAIDS/WHO. Colombia: Epidemiological Fact Sheet on HIV/AIDS and sexually transmitted infections, 2000 Update
17. Fauci A, Lane H. Human immunodeficiency virus (HIV) disease: AIDS and related disorders: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, vol. 2 (ed 14), McGraw-Hill, 1998, pp 1861-1873.
18. Clark S, Saag M, Decker W, Campbell-Hill S, Roberson J, Veldkamp P, et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1991;324:954-60.
19. Schacker T, Hughes J, Shea T, Coombs R, Corey L. Biological and virologic characteristics of primary HIV infection. *Ann Intern Med* 1998;128:613-620
20. Daar E, Moudgil T, Meyer R, Ho D. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1991;324:961-64.
21. Koup R, Safrin J, Cao Y, Andrews C, McLeod G, Borkowsky W, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol* 1994;68:4650-55.
22. Cameron P, Freudenthal P, Barker J, Gezelter S, Inaba K, Steinman R. Dendritic cell exposed to human immunodeficiency virus type 1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4+ T cells. *Science* 1992;257:383-7.
23. Pantaleo G, Graziosi C, Demarest J, Cohen O, Vaccarezza M, Gantt K, et al. Role of lymphoid organs in the pathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Immunol Rev* 1994;140:105-30
24. Heath S, Tew J, Szakal A, Burton G. Follicular dendritic cells and human immunodeficiency virus infectivity. *Nature* 1995;377:740-44
25. Piatak MJ, Saag M, Yang L, Clark S, Kappes J, Luk K, et al. High levels of HIV 1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* 1993;259:1749-54.
26. Perelson A, Neumann A, Markowitz M, Leonard J, Ho D. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, viral generation time. *Science* 1996;271:1582-86.
27. Graziosi C, Pantaleo G, Butini L, De-marest J, Saag M, Shaw G, et al. Kinetics of HIV DNA and RNA synthesis during primary HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:6505-9.
28. Musey L, Hughes J, Schacker T, Shea T, Corey L, McElrath M. Cytotoxic T cell responses, viral load and disease progression in early human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1997;337:1267-74
29. Nixon D, Townsend A, Elvin J, Rizza C, Gallwey J, McMichael A. HIV gag specific cytotoxic T lymphocytes defined with recombinant vaccinia virus and synthetic peptides. *Nature* 1988;336:484-487
30. Walker B, Flexner C, Paradis T, Fuller T, Hirsch M, Schooley R, et al. HIV-1 reverse transcriptase is a target for cytotoxic T lymphocytes in infected individuals. *Science* 1988;240:64-66
31. Lieberman J, Fabry J, Kuo M, Earl P, Moss B, Skolnik P. Cytotoxic T lymphocytes from HIV-1 seropositive individuals recognize immunodominant epitopes in gp160 and reverse transcriptase. *J Immunol* 1992;148:2738-47
32. Clerici M, Lucey D, Zajac R. Detection of cytotoxic T lymphocytes specific for synthetic peptides of gp160 in HIV- seropositive individuals. *J Immunol* 1991;146:2214-2219.
33. Koenig S, Fuerst T, Wood L, Woods R, Suzich J, Jones G, et al. Mapping the fine specificity of a cytolytic T cell response to HIV 1 nef protein. *J Immunol* 1990;145:127-135.
34. Schmitz J, Kuroda M, Santra S, Sas-seville V, Simon M, Lifton M, et al. Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8 + lymphocytes. *Science* 1999;283:857-60.
35. Reimann K, Tenner-Racz K, Racz P, Montefiori D, Yasutomi Y, Lin W, et al. Immunopathogenic events in acute infection of Rhesus monkeys with simian immunodeficiency virus of Macaques. *J Virol* 1994;68:2362-70.
36. Ogg G, Jin X, Bonhoeffer S, Dunbar P, Nowak M, Monard S, et al. Quantitation of HIV-1 specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science* 1998;279:2103-2106.
37. Meier U, Klenerman P, Griffin P, James W, Koppe B, Larder B, et al. Cytotoxic T lymphocyte lysis inhibited by viable HIV mutants. *Science* 1995;270:1360-62.
38. Mackewicz C, Balckbourn D, Levy J. CD8+ T cells suppress human immunodeficiency virus replication by inhibiting viral transcription. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:2308-2312.
39. Kinter A, Ostrowski M, Goletti D, Oliva A, Weissman D, Gantt K, et al. HIV replication in CD 4+ T cells of HIV infected individuals is regulated by a balance between the viral suppressive effects of endogenous beta-chemokines and the viral inductive effects of other endogenous cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:14076-14081.
40. Baier M, Werner A, Bannert N, Metzner K, Kurth R. HIV suppression by interleukin-16. *Nature* 1995;378:563.
41. Cocchi F, DeVico A, Garzino-Demo A, Arya S, Gallo R, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8 T cells. *Science* 1995;270:1811-15.
42. Veazey R, Demaria M, Chalifoux L, Shvetz D, Pauley D, Knight H, et al. Gastrointestinal tract as a major site of CD4 T cell depletion and viral replication in SIV infection. *Science* 1998;280:427-31.
43. Harouse J, Gettie A, Tan R, Blan-chard J, Cheng-Mayer C. Distinct pathogenic sequela in rhesus macaques infected with CCR5 or CXCR4 utilizing SHIVs. *Science* 1999;284:816-19.
44. Hellerstein M, Hanley M, Cesar D, Siler S, Papageorgopoulos C, Wieder E, et al. Directly measured kinetics of circulating T lymphocytes in normal and HIV-1-infected humans. *Nat Med* 1999;5:83-89.
45. Cohen O, Cicala C, Vaccarezza M, Fauci A. The immunology of human immunodeficiency virus infection, in Mandell GL DR, Bennett, JE (ed): Principles and practices of Infectious Diseases, vol. 2 (ed Fifth). New York, Churchill Livingstone Inc, 2000:1374-1397.
46. Moore J, Cao Y, Ho D, Koup R. Development of the anti-gp120 antibody responses during seroconversion to human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1994;68:5142-55.
47. Bou-Habib B, Roderiguez G, Oravec T, Berman P, Lusso P, Norcross M. Cryptic nature of envelope V3 region epitopes protects primary monocytotropic human immunodeficiency virus type 1 from antibody neutralization. *J Virol* 1994;68:6006-13.
48. Sattentau Q, Moore J. Human immunodeficiency virus type 1 neutralization is determined by epitope exposure on the gp120 oligomer. *J Exp Med* 1995;182:185-96.
49. Fouts T, Binley J, Trkola A, Robinson J, Moore J. Neutralization of the human immunodeficiency virus type 1 primary isolate JR-FL by human monoclonal antibodies correlates with antibody binding to the oligomeric form of the envelope glycoprotein complex. *J Virol* 1997;71:2779-2785.
50. Moore J, Cao Y, Qing L, Sattentau Q, Pyati J, Koduri R, et al. Primary isolates of human immunodeficiency virus type 1 are relative resistant to neutralization by monoclonal antibodies and their neutralization is not predicted by studies with monomeric gp120. *J Virol* 1995;69:101-109.
51. Spenlehauer C, Kirn A, Aubertin A, Moog C. Antibody mediated neutralization of primary

- human immunodeficiency virus type 1 isolates: Investigation of the mechanism of inhibition. *J Virol* 2001; **75**: 2235-2245.
52. Tyler D, Nastala C, Stanley S, Matthews T, Lyerly H, Bolognesi D, et al. Gp 120 specific cellular cytotoxicity in HIV-1 seropositive individuals. Evidence for circulating CD16+ effector cells armed in vivo an cytophilic antibody. *J Immunol* 1989; **142**: 1177-1182.
 53. Tanneau F, McChesney M, López O, Sansonetti P, Montagnier L, Riviere Y. Primary cytotoxicity against the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus 1: Evidence fro antibody-dependent cellular toxicity in vivo. *J Infect Dis* 1990; **162**: 837-843.
 54. Embretson J, Zupancic M, Ribas J, Burke A, Racz P, Tenner-Racz K, et al. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature* 1993; **362**: 359-62.
 55. Pantaleo G, Graziosi C, Butini L, Pizzo P, Schnittman S, Kotler D, et al. Lymphoid organs function as major reservoirs for human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 9838-42.
 56. Pantaleo G, Graziosi C, Demarest J, Butini L, Montroni M, Fox C, et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 1993; **362**: 355-58.
 57. Wei X, Ghosh S, Taylor M, Johnson V, Emimi E, Deutsch P, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995; **373**: 117-22.
 58. Chun T, Carruth L, Finzi D, Shen X, DiGiuseppe J, Taylor H, et al. Quantitation of latent tissue reservoirs and total body load in HIV-1 infection. *Nature* 1997; **387**: 183-88.
 59. Sierra-Madero J, Toossi Z, Horn D, Finegan C, Hoinig E, Rich E. Relationship between load of virus in alveolar macrophages from human immunodeficiency virus type 1-infected persons, production of cytokines, and clinical status. *J Infect Dis* 1994; **169**: 18-27.
 60. Chun T-W, Finzi D, Margolick J, Chadwick K, Schwartz D, Siliciano R. Fate of HIV-1-infected T cells in vivo: Rates of transition to stable latency. *Nat Med* 1995; **1**: 1284-90.
 61. Chun T-W, Engel D, Berrey M, Shea T, Corey L, Fauci A. Early establishment of a pool of latently infected resting CD4+ T cells during primary HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 8869-73.
 62. Finzi D, Blankson J, Siliciano J, Margolick J, Chadwick K, Pierson T, et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med* 1999; **5**: 512-17.
 63. Zhang L, Ramratnam B, Tenner-Racz K, He Y, Vesanen M, Lewin S, et al. Quantifying residual HIV-1 replication in patients receiving combination antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 1999; **340**: 1605-1.
 64. Grossman Z, Meier-Schellersheim M, Sousa AE, Victorino RM, Paul WE. CD4+ T-cell depletion in HIV infection: are we closer to understanding the cause? *Nat Med* 2002; **8**: 319-323.
 65. Furtaldo M, Callaway D, Phair J, Kunstman B, Stanton J, Macken C, et al. Persistence of HIV-1 transcription in peripheral blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 1999; **340**: 1614-22.
 66. Hoffenbach A, Langlade-Demoyen P, Dadaglio G, Vilmer E, Michel F, Mayaud C, et al. Unusually high frequencies of HIV specific cytotoxic T lymphocytes in humans. *J Immunol* 1989; **142**: 452-462.
 67. Greenough T, Brettler D, Somasundaran M, Panicali D, Sullivan J. Human immunodeficiency virus type 1 specific cytotoxic T lymphocytes (CTL), virus load and CD 4 T cell loss: Evidence supporting a protective role for CTL in vivo. *J Infect Dis* 1997; **176**: 118-125.
 68. Autran B, Legac E, Blanc C, Debre P. A Th0/Th2-like function of CD4+CD7- T helper cells from normal donors and HIV-infected patients. *J Immunol* 1995; **154**: 1408-17.
 69. Maggi E, Mazzetti M, Ravina A, Annunziato F, de Carli M, Piccinni M, et al. Ability of HIV to promote a TH1 to TH0 shift and to replicate preferentially in TH2 and TH0 cells. *Science* 1994; **265**: 244-8.
 70. Embretson J, Zupancic M, Ribas J, Connor R, Mohri H, Cao Y, et al. Increased viral burden and cytopathicity correlate temporally with CD4+ T-lymphocyte decline and clinical progression in human immunodeficiency virus type 1-infected individuals. *J Virol* 1993; **67**: 1772-77.
 71. Cheng-Mayer C, Seto D, Tateno M, Levy J. Biological features of HIV-1 that correlate with virulence in the host. *Science* 1988; **240**: 80-82.
 72. Kimata J, Kuller L, Anderson D, Dailey P, Overbaugh J. Emerging cytopathic and antigenic simian immunodeficiency virus variants influence AIDS progression. *Nat Med* 1999; **5**: 535-41.
 73. Mellors J, Rinaldo CJ, Gupta P, White R, Todd J, Kingsley L. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; **272**: 1167-70.
 74. Haase A. Population biology of HIV-1 infection: viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues. *Annu Rev Immunol* 1999; **17**: 625-56.
 75. Hellerstein M, McCune J. T cell turnover in HIV-1 disease. *Immunity* 1997; **7**: 583-89.
 76. Haynes B, Pantaleo G, Fauci A. Toward an understanding of the correlates of protective immunity to HIV infection. *Science* 1996; **271**: 324-28.
 77. Tenner-Racz K, Racz P, Thome C, Meyer C, Anderson P, Schlossman S, et al. Cytotoxic effector cell granules recognized by the monoclonal antibody TIA-1 are present in CD8+ lymphocytes in lymph nodes of human immunodeficiency virus 1 infected patients. *Am J Pathol* 1993; **142**: 1750-1758.
 78. Graziosi C, Pantaleo G, Gantt K, Fortin J, Demarest J, Cohen O, et al. Lack of evidence for the dichotomy of TH1 and TH2 predominance in HIV-infected individuals. *Science* 1994; **265**: 248-252.
 79. Bergeron L, Sodroski J. Dissociation of unintegrated viral DNA accumulation from single-cell lysis induced by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1992; **66**: 5777-87.
 80. Somasundaran M, Robinson H. Unexpectedly high levels of HIV-1 RNA and protein synthesis in a cytotoxic infection. *Science* 1988; **242**: 1554-7.
 81. Cao J, Park I, Cooper A, Sodroski J. Molecular determinants of acute single-cell lysis by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1996; **70**: 1340-54.
 82. Tamma S, Chirmule N, McCloskey T, Oyaizu N, Kalyanaraman V, Pahwa S. Signals transduced through the CD4 molecule interfere with TCR/CD3-mediated ras activation leading to T cell anergy/apoptosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; **85**: 195-201.
 83. Tamma S, Chirmule N, Yagura H, Oyaizu N, Kalyanaraman V, Pahwa S. CD4 cross-linking (CD4XL) induces RAS activation and tumor necrosis factor-alpha secretion in CD4+ T cells. *Blood* 1997; **90**: 1588-93.
 84. Cohen D, Tani Y, Tian H, Boone E, Samelson L, Lane H. Participation of tyrosine phosphorylation in the cytopathic effect of human immunodeficiency virus-1. *Science* 1992; **256**: 542-5.
 85. Pantaleo G, Fauci A. Immunopathogenesis of HIV infection. *Annu. Rev. Microbiol.* 1996; **50**: 825-54.
 86. Howcroft T, Strelbel K, Martin M, Singer D. Repression of MHC class I gene promoter activity by two exon tat of HIV. *Science* 1993; **260**: 1320-1322.
 87. Schwartz O, Marechal V, Le Gall S, Lemonnier F, Heard J. Endocytosis of major histocompatibility complex class I molecules is induced by the HIV Nef protein. *Nat Med* 1996; **2**: 338-342.
 88. Kerkau T, Bacik I, Bennink J, Yewdell J, Hunig T, Schimpl A, et al. The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) vpu protein interferes with an early step in the biosynthesis of major histocompatibility complex (MHC) class I molecules. *J Exp Med* 1997; **185**: 1295-1305.
 89. Pantaleo G, Koenig S, Baseler M, Lane H, Fauci A. Defective clonogenic potential of CD8+ T lymphocytes in patients with AIDS. *J Immunol* 1990; **144**: 1696-1704.
 90. Borrow P, Lewicki H, Wei X, Horwitz M, Peffer N, Meyers H, et al. Antiviral pressure exerted by HIV-1 specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) during primary infection demonstrated by rapid selection of CTL escape virus. *Nat Med* 1997; **3**: 205-211.
 91. Price D, Goulder P, Klemerman P. Positive selection of HIV-1 cytotoxic T lymphocytes escape variants during primary infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 1890-1895.
 92. Pantaleo G, Soudeyhs H, Demarest J, Vaccarezza M, Graziosi C, Paolucci S, et al. Evidence for rapid disappearance of initially expanded HIV specific CD8+ T cell clones during primary HIV infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **91**: 9818-9853.
 93. Appay V, Nixon D, Donahoe S, Gilliespie G, Dong T, King A, et al. HIV specific CD8+ T cells produce antiviral cytokines but are impaired in cytotoxic function. *J Exp Med* 2000; **192**: 63-75.
 94. Abrams D, Lewis B, Beckstead J, Casavant C, Drew W. Persistent diffuse lymphadenopathy in homosexual men: endpoint or prodrome? *Ann Intern Med* 1984; **100**: 801-8.
 95. Price R, Brew B, Sidtis J, Rosenblum M, Scheck A, Cleary P. The brain in AIDS: central nervous system HIV-1 infection and AIDS dementia complex. *Science* 1988; **239**: 586-92.
 96. Fauci A, Masur H, Gelmann E, Markham P, Hahn B, Lane H. NIH Conference. The acquired immunodeficiency syndrome: an update. *Ann Intern Med* 1985; **102**: 800-13.
 97. Quinn T. Acute primary HIV infection. *JAMA* 1997; **278**: 58-62.
 98. Soriano V, Martin R, del Romero J, Castilla J, Bru F, Bravo R, et al. Rapid and slow progression of the infection by the type 1 human immunodeficiency virus in a population of seropositive subjects in Madrid. *Med Clin* 1996; **107**: 761-6.

99. Hay C, Ruhl D, Basgoz N, Wilson C, Billingsley J, Depasquale M, et al. Lack of viral escape and defective *in vivo* activation of human immunodeficiency virus type 1-specific cytotoxic T lymphocytes in rapidly progressive infection. *J Virol* 1999; **73**:5509-5519
100. Rosenberg E, Billingsley J, Caliendo A, Boswell S, Sax PE, Kalams S, et al. Vigorous HIV-1-specific CD4+ T cell responses associated with control of viremia. *Science* 1997; **278**:1447-1450.
101. Buchbinder S, Katz M, Hessel N, O'Malley P, Holmberg S. Long-term HIV-infection without immunologic progression. *AIDS* 1994; **8**:1123-28.
102. Cao Y, Quin L, Zhang L, Sافrit J, Ho D. Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1995; **26**:201-8.
103. Lifson A, Buchbinder S, Sheppard H, Mawie A, Wilber J, Stanley M, et al. Long-term human immunodeficiency virus infection in asymptomatic homosexual and bisexual men with normal CD4 + lymphocyte counts: immunologic and virologic characteristics. *J Infect Dis* 1991; **163**:959-65.
104. Pantaleo G, Menzo S, Vaccarezza M, Graziosi C, Cohen O, Demarest J, et al. Studies in subjects with long-term nonprogressive human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med* 1995; **554**:209-16.
105. Muñoz A, Kirby A, He Y, Margolick J, Visscher B, Rinaldo C, et al. Long Term survivors with HIV 1 infection: Incubation period and longitudinal patterns of CD4 + lymphocytes. *J. Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviro* 1995; **8**:496-505.
106. Barker E, Mackewicz C, Reyes-Terán G, Sato A, Strandford S, Fujimura S, et al. Virological and immunological features of long term human immunodeficiency virus infected individuals who have remained asymptomatic compared with those who have progressed to acquired immunodeficiency syndrome. *Blood* 1998; **92**:3105-3114.
107. Betts MR, Ambrozak DR, Douek DC, Bonhoeffer S, Brechnley JM, Casazza JP, et al. Analysis of total human immunodeficiency virus (HIV)-specific CD4(+) and CD8(+) T-cell responses: relationship to viral load in untreated HIV infection. *J Virol* 2001; **25**:11983-11991.
108. Kalams S, Buchbinder S, Rosenberg ES, Billingsley J.M, Colbert DS, Jones, N G, et al. Association between virus-specific CTL and helper responses in HIV infection. *J Virol* 1999; **73**:6715-20.
109. Scala E, D'Offizzi C, Rosso G, Turriziani O, Ferrara R, Mazzone A, et al. C-C chemoquines, IL-16, and soluble antiviral factor activity are increased in closed T cells from subjects with long term nonprogressive HIV infection. *J Immunol* 1997; **158**:4485-4492.
110. Rinaldo C, Huang X-L, Fan Z, Ding M, Beltz L, Logar A, et al. High levels of antihuman immunodeficiency virus type 1 (HIV 1) memory cytotoxic T- lymphocyte activity and low viral load are associated with lack of disease in HIV 1 infected long term non progressors. *J Virol* 1995; **69**:5838-42.
111. Schreger L, Young J, Fowler M, Mathieson B, Vermund S. Long-term survivors of HIV-1 infection: definitions and research challenges. *AIDS* 1994; **8**:S95-S108.
112. Pantaleo G, Demarest J, Soudeyns H, Graziosi C, Denis F, Adelsberger J, et al. Major expansion of CD8 + T cells with a predominant Vb during the primary immune response to HIV. *Nature* 1994; **370**:463-67.
113. Pantaleo G, Demarest J, Schaker T, Vaccarezza M, Cohen O, Daucher M, et al. The qualitative nature of the primary immune response to HIV infection is a prognosticator of disease progression independent of the initial level of plasma viremia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**:254-258.
114. Liu C, Paxton W, Choe S, Ceradini D, Martin S, Horuk R, et al. Homozygous defect in HIV 1 coreceptor accounts for resistance of some multiply exposed individuals to HIV infection. *Cell* 1996; **86**:367-77.
115. Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley G, Smith M, Allikmets R, et al. Genetic restriction of HIV 1 infection and progression to AIDS by a deletion of the allele of the CCR5 structural gene. Hemophilia growth and development study, multicenter AIDS cohort study, San Francisco City Cohort, ALIVE study. *Science* 1996; **273**:1856-62.
116. Huang Y, Paxton W, Wolinsky S, Neumann A, Zhang L, He T, et al. The role of a mutant CCR5 allele in HIV 1 transmission and disease progression. *Nat Med* 1996; **2**:1240-3.
117. Kostrikis L, Huang Y, Moore J, Wolinski S, Zhang L, Guo Y, et al. A chemokine receptor CCR2 allele delays HIV 1 disease progression and is associated with a CCR5 promoter mutation. *Nat Med* 1998; **4**:350-3.
118. Faure S, Meyer L, Costagliola D, Vancensberghe C, Genin E, Autran B, et al. Rapid progression to AIDS in HIV+ individuals with a structural variant of the chemokine receptor CX3CR1. *Science* 2000; **287**:2274-7
119. Liu C, Chao D, Nakayama E, Taguchi H, Goto M, Xin X, et al. Polymorphism in RANTES chemokine promoter affects HIV-1 disease progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**:4581-4585
120. McDermott D, Beecroft M, Kleeberger C, Al-Sharif F, Ollier W, Zimmerman P, et al. Chemokine RANTES promoter polymorphism affects risk of both HIV infection and disease progression in the Multicenter AIDS Cohort Study. *AIDS* 2000; **14**:2671-8.
121. Winkler C, Modi W, Smith M, Nelson I. 'Wu X, Carrington M, et al. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. ALIVE study Hemophilia growth and development study, multicenter AIDS cohort study, Multicenter cohort hemophilia study, San Francisco City Cohort. *Science* 1998; **279**:389-93.
122. Brambilla A, Villa C, Rizzardì G, Veglia F, Ghezzi S, Lazzarin A, et al. Shorter survival of SDF1 3'A/3'A homozygotes linked to CD4+ T cell decrease in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection. *J infect Dis*. 2000; **182**:311-5.
123. Shin H, Winkler C, Stephens J, Breamn J, Young H, Goedert J, et al. Genetic restriction of HIV-1 pathogenesis to AIDS by promoter alleles of IL10. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**:14467-14472.
124. Carrington M, Nelson G, Martin M, Kissner T, Vlahov D, Goedert J, et al. HLA and HIV-1: heterozygote advantage and B*35-Cw*04 disadvantage. *Science* 1999; **283**:1748-1752.
125. Rowland-Jones S, Pinheiro S, Kaul R. New insights into host factors in HIV pathogenesis. *Cell* 2001; **104**:473-476.
126. Finzi D, Hermankova M, Pierson T, Carruth L, Buck C, Chaisson R, et al. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science* 1997; **278**:1295-300.
127. Wong J, Hezareh M, Gunthard H, Havlir D, Ignacio C, Spina C, et al. Recovery of replication competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science* 1997; **278**:1291-5.
128. Kirchhoff F, Greenough T, Brettler D, Sullivan L, Desrosiers R. Brief report: absence of intact *nef* sequences in long-term survivor with non progressive HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1995; **332**:228-32
129. Greenough T, Sullivan J, Desrosiers R: Declining CD4 T cell counts in a person infected with *nef* deleted HIV-1. *N England J Med* 1999; **1999**:236-7
130. Learmont J, Geczy A, Mills J, Ashton L, Raynes-Greenow E, Garsia R. Immunologic and virologic status after 14 to 18 years of infection with an attenuated strain of HIV 1. A report from the Sydney Blood bank Cohort. *N Engl J Med* 1999; **340**:1715-22
131. Douek D, McFarland R, Keiser P, Gage E, Massey J, Haynes B, et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature* 1998; **396**:690-95
132. Su L, Kaneshima H, Bonyhadi M, Salimi S, Kraft D, Rabin L, et al: HIV-1-induced thymocyte depletion is associated with indirect cytopathicity and infection of progenitor cells in vivo. *Immunity* 1995; **2**:25-36.