

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA**  
**SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**CONTROLADORES ÉLITE DE LA INFECCIÓN POR VIH:  
MECANISMOS INMUNOLÓGICOS INVOLUCRADOS Y POTENCIAL  
TERAPÉUTICO**

**Trabajo final de investigación aplicada sometido a la consideración de la Comisión del  
Programa de Especialidades en Microbiología para optar al grado y título de  
Especialidad en Inmunología Clínica**

**ILEANA M. MÉNDEZ ARAYA**

**Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica**

**2021**

**SISTEMA DE ESTUDIOS EN POSGRADO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA**

**ACTA-52-2021**

**Acta presentación de Requisito Final de Graduación Trabajo de Investigación**

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el viernes 24 de junio de 2021 con el objeto de recibir el informe oral de la estudiante **Ileana María Méndez Araya** carné # **A73955**, quien se acoge al Reglamento General del Sistema de Estudios de Posgrado para presentar el Trabajo Final de Graduación, para optar por el grado académico de **Especialista en Inmunología Clínica**. Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador: quien preside Lucía Figueroa Protti, Esp. y lectora, Clas Une, PhD. lector, y Gilberth David Loría Masís, PhD., tutor.

**ARTICULO 1**

Quien preside solicita a la postulante realizar la presentación oral de su Trabajo de Investigación titulado: **“Controladores élite de la infección por VIH: mecanismos inmunológicos involucrados y potencial terapéutico”**

**ARTICULO 2**

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

**ARTICULO 3**

El Tribunal Examinador declara el Trabajo Final de Graduación: Aprobado  Reprobado

**ARTICULO 4**

Se da lectura al acta que firman los miembros del Tribunal Examinador y el Postulante, a las 15:58 horas.

Nombre	Firma	No. Cédula
<u>Lucía Figueroa Protti, Esp.</u> Quien preside	_____	<u>1-1357-0278</u>
<u>Gilberth David Loría Masís, PhD.</u>	_____	<u>1-0952-0967</u>
<u>Clas Une, PhD.</u>	_____	<u>175200001011</u>
<u>Ileana María Méndez Araya</u> Estudiante	_____	<u>1-1407-560</u>

Observaciones: Mención de Honor

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nota: Solamente firmarán el acta los responsables de la actividad descrita

**Si el trabajo es merecedor de mención de honor anotar en observaciones**

## **Dedicatoria**

A Santiago, su apoyo lo hace todo posible. Su compañía y ayuda en todas las áreas de mi vida y en cada uno de mis proyectos ha sido una bendición.

A nuestro hijo Gabriel, la mejor motivación para concluir este trabajo.

Los amo

## **Agradecimientos**

Al comité asesor, por su tiempo, paciencia y toda su ayuda y sugerencias para el desarrollo de este trabajo, ha sido un aporte invaluable.

A mi jefe, el Dr. Óscar Quesada por todo el apoyo para poder cursar este programa. A mis compañeros de trabajo, que con cambios de horarios y muchas otras formas me ayudaron a concluir esta especialidad.

# Tabla de contenidos

Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos .....	iv
Lista de figuras.....	ix
Lista de abreviaturas .....	x
1. Justificación .....	13
2. Objetivo General .....	15
3. Objetivos Específicos .....	15
4. Metodología.....	16
4.1 Criterios de Inclusión .....	16
4.2 Criterios de Exclusión .....	16
4.3 Variables en Estudio .....	17
4.4 Validez de la Información .....	17
4.5 Selección de las Publicaciones.....	17
4.6 Recolección de Datos y Extracción de la Información .....	17
5. Resumen .....	19
6. Marco Referencial .....	20
6.1 Estructura y Genoma del VIH.....	21
6.2 Ciclo de Replicación Viral del VIH.....	22
6.3 Latencia y Reservorios del VIH.....	24
6.4 Infección por VIH .....	25
6.5 Respuesta Inmunológica a la Infección por VIH .....	28
6.5.1 <i>Respuesta Inmune Innata</i> .....	28

<u>6.5.1.1</u> Respuesta inmune intracelular.....	28
<u>6.5.1.2</u> Respuesta innata celular.....	29
6.5.2 Respuesta Inmune Adaptativa.....	30
<u>6.5.2.1</u> Respuesta celular adaptativa.....	30
<u>6.5.2.2</u> Respuesta humoral.....	32
6.6 Evasión Inmunológica del VIH.....	33
6.7 Tratamiento de la Infección por VIH.....	33
6.8 Controladores Élite de la Infección por VIH.....	35
6.8.1 Factores Virales.....	37
6.8.2 Factores de la Respuesta Inmune.....	39
6.8.3 Factores Genéticos del Huésped.....	40
7. Capítulo 1: Aspectos de la respuesta inmunológica de CE.....	42
7.1 Inmunidad innata.....	42
7.1.1 Células inmunes innatas.....	42
7.1.2 Autofagia.....	44
7.1.3 Aumento en p21 (factor de restricción).....	45
7.2 Inmunidad adaptativa.....	46
7.2.1 Células T.....	46
<u>7.2.1.1</u> Subpoblaciones de células T.....	47
<u>7.2.1.2</u> Funcionalidad de células T CD4+.....	49
<u>7.2.1.3</u> Funcionalidad de linfocitos T CD8+.....	50
7.2.2 Células T reguladoras y Th17.....	53
7.2.3 Marcadores de superficie celular (inhibitorios y activadores).....	55
7.2.4 Respuesta de células B.....	58
7.2.5 Anticuerpos.....	59

7.2.6	<i>Citoquinas</i> .....	60
7.3	Perfil de microARNs (miARN) .....	62
7.4	Alelos HLA .....	64
8.	Capítulo 2: Aspectos virales .....	67
8.1	Reservorio viral .....	67
8.1.1	<i>Sitio de integración del reservorio</i> .....	69
8.2	Evolución viral .....	70
8.3	Replicación viral .....	72
8.4	Metilación en ADN proviral .....	74
8.5	Tropismo viral .....	75
8.6	Virus defectuosos .....	75
8.6.1	<i>Funciones de Env atenuadas</i> .....	77
8.6.2	<i>Funciones de Nef atenuadas</i> .....	77
9.	Capítulo 3: Potencial terapéutico .....	79
9.1	“Hipótesis de conversión” de células T .....	79
9.2	Modulación T-bet .....	80
9.3	Activación selectiva de células Treg .....	81
9.4	Inhibición de puntos de control .....	81
9.5	Muerte celular .....	82
9.6	Promoción de la autofagia .....	83
9.7	Relacionado a transcripción .....	83
9.8	Predictores de pérdida de control .....	84
10.	Discusión .....	85
11.	Conclusiones .....	94
12.	Bibliografía .....	95

Anexos .....	105
Cuadro de operacionalización de variables .....	106
Instrumento para la selección de las publicaciones.....	108
Registro para recolección de datos de las publicaciones revisadas.....	109
Esquema de la estrategia metodológica .....	110
Definiciones de pacientes utilizadas en los artículos consultados .....	111

## Lista de figuras

**Figura 1.** Representación esquemática de la estructura y genoma del VIH .....3

## Lista de abreviaturas

3UTR	Región sin traducir 3´
5LTR	Repetición terminal larga 5´
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNcdb	ADN copia doble banda
ADNdb	ADN doble banda
AMBRA1	Regulador 1 de autofagia y beclin 1
APOBEC3	Complejo de edición de la apolipoproteína B 3
ARGs	Genes relacionados al SIDA
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	ARN mensajero
ARNus	ARN sin plegarse
ATG5	Proteína relacionada a autofagia 5
AZT	Zidovudina
CCL	Ligando de quimiocina C-C
CCR	Receptor de quimiocina C-C
CD	Cúmulos de diferenciación
CD40L	Ligando de CD40
CDK9	Quinasa dependiente de ciclina 9
CDm	Células dendríticas mieloides
CDp	Células dendríticas plasmacitoides
CE	Controlador elite
CEE	Controlador elite extraordinario
CMSP	Células mononucleares de sangre periférica
CRM1	Mantenimiento de la región cromosómica 1
CTL	Linfocitos T citotóxicos
CTLA-4	Antígeno del linfocito T citotóxico 4
CV	Carga viral
CX3CR1	Receptor de quimiocina C-X3-C 1
CXCL	Ligando de quimiocina C-X-C
CXCR	Receptor de quimiocina C-X-C
FasL	Ligando Fas
GP	Glicoproteína
HLA	Sistema de antígeno leucocitario humano
IFIGs	Genes inducibles por interferón tipo I
IFIT	Proteína inducida por interferón con repeticiones tetratricopéptido 1
IFN	Interferón
IL	Interleucina
IP-10	Proteína inducida por IFN- $\gamma$ 10

IPK3C3	Fosfoinositol 3 quinasa clase 3
ISG56	Gene 56 estimulado por interferón
IUPM	Unidades infecciosas por millón
JNK	Quinasa c-Jun N-terminal
KIR3DS1	Receptor tipo inmunoglobulina de células NK con 3 dominios Ig y cola citoplasmática corta 1
KLF12	Factor similar a Krueppel 12
LAMP1	Proteína de membrana asociada a lisosomas 1
LPS	Lipopolisacárido
LTNP	No progresores de larga duración
LTR	Repeticiones terminales largas
MAP1LC3A-II	Proteína asociada a microtúbulos 1 cadena ligera 3 $\alpha$
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
miARN	microARN
MIG	Monoquina inducida por IFN- $\gamma$
MIP-1 $\alpha$	Proteína inflamatoria de macrófagos 1 $\alpha$
MIP-1 $\beta$	Proteína inflamatoria de macrófagos 1 $\beta$
ONUSIDA	Programa Conjunto de Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA
PD-1	Proteína de muerte programada 1
PD-1L2	Ligando 2 de la proteína de muerte programada 1
SAMHD1	Desoxinucleósido trifosfato trifosfohidrolasa que contiene dominios SAM y HD
SDF1	Factor derivado de células estromales 1
SERINC-3	Incorporador de serina 3
SERINC-5	Incorporador de serina 5
SIDA	Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida
SIGLEC1	Lectina tipo Ig de unión a ácido siálico 1
SNP	Polimorfismo de nucleótido simple
TARV	Tratamiento antirretroviral
TCM	Células T de memoria central
TCR	Receptor de células T
TGF- $\beta$	Factor de crecimiento transformante $\beta$
TIGIT	Inmunoreceptor de células T con Ig y dominios ITIM
TLR	Receptor tipo toll
TNF	Factor de necrosis tumoral
TNFRSF	Superfamilia del receptor del factor de necrosis tumoral
TNFSF	Superfamilia del factor de necrosis tumoral
TRAIL	Ligando inductor de apoptosis relacionado al TNF
TRIM5	Proteína con motivos tripartitos 5
Trm	Células T de memoria en reposo

ULK1	Kinasa activadora de autofagia tipo Unc-51 1
ULK2	Kinasa activadora de autofagia tipo Unc-51 2
VIA	Ensayos de inhibición viral in vitro
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
ZNF	Nucleasas con dedos de zinc



UNIVERSIDAD DE  
COSTA RICA

**SEP** Sistema de  
Estudios de Posgrado

**Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.**

Yo, \_\_\_\_\_, con cédula de identidad \_\_\_\_\_, en mi condición de autor del TFG titulado \_\_\_\_\_

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. **SI**  **NO** \*

\*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: \_\_\_\_\_ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

**FIRMA ESTUDIANTE**

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

## 1. Justificación

Los tratamientos antirretrovirales y sus avances han contribuido significativamente a que el VIH haya pasado de ser un diagnóstico con una expectativa de vida limitada a una enfermedad que es considerada crónica. Sin embargo, eso no elimina la posibilidad de que muchos de estos pacientes sufran gran deterioro de su sistema inmunológico, adquieran infecciones oportunistas o desarrollen ciertos tipos de cáncer, así como efectos secundarios relacionados con el tratamiento a largo plazo que afectan su calidad de vida y su productividad, con las repercusiones económicas que esto significa. Durante el 2016, en Costa Rica se registraron 476 egresos hospitalarios a causa del VIH con un promedio de 18 días de internamiento, y del 2013 al 2017 se contabilizan 758 muertes asociadas (Ministerio de, 2018).

La meta mundial es erradicar la enfermedad para el 2030, para el año 2020 el objetivo era que el 90% de las personas infectadas conocieran su diagnóstico, de ellas que el 90% tuviera acceso al TARV y que de esas personas en tratamiento el 90% lograra mantener la carga viral no detectable, sin embargo, actualmente se ha alcanzado un 69-60-53 % respectivamente (ONUSIDA, 2019).

Una de las grandes limitaciones en el abordaje de esta epidemia es la carencia de un tratamiento efectivo en proporcionar una cura definitiva, se han anunciado 2 pacientes recuperados por completo de la enfermedad a través de un trasplante de médula ósea, sin embargo, esta alternativa está lejos de ser factible para todos los pacientes ya que es compleja, tiene riesgos asociados, un alto valor económico y además el éxito depende de que el donador tenga la mutación CCR5 delta 32 que es lo que provoca que los leucocitos sean resistentes a la infección (Ganepola et al., 2009; Gupta et al., 2019).

A pesar de que se ha destinado mucho esfuerzo en el desarrollo de una vacuna y sus resultados en modelos animales han sido prometedores, no se han logrado resultados satisfactorios en humanos al día de hoy (Burton, 2019). En febrero del 2020, se suspendió el ensayo clínico de una de las vacunas más recientemente desarrolladas contra el VIH, la HVTN 702, por considerarse que era inefectiva. Otra alternativa que se encuentra

actualmente en estudios clínicos es el uso de anticuerpos neutralizantes contra el virus, pero aún no se cuenta con resultados en humanos (Martinez-navio et al., 2020).

Ante este panorama carente de cura, el objetivo para el control de estos pacientes es mantener su carga viral no detectable en sangre con el TARV y es justamente esto lo que los CE logran mantener de forma espontánea en ausencia de tratamiento (Concepcion Casado et al., 2020; Lopez-Galindez et al., 2019).

La resistencia al TARV es un problema adicional que día a día va tomando más relevancia (Wensing et al., 2019), la prevalencia de resistencias transmitidas se reporta relativamente alta pero estable en los países de altos ingresos, y baja pero en crecimiento en países de ingresos bajos y medios. Se han reportado resistencias previas a tratamiento de hasta 12% para algunos antiretrovirales como los inhibidores de proteasa (Hassan et al., 2019) y prevalencia de diferentes resistencias adquiridas que en algunos países alcanzan en total hasta el 36% (Zuo et al., 2020). Este panorama demanda la búsqueda urgente de nuevas alternativas terapéuticas. Conocer cuáles mecanismos inmunológicos influyen la respuesta controladora del virus en pacientes CE, puede ayudar a plantear nuevas estrategias para el tratamiento curativo o estrategias complementarias a los retrovirales.

## **2. Objetivo General**

Describir los principales aspectos de la respuesta inmunológica ante el VIH que se han evidenciado en los pacientes clasificados como controladores élite de la infección que podrían conferirles una ventaja ante el virus, con el fin de identificar estrategias terapéuticas prometedoras para el manejo de la enfermedad.

## **3. Objetivos Específicos**

- Detallar los principales aspectos de la respuesta inmune al VIH que se han identificado en los pacientes controladores élite que se han asociado a una mejor respuesta ante el virus.
- Identificar factores virales que pueden influir en la efectividad de la respuesta inmune de los pacientes controladores élite.
- Enumerar los aspectos de la interacción inmunológica virus-controlador élite que puedan representar estrategias terapéuticas complementarias o alternativas para el manejo efectivo de la enfermedad.

## 4. Metodología

Se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de recolectar la información disponible acerca de los principales aspectos de la respuesta inmunológica ante el VIH que se han evidenciado en los pacientes clasificados como CE de la infección que podrían conferirles una ventaja ante el virus, así como factores virales que pueden favorecer esta respuesta con el fin de identificar estrategias terapéuticas complementarias o alternativas para el manejo de la enfermedad.

Para seleccionar los artículos elegibles se realizó una búsqueda sistemática en la base de datos PubMed, con los siguientes términos en inglés: “elite control HIV”, “elite controllers HIV”, “spontaneous control HIV”, y “HIV non progressors” acompañados con cada uno de los descriptores “immune response”, “immunology”, “virology”, “treatment” y “therapeutic” y en español: “control élite VIH”, “controladores élite VIH”, “control espontáneo VIH”, y “no progresores VIH” acompañados con cada uno de los descriptores “respuesta inmune”, “inmunología”, “virología”, “tratamiento” y “terapéutico”.

Las búsquedas generaron un total de 4608 artículos, de los cuales 3694 correspondían a artículos repetidos. Los restantes 914 se seleccionaron en base a la presencia y ausencia de los criterios de inclusión y exclusión que se presentan a continuación.

### 4.1 Criterios de Inclusión

- Artículos de investigación originales, estudios observacionales, estudios experimentales, estudios de cohorte, estudios de caso – control, ensayos de control aleatorizados, reportes de casos clínicos, metaanálisis.
- Pacientes incluidos en la publicación deben cumplir con la definición de CE que fue planteada en el marco referencial “paciente que logra mantener cargas virales menores a 50 copias/ml y conteos de linfocitos T CD4+ mayores a 400 células/ $\mu$ l durante al menos 3 años en ausencia de tratamiento antirretroviral”.
- Artículo publicado entre enero 2010 y julio 2020.
- Escrito en idioma español o inglés.

### 4.2 Criterios de Exclusión

- Publicaciones que incluyan pacientes en tratamiento antirretroviral.
- Estudios realizados en modelos animales.
- Estudios que no indiquen metodología ni análisis estadísticos utilizados para analizar los resultados. Con la excepción de los reportes de casos clínicos.
- Libros, capítulos de libros, enciclopedias.

De los 914 artículos, 568 se descartaron en el nivel de selección de título y resumen, los 346 restantes se revisó el texto con el fin de obtener más información para evaluar su inclusión. En el nivel de selección del texto, se descartaron 269 artículos por no cumplir con los criterios y se seleccionaron 77 que cumplieron tanto con los criterios de inclusión como con los de exclusión. Al final se seleccionaron 54 artículos que fueron leídos completos, de los cuales se utilizaron 43.

#### **4.3 Variables en Estudio**

Las variables incluidas en el estudio, así como su definición conceptual, dimensiones, definición operacional, indicadores y nivel de medición se muestran en el anexo 1.

#### **4.4 Validez de la Información**

Para garantizar la validez de los datos solo se incluyeron artículos publicados en revistas indexadas lo que garantiza que pasaron por al menos una revisión realizada por pares expertos en el tema.

#### **4.5 Selección de las Publicaciones**

Para la selección de las publicaciones para esta revisión, en primera instancia se examinaron todos los títulos y resúmenes de los artículos generados por las búsquedas. En caso de duda se procedió a la lectura completa del artículo. Para facilitar esta clasificación se utilizó el cuestionario incluido en el anexo 2.

#### **4.6 Recolección de Datos y Extracción de la Información**

Para facilitar la extracción y el manejo de la información se generó un registro en excel (anexo 3) de todos los estudios revisados donde se incluyó: codificación asignada, título,

autores, idioma, año, tipo de publicación y diseño de estudio, estado de inclusión, ideas principales y el DOI o enlace para su recuperación.

## 5. Resumen

En el curso de la infección por VIH, existe una minoría de pacientes conocidos como controladores elite (CE) que logran controlar naturalmente la infección traduciéndose en una mejor evolución clínica.

En algunos casos, este fenómeno se debe a una infección con virus defectuosos, pero se ha demostrado que la mayoría de CE son infectados por virus competentes y son factores propios de la respuesta inmune del paciente los que logran determinar el control. Algunos de estos factores inmunes que se pudieron identificar en esta revisión son mayor activación de células innatas, mayor producción de interferones de tipo I y proceso de autofagia aumentado, respuesta a Gag fuerte en potencia y polifuncionalidad, mayor actividad citotóxica, menor agotamiento inmune, mejor balance entre células Treg y Th17, perfil de miARN que favorece funciones antivirales y una respuesta B de memoria importante, entre otros.

También se identificaron algunos factores virales que pueden influenciar el desarrollo del fenotipo de CE, tales como menor tamaño del reservorio y sitio de integración en regiones genómicas no permisivas a la transcripción, poca evolución viral, tropismo y estado de metilación del ADN proviral entre otros.

Estos pacientes han sido muy estudiados con el fin de descubrir claves que pueden guiar el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, a lo largo de esta revisión se lograron identificar algunas iniciativas como agentes reductores de la proporción de Treg y otros que promueven la activación selectiva de estas células, anticuerpos inhibidores de puntos de control inmunitario (*immune checkpoints*), anticuerpos que bloqueen vías de muerte celular y agentes promotores de autofagia, todos inspirados en hallazgos descritos en CE.

## 6. Marco Referencial

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) surgió a inicios de los años 80, y rápidamente se fue esparciendo por todo el mundo, fue descubierto como el causante de un síndrome de inmunodeficiencia fatal emergente.

Según datos del Programa Conjunto de Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA, en inglés UNAIDS) desde que surgió la epidemia del VIH en los años 80 se estima que 75 millones de personas han contraído la infección, y más de 32 millones han muerto a causa de enfermedades relacionadas con ella. Según datos del año 2018, alrededor de 38 millones de personas viven con el VIH en todo el mundo, de todos ellos solo 25 millones tiene acceso al tratamiento antirretroviral (TARV) y 1.7 millones son niños menores de 15 años. Solo durante el año 2018, 1.7 millones de personas contrajeron la enfermedad y 770 mil fallecieron a causa de ella (ONUSIDA, 2019).

El pico de contagios de esta epidemia se alcanzó en 1997 y desde entonces, la tendencia global ha mostrado una disminución considerable de nuevas infecciones pasando de 2.9 millones en 1997 a 1.7 millones durante el 2018. Los fallecimientos han disminuido también un 56% desde su pico en el 2004 donde fallecieron 1.7 millones de personas hasta los 770 mil en el 2018 (ONUSIDA, 2019). Es probable que en estas disminuciones hayan influido diferentes estrategias como educación preventiva, fomento del uso del preservativo y los avances en el desarrollo del TARV.

En Costa Rica, según datos del Ministerio de Salud de 1983 al 2018, se registraron 11076 personas diagnosticadas con VIH. A pesar de la cobertura de salud, tratamiento y control que ofrece el país, las nuevas infecciones van en aumento, contrario a la tendencia global (Ministerio de Salud de Costa Rica, 2016; Ministerio de Salud de Costa Rica, 2019). ONUSIDA estima para nuestro país alrededor de 15 000 personas viviendo con VIH en el 2018, de los cuales solo el 49% cuenta con TARV, en esto también coinciden los datos de las autoridades locales que señalan el aumento de las nuevas infecciones (ONUSIDA, 2019; Ministerio de Salud de Costa Rica, 2019). En el 2016, el costo de la respuesta nacional al VIH representó cerca de 48 millones de dólares, lo que corresponde al 0.08% del producto interno bruto y a un 1.08% del gasto total en salud. De esos 48 millones el

sector público aportó el 91.8%, correspondiendo el 95.97% de este gasto a la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) cuyo principal gasto, el 86.58% corresponde a atención y tratamiento, solo los medicamentos antirretrovirales representan alrededor del 2.5% del presupuesto anual de la CCSS para medicamentos (Ministerio de Salud, 2018).

El aislamiento del VIH en 1983 por el Instituto Pasteur en Francia ha desencadenado décadas de investigación respecto al virus, la interacción con su huésped, su patogénesis, tratamiento y prevención. A pesar de ser considerado uno de los virus más estudiados, aún hay vacíos de conocimiento y la falta de una estrategia curativa para esta infección es probablemente el más importante de estos vacíos.

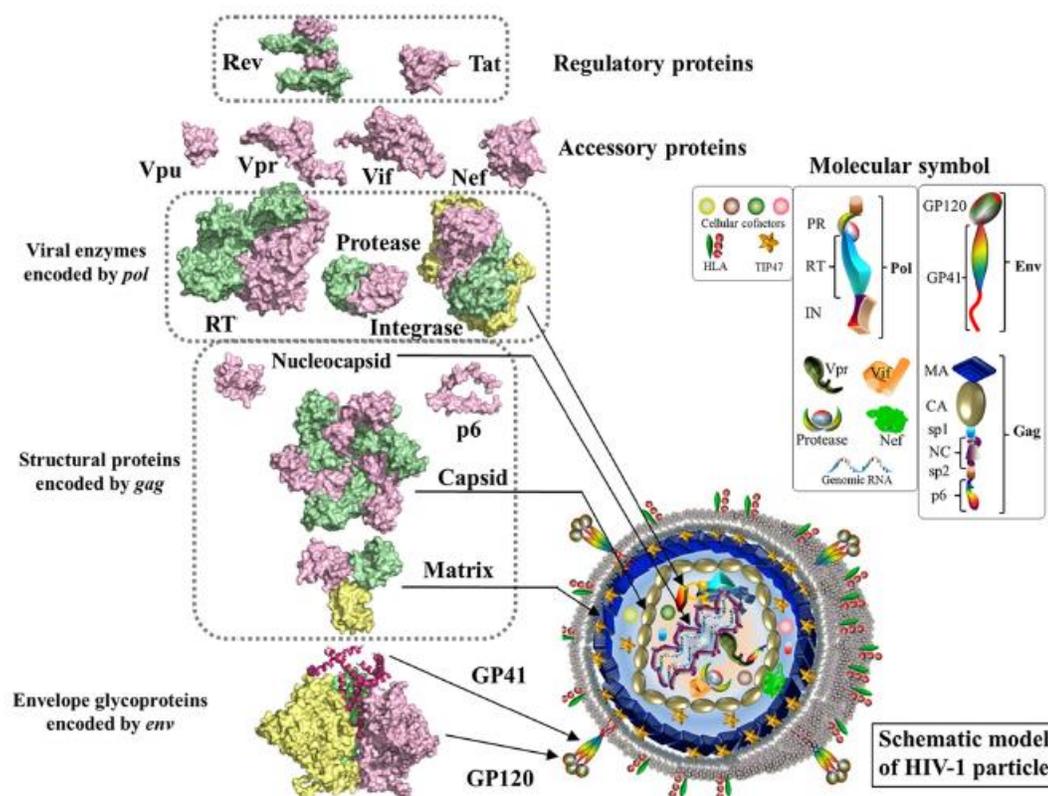
### **6.1 Estructura y Genoma del VIH**

El VIH es un virus de la familia *Retroviridae* del género *Lentivirus* y hay 2 tipos principales: VIH-1 cuyos grupos principales son el M y el O, y VIH-2 cuyos grupos son A B C D y E. EL 90% de las infecciones por VIH pertenecen al VIH-1 del grupo M que se divide en 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J y K) y muchas formas recombinantes, por lo que se puede afirmar que existe una gran diversidad genética en su genoma (G. Li et al., 2015).

Es un virus circular de 110nm con membrana lipídica celular que contiene proteínas virales y cuyo material genético es ácido ribonucleico (ARN) de hebra sencilla. Dos copias de este genoma ARN se encuentra contenido en la cápside donde también se encuentra todo el material necesario para formar los provirus. Como se observa en la Fig. 1 la cápside está rodeada por proteínas de la matriz, que a la vez están rodeada por la bicapa lipídica y en la parte más externa la envoltura que posee estructuras en formas de picos conformadas por las glicoproteínas (GP) GP120 y GP41 (Chen et al., 2011).

El genoma del VIH contiene 9 genes que codifican por 15 proteínas virales. Los 3 genes principales: *gag* codifica por proteínas estructurales de la matriz, cápside, nucleocápside y p6 (p18, p24, p15), *pol* codifica enzimas como la proteasa, la transcriptasa reversa y la integrasa y *env* codifica por proteínas de la envoltura GP (glicoproteína) 120 y GP41. De los demás genes *tat* y *rev* codifican por proteínas regulatorias y los genes *vif*, *vpr*, *vpu/vpx*

y, *nef* codifican por proteínas accesorias con el mismo nombre. Todas estas proteínas virales tienen múltiples funciones e interactúan con diferentes proteínas humanas durante el ciclo viral. *Vpu* está presente solo en VIH-1 mientras que *Vpx* en VIH-2 (Crowell & Hatano, 2015; G. Li et al., 2015). A pesar de la poca cantidad de proteínas, entre ellas se generan una gran cantidad de interacciones y asociaciones funcionales que permiten al virus conseguir una replicación eficiente en diferentes etapas del ciclo de vida.



**Figura 1.** Representación esquemática de la estructura y genoma del VIH (Chen et al., 2011)

## 6.2 Ciclo de Replicación Viral del VIH

El ciclo de replicación viral del VIH fue descrito a finales de los años 90 y su conocimiento fue fundamental para el desarrollo de los tratamientos actuales para la infección por VIH.

El ciclo inicia cuando la glicoproteína de la envoltura gp120 se une al receptor de superficie celular CD4 (cúmulo de diferenciación) y a los correceptores quimiocina receptor de

quimiocinas tipo 5 (CCR5) o receptor de quimiocinas C-X-C tipo 4 (CXCR4), posteriormente se da la fusión de las membranas celular con la viral, y el virus entra al citosol. Cual correceptor utiliza el virus depende del tropismo que exhiba, esto hace referencia a la atracción del virus hacia determinados marcadores de la superficie de las células, los virus que utilizan el receptor CCR5 se identifican como R5 y los que utilizan el receptor CXCR4 se identifican como X4 y en algunas ocasiones el virus puede utilizar ambos, identificándose como R5X4 (Wilén et al., 2012).

En el citosol se inicia la transcripción reversa en el complejo de la transcriptasa reversa, en este proceso el ARN viral de banda sencilla es pasado a ácido desoxirribonucleico copia doble banda (ADNcdb). El complejo de preintegración de VIH transporta este ADNcdb al núcleo a través del complejo de poros nucleares. Durante la transcripción de preintegración las proteínas virales Rev, Tat y Nef son sintetizadas del ADNcdb no integrado. En presencia de cofactores celulares, el complejo de preintegración selecciona regiones del cromosoma del huésped con alta actividad transcripcional donde se integra el ADN viral a través de la actividad catalítica de la integrasa viral (Altfeld & Gale, 2015; Chen et al., 2011; Gonzalo-Gil et al., 2017). Otra alternativa cuando el ADNcdb es ingresado al núcleo, es que este material genético en lugar de integrarse se convierta en uno o dos círculos de repeticiones terminales largas (LTR) considerados productores terminales (Gonzalo-Gil et al., 2017).

Para la transcripción viral, las proteínas Tat y Nef secuestran la maquinaria de transcripción celular para activar la síntesis de ARN mensajero (ARNm) a partir del ADN doble banda (ADNdb) integrado, se generan ARNm de diferentes tamaños que son exportados del núcleo hacia el citoplasma por la acción de la proteína viral Rev, el factor de exportación celular CRM1, RanGTP y otras proteínas del huésped (Chen et al., 2011; Gonzalo-Gil et al., 2017). Estos ARNm sirven de guía para la traducción de proteínas en los diferentes compartimentos celulares; Gag, Pol y la mayoría de las proteínas accesorias son traducidas en polisomas citosólicos excepto Env y Vpu. En el citoplasma, Vpr induce el arresto del ciclo celular en Gap2/Mitosis y Vif activa la degradación de las proteínas del complejo de edición de la apolipoproteína B 3 (APOBEC3). En el retículo endoplasmático, se traduce el ARNm que genera Vpu y se modifica Env. En el aparato de Golgi, proteasas celulares

separan las glicoproteínas de Env en GP120 y GP41, que luego se ensamblan en las espículas de la envoltura (Chen et al., 2011; Gonzalo-Gil et al., 2017; Mailler et al., 2016).

Env, Vpr, Tat y Nef viajan a la membrana celular a través de vías secretoras donde se da el ensamblaje viral, ahí se incorporan 2 copias del ARN genómico a cada virión y finalmente las partículas nacientes brotan y se separan de la membrana, luego maduran a través de la actividad de la proteasa viral, que modifica los precursores de Gag y Pol para generar las proteínas estructurales (matriz, cápside, núcleo cápside y p6) y las enzimas virales (proteasa, transcriptasa reversa e integrasa), transformando así el virión en partículas virales maduras capaces de infectar nuevas células (Chen et al., 2011; Gonzalo-Gil et al., 2017; Mailler et al., 2016).

La replicación del VIH se ha caracterizado por la generación de gran diversidad genética, esto a través de la acción de la transcriptasa reversa que carece de actividad de corrección. Esta replicación viral resulta en una población viral diversa que se describe como quasiespecies (Lopez-Galindez et al., 2019). Esta diversidad de poblaciones virales y su tamaño pueden tener consecuencias en la patogénesis, ya que poblaciones de VIH con baja diversidad y pequeño tamaño poblacional pueden acumular durante su replicación mutaciones deletéreas significativas que ocasionen la pérdida de la viabilidad y que lleven a la extinción del virus (Scutari et al., 2018).

### **6.3 Latencia y Reservorios del VIH**

El hecho de que luego de más de 30 años de intensa investigación el VIH continúe siendo incurable tiene mucha relación con su extraordinaria habilidad para integrarse permanentemente al genoma de sus células huésped (Kok et al., 2017).

El VIH es capaz de establecer una infección inactiva o latente dentro de células T CD4+ de memoria, los mecanismos que intervienen aún no se terminan de dilucidar, sin embargo, estas células se mantienen indefinidamente a través de su proliferación homeostática, algunas de estas células tienen incluso capacidad de autorenovación resultando en células infectadas que persisten como reservorios latentes. Estas infecciones también se pueden establecer en células T CD4+ vírgenes, células del linaje de monocitos y macrófagos

tisulares e incluso otras células con largos periodos de vida lo que hace que el número de reservorios disminuya muy lentamente (Deeks et al., 2015).

Los reservorios se pueden establecer tan temprano como 3 días luego de la infección primaria, aún en presencia de TARV, sin embargo, se ha evidenciado que iniciar TARV combinado rápidamente luego de la infección pueden limitar el tamaño de esos reservorios virales (Barré-Sinoussi et al., 2013), esto es importante porque se ha encontrado que los pacientes que mejor controlan la infección tienen bajos niveles de reservorios de ADN viral.

Los reservorios celulares latentes no son susceptibles a ninguno de los tratamientos que existen actualmente, el tratamiento solo puede prevenir que nuevas células sean infectadas, pero no pueden eliminar células en las que el virus ya se encuentra integrado, lo que representa el principal obstáculo para la erradicación del virus (Kok et al., 2017; Schwartz et al., 2017; Sengupta & Siliciano, 2018).

Estudios sugieren que pueden pasar varias décadas para que los reservorios caigan de forma natural a niveles despreciables, asumiendo que los nuevos eventos de infección son inhibidos por el TARV, acelerar estas tasas de disminución puede ser una estrategia de eliminación. Una vez que el ADN viral es integrado en el genoma del huésped, y aunque se encuentre en estado de latencia, el virus mantiene su capacidad de reiniciar rondas de replicación mientras la célula persista (Deeks et al., 2015). Es por esto, que una proporción de células con infección latente puede expresar antígenos virales periódicamente como resultado de la división celular o activación, dejándolas susceptibles al ataque por células T CD8+ o por mecanismos dependientes de anticuerpos (Davenport et al., 2019). Eliminar los reservorios induciendo su activación celular y convirtiendo las células a blancos susceptibles frente el sistema inmune y el tratamiento es una estrategia que ha sido planteada por distintos grupos de investigación (Kok et al., 2017; Schwartz et al., 2017; Sengupta & Siliciano, 2018).

#### **6.4 Infección por VIH**

De manera general, la infección por VIH se puede separar en 3 fases. La primera, llamada fase eclipse ocurre en las primeras 3 semanas y en ella se lleva a cabo la infección de las primeras células, la propagación de la infección vía nódulos linfáticos, el establecimiento de reservorios virales, la respuesta de interferones tipo I y la destrucción del tejido linfoide asociado al intestino. Posteriormente, se da la fase aguda que dura entre 3 y 9 semanas post infección, esta es la fase en la que se puede detectar por primera vez el virus en circulación e incluso alcanza sus niveles más altos, se pueden presentar algunos síntomas similares a una gripe, la respuesta de linfocitos T citotóxicos se inicia y también se empiezan a generar anticuerpos. Luego de 4 o 6 meses posterior a la infección, se inicia la fase crónica en la que se dan la pérdida progresiva de linfocitos T CD4+, inflamación crónica y eventualmente podría progresar al Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida (SIDA) (Deeks et al., 2015), también llamado por algunos autores como enfermedad avanzada por VIH.

Cuando el VIH ingresa al cuerpo, la primera interacción se da con las células de Langerhans y otras células dendríticas presentadoras de antígeno que se encuentran en grandes cantidades en el epitelio de las mucosas, principalmente de la zona genital y del tracto gastrointestinal. Estas células se unen a las partículas virales a través de receptores presentes en su superficie celular, tales como CD4, CCR5 y CXCR4, de esta forma se facilita la unión y fusión de las membranas del virus y del huésped para lograr su entrada. (Gonzalo-Gil et al., 2017; Perreau et al., 2013)

Las células con el virus internalizado migran y promueven la infección de células T cercanas que también expresan receptores CD4, CCR5 y CXCR4, incluso antes de llegar a los nódulos linfáticos. Este proceso es importante para convertir células T CD4+ vírgenes en células T cooperadoras específicas contra el VIH. Generalmente, una semana luego de la infección, el virus empieza a ser detectable en los nódulos linfáticos adyacentes, en este punto, ocurre la replicación viral a nivel local, lo que genera la viremia inicial (Gonzalo-Gil et al., 2017; Perreau et al., 2013).

El ambiente en los nódulos linfáticos regionales y adyacentes favorece la replicación y propagación del virus gracias a la gran concentración de células T activadas, a la gran

cantidad de viriones en la superficie extracelular de las células dendríticas foliculares y a la abundante producción de citoquinas proinflamatorias como interleucina (IL) 1, IL-6 y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) que favorecen la replicación del VIH (Perreau et al., 2013). En este contexto, las células T CD4+ infectadas inducen la proliferación y activación de otras células T y estimulan células T CD8+ específicas contra el VIH que van a cumplir funciones efectoras muy importantes, tales como:

- Función citotóxica al reconocer a través de receptores células infectadas por el virus y liberar perforinas y granzimas para su destrucción.
- Prevención de la entrada viral a las células, prevención de la replicación viral y retraso en la progresión de la enfermedad a través de la liberación de quimiocinas como proteína inflamatoria de macrófagos 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), proteína inflamatoria de macrófagos 1 $\beta$  (MIP-1 $\beta$ ) y quimiocinas ligando 5 que se unen competitivamente a correceptores, CCR5 y al CXCR4 en las células T CD4+ y macrófagos. Estas quimiocinas liberadas sirven también como quimio atrayentes para linfocitos y monocitos.
- Inhibición de la replicación viral a través de la producción de citoquinas y activación de la vía de señalización del interferón  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ) (Gonzalo-Gil et al., 2017).

Esta respuesta de células T CD8+ específicas y no específicas contra el VIH induce la muerte citotóxica de células infectadas por VIH y promueve un estado antiviral general al promover la inmunidad innata, generándole más resistencia celular a la replicación viral.

Durante la infección temprana se genera una depleción del tejido linfoide asociado al intestino donde se encuentran numerosa cantidad de células T susceptibles debido a la replicación masiva del VIH, que además favorece la translocación de microbiota gastrointestinal, que sumado al estado antiviral promovido por las células T CD8+ y a la persistencia del virus o de fragmentos genéticos virales, generan un ambiente proinflamatorio que impulsa la activación inmune crónica y lleva a progresión de la enfermedad (Deeks et al., 2015; Gonzalo-Gil et al., 2017; Perreau et al., 2013).

## **6.5 Respuesta Inmunológica a la Infección por VIH**

Como toda respuesta inmunológica, existe una estrecha relación entre la respuesta celular y la respuesta humoral que se genera en respuesta a la infección por VIH, además dada las características virales también interviene una respuesta inmunológica intracelular.

### ***6.5.1 Respuesta Inmune Innata***

#### ***6.5.1.1 Respuesta inmune intracelular***

La célula infectada posee una serie de factores de restricción como la teterina y la proteína con motivos tripartitos 5 (TRIM5), cuya finalidad es inhibir la replicación viral. Sin embargo, por la naturaleza de las interacciones, estos se ven involucrados en la respuesta inmunológica a nivel intracelular. Estos factores son capaces de inducir la respuesta de citoquinas inflamatorias durante la infección con retrovirus, favoreciendo la activación inmune (Ross, 2018).

Las células de la inmunidad innata pueden responder a través de los receptores de patrones de reconocimiento de patógenos que al interactuar con el virus se activan, lo que induce un aumento de expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y moléculas coestimuladoras, así como la producción de factores solubles como interferones de tipo I y III, citoquinas y quimiocinas que reclutan y activan más células inmunes innatas como macrófagos, células NK y células dendríticas, para controlar la diseminación del virus y activar y modular la respuesta inmune adaptativa, ya que estas señales también permiten la activación de células T vírgenes y su diferenciación (Altfeld & Gale, 2015). Las células epiteliales de la mucosa también pueden reconocer el antígeno viral GP120 a través de receptores tipo toll (TLR) 2 y 4 presentes en su superficie, y producir citoquinas y quimiocinas que reclutan también células inmunes al sitio de encuentro con el virus (Altfeld & Gale, 2015).

A través de los TLR 7 y 8, las células dendríticas plasmacitoides reconocen partículas virales y empiezan a producir grandes cantidades de interferones de tipo I. Estas células dendríticas también son importantes en la modulación de la respuesta de otras células dendríticas, células NK y células T en los nódulos linfáticos, y pueden contribuir a la inmunomodulación, sin embargo, se ha encontrado que estas células no están presentes en

cantidades suficientes en las mucosas durante las primeras 2 semanas de infección, lo que limita su capacidad de generar una respuesta antiviral rápida que logre suprimir la diseminación viral (Ross, 2018).

La fusión de las partículas virales con las membranas de las células transforma las partículas virales en componentes intracelulares. Se ha visto que este evento de entrada del VIH a los macrófagos es censado e induce bajos niveles de respuestas de interferones de tipo I. Luego de la entrada, el ARN viral llega al citosol, sin embargo, como en el VIH el ARN es heredado de las células infectadas previamente resulta indistinguible, por lo que no se ha detectado respuesta de interferones dependiente de ARN en macrófagos, células dendríticas ni en células T infectadas antes de la transcripción reversa. Luego de la transcripción reversa que genera ADN, se generan algunas respuestas en las que productos de ADNdb activan el inflammasoma llevando a la liberación de IL-1 $\beta$  por las células infectadas y a la inducción de muerte celular por piroptosis. En los macrófagos, luego de la transcripción reversa, se induce un bajo nivel de respuesta de interferones de tipo I, pero esta puede aumentar si se censa el ADNdb viral (Ross, 2018).

#### *6.5.1.2 Respuesta innata celular*

Al ser el VIH transmitido por fluidos, las respuestas innatas presentes en mucosa son muy importantes, estas se generan relativamente rápido luego de la infección, uno o varios días después ya se pueden observar números aumentados de células inmunes que, a través del reconocimiento de partículas virales explicado previamente y también de señales de daño emitidas por células infectadas, llevan a la activación de vías inmunes como la de interferones de tipo I y del inflammasoma (Ross, 2018).

Las infecciones por VIH son caracterizadas por replicación viral masiva en los nódulos linfáticos y una temprana y marcada elevación de factores proinflamatorios. Las partículas virales pueden llegar a los nódulos linfáticos de muchas formas, ya sea por difusión y al llegar al nódulo los macrófagos subcapsulares las capturan y llevan al interior, a través de las células dendríticas que las capturan en tejidos periféricos y las transportan, o a través de células ya infectadas. Una vez en los nódulos linfáticos su replicación induce rápidamente una respuesta de interferones de tipo I y se induce una respuesta antiviral T CD8+ que para

ser efectiva requiere de una respuesta T CD4+ que puede ser mediada por las células dendríticas (Ross, 2018).

Las células NK también representan un grupo de células efectoras innatas con funciones citotóxicas y capacidad de inmunomodulación de células T y células dendríticas. A pesar de que expresan algunos receptores de patrones de reconocimiento que pueden reconocer directamente proteínas virales, y receptores de células NK que pueden reconocer señales de estrés celular inducido por virus, su activación también puede ser promovida por macrófagos o células dendríticas. Durante la fase inicial de la infección por VIH, se generan una serie de citoquinas como IL-12 e IL-15 que sirven también como activadores de células NK, cuyos efectos antivirales contra el VIH incluyen la muerte celular dependiente de anticuerpos y la muerte directa de las células infectadas, a través de la secreción de perforinas y granzimas. La infección por VIH puede resultar en expresión aumentada de ligandos de estrés celular en las células infectadas, y expresión reducida de algunas moléculas del sistema de antígeno leucocitario (HLA) clase I, haciendo las células más susceptibles a lisis mediada por células NK (Altfeld & Gale, 2015).

La activación inmune innata generalmente tiene un rol crítico en la respuesta adaptativa subsecuente, esta se ha asociado a respuestas adaptativas más fuertes y con mayor producción de anticuerpos y actividad de células T.

### ***6.5.2 Respuesta Inmune Adaptativa***

#### ***6.5.2.1 Respuesta celular adaptativa***

La interacción de los virus con células presentadoras de antígeno proveen antígenos virales y señales inmunes como citoquinas o moléculas de superficie, que pueden activar y modular o regular respuestas antígeno específicas de células T, células B y otras células. Las células T CD8+ tienen un rol crítico en la inmunidad antiviral en la infección por VIH.

Durante los aumentos iniciales en la viremia, se puede detectar una respuesta específica de linfocitos T CD8+ contra el VIH asociada con la expansión masiva de estas células. Esta respuesta contribuye a determinar el curso de la infección, ya que el desarrollo de células T

CD8+ específicas para el VIH correlaciona con disminuciones en la viremia y se ha asociado al establecimiento de los reservorios virales (Perreau et al., 2013; Ross, 2018).

La expansión inicial de células T CD8+ durante la infección aguda es caracterizada por la generación de efectores T CD8+ policlonales de corta vida, con receptores de células T (TCR) de baja afinidad que muestran retraso en la maduración y potencial citotóxico y antiviral limitado; mientras que más tarde se generan células más potentes con sensibilidad por el péptido mejorada, estas respuestas T CD8+ evolucionan durante la infección. La maduración de la afinidad de células T probablemente ocurre a través de fases sucesivas de interacción de células T CD8+ que permanecen más tiempo en los nódulos linfáticos y poseen mayor afinidad con células presentadoras de antígeno, en presencia de señales de activación óptimas. Un precursor virgen de células T CD8+ pueda dar lugar a descendencia efectora o de memoria y esto parece estar determinado por el límite, duración y calidad de la señal recibida a través del TCR y también a factores ambientales determinantes como la inflamación local (Ross, 2018).

A pesar de la especificidad, esta respuesta T CD8+ sigue teniendo limitada eficacia en el control de la replicación y la infección aguda y crónica por VIH en muchos de los pacientes, en parte por la rápida aparición de mutantes virales que escapan del reconocimiento inmune y en parte por el agotamiento de la respuesta inmune debido a la alta carga de antígenos virales, que ocasiona la pérdida de la capacidad de proliferación de estas células T CD8+ y su capacidad de producir citoquinas y efecto citotóxico. Aún personas que iniciaron tratamiento antirretroviral temprano y que mantienen la funcionalidad de la respuesta T CD8+, son incapaces de mantener el control de la enfermedad si se suspende el tratamiento, lo que evidencia limitaciones en la capacidad antiviral de esta respuesta (Perreau et al., 2013; Ross, 2018).

Por otro lado, las células T CD4+ también se expanden durante la infección aguda y la presencia de células T CD4+ específicas contra el VIH con potencial proliferativo se ha asociado con niveles más bajos de viremia. Sin embargo, la activación de estas células T CD4+ las transforma a su vez en dianas privilegiadas para la infección por VIH, afectando su capacidad de proliferar, generar señales críticas y ocasionando también su depleción

durante la infección aguda. La magnitud y la calidad de la respuesta T CD4+ está estrechamente asociada a la respuesta T CD8+ y, al igual que esta, también se ve comprometida durante la infección (Ross, 2018).

#### *6.5.2.2 Respuesta humoral*

Las respuestas de anticuerpos son esenciales para eliminar las infecciones por retrovirus. Desde etapas muy tempranas de la infección por VIH se pueden presentar anticuerpos IgM específicos contra proteínas virales, pero no tienen capacidad neutralizante. Alrededor de la semana 3 y 4 de infección los niveles de anticuerpos alcanzan su nivel más alto y la respuesta a anticuerpos se vuelve detectable, los primeros tienen especificidad predominantemente por GP41 y se pueden unir a viriones infecciosos o no, otro componente menor muestra especificidad anti GP120 y se pueden encontrar anticuerpos contra otras proteínas como Gag, mientras que anticuerpos anti Env se convierten en la respuesta dominante luego de la transición a la fase crónica de la infección (Moir & Fauci, 2017; Perreau et al., 2013; Ross, 2018).

Tres meses luego de la infección, se pueden detectar anticuerpos en una gran proporción de individuos infectados por VIH, sin embargo, la capacidad de neutralización continúa siendo limitada. Este desarrollo de anticuerpos neutralizantes parece estar retrasado en la infección por HIV cuando es comparada con otras infecciones y una vez desarrollados esos anticuerpos pueden no ser capaces de controlar la infección, debido a la presencia de múltiples quasiespecies y la capacidad del virus de adaptarse y escapar de su efecto (Perreau et al., 2013; Ross, 2018).

Esta respuesta de anticuerpos no muestra eficacia en contener la replicación y diseminación del virus en la mayoría de los pacientes infectados por VIH, sin embargo, una pequeña proporción de pacientes genera luego de varios años de infección anticuerpos con amplia actividad neutralizante, sin embargo, no hay evidencia de que sean eficaces en el control de la viremia (Perreau et al., 2013).

La respuesta inmunológica específica contra el VIH falla en controlar la replicación y la progresión de la enfermedad en la gran mayoría de los pacientes, no así en los

controladores élite (CE) por lo que las observaciones que puedan surgir de ellos pueden representar una guía para el desarrollo futuro de nuevas intervenciones terapéuticas.

### **6.6 Evasión Inmunológica del VIH**

Además de las variantes en los epitopos virales que se generan por mutaciones, que generan cambios conformacionales y que previenen su reconocimiento inmune, la envoltura viral tiene flexibilidad en el largo y grados de glicosilación lo que puede ayudar a proteger epitopos claves. Además, diferentes puntos de unión en la superficie de la envoltura, incluyendo el dominio de unión al CCR5, se exponen transitoriamente solo durante el proceso de entrada para evitar ser blancos de anticuerpos (Sengupta & Siliciano, 2018).

A nivel intracelular, las diferentes proteínas virales accesorias son las responsables de evadir los factores de restricción. Así Vif es responsable de la neutralización de la actividad de APOBEC3, polipéptido catalítico de edición del ARNm, Vpx neutraliza la acción de la desoxinucleósido trifosfato trifosfohidrolasa que contiene dominios SAM y HD (SAMHD1), cuya función es disminuir la cantidad de nucleósidos trifosfatos necesarios para la transcripción reversa y Vpu interfiere con la función de la teterina, molécula que previene la salida de las partículas virales nuevas (Deeks et al., 2015; Gonzalo-Gil et al., 2017). La proteína accesoria Nef también puede causar regulación a la baja de las moléculas de HLA clase I en las células infectadas, lo que resulta en presentación subóptima de los péptidos virales a las células T citotóxicas (Deeks et al., 2015).

### **6.7 Tratamiento de la Infección por VIH**

El progreso en el TARV ha sido un factor determinante en la revolución del VIH que lo ha llevado de considerarse una infección fatal a una enfermedad crónica manejable, cuyo efecto en la expectativa y calidad de vida es cada vez menor.

Cuando la enfermedad fue descubierta la única opción terapéutica disponible era tratar las enfermedades oportunistas, fue hasta después de la descripción del ciclo de replicación viral que se pudo desarrollar investigación científica para los abordajes antirretrovirales que hoy en día incluyen bloqueadores de la unión, inhibidores de la entrada, inhibidores de la transcripción reversa, inhibidores de la integrasa e inhibidores de la proteasa viral entre

otros (Saag, 2019; Sengupta & Siliciano, 2018) y la investigación continúa en búsqueda de mejores opciones terapéuticas, minimizar los efectos secundarios y establecer esquemas de tratamiento cada vez más sencillos.

El primer avance en el tratamiento se dio desde el año 1987, cuando se demostró que la Zidovudina (AZT), originalmente utilizada para tratar el cáncer, era capaz de bloquear la transcripción reversa en el ciclo del VIH. Posteriormente se probó que los antirretrovirales eran capaces de evitar la transmisión de madre a hijo. Estos buenos resultados iniciales llevaron a pensar que con solo el tratamiento antirretroviral se podía curar la infección por VIH, sin embargo, la resistencia comenzó a aparecer. En el año 1996, se introdujo el TARV combinado, que al incluir un inhibidor de proteasa con dos inhibidores de la transcriptasa reversa limitaba el desarrollo de resistencia (Barré-Sinoussi et al., 2013).

A pesar de todos los avances relacionados con el TARV y los buenos resultados que ha mostrado en mantener niveles indetectables de replicación viral y evitar la progresión clínica de la enfermedad, la eliminación del virus y la cura siguen sin ser una posibilidad. Esto ha resultado ser extremadamente difícil de alcanzar, principalmente por los reservorios virales que persisten a pesar del TARV. Se han planteado diferentes estrategias para eliminar esos reservorios sin éxito, la mayoría se han enfocado en reducir la persistencia viral en esos reservorios celulares mediante el uso de agentes activadores de latencia, pero no han tenido efecto significativo (Sengupta & Siliciano, 2018).

Otras alternativas que se han explorado para el tratamiento de la infección por VIH son el desarrollo de anticuerpos monoclonales neutralizantes y la búsqueda de una vacuna, ambos sin resultados satisfactorios. Solo se ha logrado la cura de dos pacientes por medio de un trasplante de médula ósea con donantes que presentan la mutación CCR5 delta 32 que confiere resistencia a la infección, pero es un abordaje lejos de ser accesible (Gupta et al., 2019).

Un objetivo más alcanzable en la actualidad es lo que se conoce como la cura funcional, que consiste en la supresión permanente de la replicación del VIH, en ausencia de terapia antiviral aun cuando no se logra la erradicación viral completa (Davenport et al., 2019).

Es probable que la combinación de factores del huésped, inmunes y virales sean necesarios para lograr el control de la replicación viral, en ese sentido los CE han representado una esperanza para obtener información crítica de estos factores y sus mecanismos involucrados.

### **6.8 Controladores Élite de la Infección por VIH**

Los pacientes infectados por VIH se han categorizado en una serie de grupos de acuerdo a su evolución clínica, donde un extremo está representado por los no controladores, que son quienes no tienen la habilidad de conseguir la supresión virológica en ausencia de tratamiento, lo que inevitablemente lleva a la disminución de sus conteos de linfocitos CD4+ y el desarrollo del SIDA y en el extremo opuesto se encuentran los no progresores de larga duración (Gonzalo-Gil et al., 2017; Lopez-Galindez et al., 2019). Esta clasificación puede variar según cada autor, por lo que en el anexo 5 se muestran las diferentes definiciones planteadas por la literatura utilizada en este trabajo.

Los CE representan el fenotipo aún más extremo, están incluidos en el grupo de los pacientes descritos como no progresores de larga duración (LTNP), este grupo se caracterizan por su habilidad de mantener conteos normales de células CD4+ en ausencia de tratamiento (Gonzalo-Gil et al., 2017; Gurdasani et al., 2014; Lopez-Galindez et al., 2019). Los CE representan una pequeña proporción de pacientes infectados con VIH, que además logran un control espontáneo de la replicación viral hasta niveles indetectables que son mantenidos por un periodo de tiempo. Estos pacientes representan una gran minoría y se estima su frecuencia en un 0.2 a 0.5 % de las personas infectadas. Las presentaciones clínicas en ellos suelen ser más favorables que las de la mayoría (Crowell & Hatano, 2015; Deeks et al., 2015; Gonzalo-Gil et al., 2017; Gurdasani et al., 2014).

Como los ensayos para determinar la carga viral han mejorado con el tiempo, la definición de CE también ha cambiado. De hecho, como aún no existe un consenso para la definición, diferentes autores han planteado la suya, algunas de las definiciones que se han utilizado son:

- Pacientes con menos de 50 copias/ml de ARN viral por al menos 12 meses luego del diagnóstico (Migueles & Connors, 2015).
- Individuos que tienen la habilidad de suprimir la viremia a niveles indetectables, (menos de 50 copias/ml) mientras mantienen conteos de CD4+ elevados (200 – 1000 / $\mu$ l) en ausencia de TARV (Gonzalo-Gil et al., 2017).
- Individuos que son capaces de controlar naturalmente el VIH a niveles que son indetectables por ensayos convencionales ( menos de 50 copias /ml) (Deeks et al., 2015).

La falta de una definición consenso puede ser un factor de confusión que influya en el resultado de investigaciones, por lo que un grupo liderado por Gurdasani realizó una revisión sistemática de los fenotipos extremos de VIH, en la que encontraron que las definiciones utilizadas eran bastante heterogéneas. En el caso de los CE la carga viral se incluyó como criterio en la mayoría de definiciones, sin embargo, el rango variaba desde 40 hasta 500 copias/ml, siendo 50 copias/ml la cantidad más utilizada; la duración del seguimiento también aparecía en gran cantidad de definiciones pero nuevamente el rango variaba desde los 6 meses hasta los 16 años siendo 1 año la duración más utilizada (Gurdasani et al., 2014).

Para efectos del presente trabajo, se considerará la definición de controlador élite como el paciente que logra mantener cargas virales menores a 50 copias/ml y conteos de linfocitos T CD4+ mayores a 400 células/ $\mu$ l durante al menos 3 años en ausencia de TARV.

Los CE son considerados un modelo para la cura funcional de la infección por VIH, en la última década se han llevado a cabo muchos estudios e investigaciones con el objetivo de entender las causas implicadas en el control de la infección y la falta de progresión clínica de la enfermedad. Identificar y comprender los mecanismos de respuesta en este grupo de pacientes, así como las interacciones virus-huésped puede dilucidar estrategias importantes para el desarrollo de nuevos tratamientos y ayudar en la búsqueda de una cura definitiva.

No se han encontrado patrones demográficos consistentes que evidencien que género, etnia o diferencias en el modo de transmisión del VIH sea diferente entre controladores y no controladores, de hecho, como consecuencia de la respuesta inmune multifactorial y las diferentes contribuciones de los factores implicados en el control de la infección, el grupo de CE no es homogéneo y puede tener diferentes características (Gonzalo-Gil et al., 2017).

Algunos autores como Blankson et al sostienen que el estatus de CE está determinado principalmente por factores del huésped, fundamentándose en el hecho de que en sus experimentos lograron aislar virus de CE con características similares de los presentes en pacientes progresores (Blankson et al., 2007). Por otro lado, otros autores proponen que el excepcional control viral se debe principalmente a factores propios del virus, a infecciones con variantes defectuosas o atenuadas (Concepción Casado et al., 2018) y que esto es lo que determina el buen curso clínico de estos pacientes, sin embargo algunos de estos pacientes que inicialmente son catalogados como CE pierden ese control y progresan a fase SIDA, lo que debilita esta planteamiento. Un argumento más en favor del predominio de los factores individuales sobre los virales que han desarrollado otros autores, es el hecho de que pacientes con fenotipo controlador han sido infectados por pacientes progresores, por lo que el virus estaba intacto en sus capacidades de replicación y evolución (Miguel & Connors, 2015).

Es probable que el fenotipo de CE sea el resultado de factores asociados al huésped, a la respuesta inmunológica y a los factores virales entre otros (Lopez-Galindez et al., 2019; Perreau et al., 2013) y dada la complejidad de las interacciones y la heterogeneidad de cada sujeto algunos sean más influyentes en unos casos y otros sean los determinantes en otros. A continuación, se enumeran algunos de los factores que se han identificado en estos pacientes.

### **6.8.1 Factores Virales**

Algunos virus pueden mostrar mutaciones que afecten su capacidad de replicación o generen defectos en proteínas fundamentales para el virus. Un ejemplo de esto son defectos en el gen *nef* (Lopez-Galindez et al., 2019). Se han reportado funciones disminuidas de *nef* en algunos CE comparado a progresores. La proteína Nef tiene entre sus mecanismos de

acción regular a la baja los niveles superficiales de MHC tipo I y MHC tipo II, modula la señalización del TCR al inducir la producción del factor nuclear de células T activadas o al bloquear la producción de IL-2 en células T activadas y potencia la infectividad del VIH al evitar la inclusión del gen que codifica por el incorporador de serina (SERINC) 3 y SERINC 5 en los viriones. Es por esto, que deleciones en el gen *nef* generan características atenuadas y permiten mantener el virus suprimido por años contribuyendo a la ausencia de progresión (Gonzalo-Gil et al., 2017).

Mutaciones en los genes accesorios del VIH también pueden favorecer el control viral, este es el caso de la proteína Vif, que en su función normal se une y bloquea la actividad antiviral de las proteínas APOBEC3 y otros factores del huésped, induciendo su degradación en el proteosoma. En presencia de algunas mutaciones, el gen *vif* es incapaz de cumplir esta función y se puede reducir la replicación viral (Gonzalo-Gil et al., 2017; Sáez-Cirión & Pancino, 2013).

Otro factor que se ha encontrado en CE es un nivel más bajo de reservorios virales en células T CD4+ y, también, se plantea como un factor la ausencia de replicación viral, ya que se ha encontrado evidencia de poca evolución genética en las poblaciones con baja complejidad, en algunos casos hasta décadas después de seguimiento de los pacientes. Se han reportado variaciones de únicamente 2 nucleótidos entre las secuencias genómicas del mismo paciente con 12 años de diferencia entre ellas. Esta falta de heterogeneidad puede reflejar una combinación muy lenta del virus. La baja diversidad y la falta de evolución viral se ha relacionado fuertemente con el control viral permanente en CE. Los CE que pierden el control han mostrado mayores niveles de diversidad genética, ya que algunas mutaciones que le confieren al virus replicación restringida pueden ser revertidas (Concepcion Casado et al., 2020; Lopez-Galindez et al., 2019)

La baja capacidad de replicación viral de algunos CE es explicada en algunos casos por la presencia de mutaciones en las proteínas Gag, algunas de las cuales le confieren baja capacidad de replicación al virus. También, algunos virus recombinantes con secuencias de transcriptasa reversa e integrasa intactas muestran una capacidad de replicación reducida. En algunos CE, estos y otros polimorfismos en el genoma viral se adquieren temprano

durante el curso de la infección, algunos llevan al virus a una falta de variabilidad genética, lo que se traduce en poca replicación viral por falta de capacidad. En estos casos, el ADN viral parece defectuoso ya que no tiene la capacidad de generar ARNm, partículas virales o viriones competentes, lo que limita la persistencia (Gonzalo-Gil et al., 2017; Lopez-Galindez et al., 2019).

También, se han estudiado variantes fenotípicas de la envoltura viral, y se han encontrado diferencias significativas en la eficiencia de entrada y cinética más lenta en la unión, lo que puede contribuir al control. Además, se han encontrado envolturas con afinidad muy baja hacia la molécula CD4, esta característica también pueden influir en la baja transmisión y capacidad de replicación del virus en esos pacientes (Lopez-Galindez et al., 2019).

### ***6.8.2 Factores de la Respuesta Inmune***

Muchos estudios han sugerido que el control viral está directamente influenciado por la respuesta inmune, tanto celular como humoral. Se ha encontrado que las respuestas inmunes con células T CD4+ y T CD8+ específicas contra el VIH ocurren más frecuentemente en pacientes CE que en no controladores. La ausencia de esas respuestas específicas también se ha asociado como marcador de progresión de la enfermedad (Gonzalo-Gil et al., 2017). La presencia de respuesta de células T CD4+ y T CD8+ con especificidad hacia Gag, se ha asociado a control viral y también se ha encontrado mayor avidéz en estas células T Gag específicas en pacientes CE respecto a no controladores (Concepcion Casado et al., 2020; Gonzalo-Gil et al., 2017). Se ha demostrado también que una respuesta de células T CD8+ específica contra proteínas virales del VIH correlaciona inversamente con los niveles de ARN viral, lo que concuerda con estudios en los que se ha determinado la gran capacidad de los linfocitos T CD8+ de los controladores de VIH de suprimir la infección viral *ex vivo* (Lopez-Galindez et al., 2019; Ross, 2018).

Los linfocitos T CD8+ de CE han mostrado más capacidades polifuncionales en respuesta a los antígenos del VIH, en comparación con los no controladores, presentan mayor degranulación y liberación de perforinas y granzimas, mayor capacidad de secretar múltiples citoquinas y quimiocinas, principalmente IL-2 y más capacidad de proliferar para inhibir la replicación del VIH y destruir las células infectadas, lo que los hace más

eficientes en el control de la infección (Lopez-Galindez et al., 2019; Migueles & Connors, 2015).

Estudios en células CD4+ de CE han asociado el control de la replicación con niveles más altos de producción de quimiocinas y de IFN- $\gamma$ . Células CD4+ no activadas de CE fueron totalmente susceptibles a infección por VIH, similar a los progresores, sin embargo, en los no controladores se evidenciaron niveles más altos de producción de partículas virales. Los resultados en células CD4+ son controversiales y la respuesta T CD4+ no se ha asociado a un rol directo en controlar la replicación viral (Gonzalo-Gil et al., 2017).

Respecto a otras células inmunes, se ha observado que niveles indetectables de viremia correlacionan con mayores porcentajes de células NK activadas y que mecanismos de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos contra proteínas de la envoltura y Vpu mediados por células NK se han asociado a un mejor control de la infección (5,8). También se sugiere que mantener células B de memoria y respuestas humorales con anticuerpos capaces de neutralizar puede contribuir al control natural de la infección (Gonzalo-Gil et al., 2017). En análisis de Western Blot de CE, se han encontrado niveles aumentados de células dendríticas periféricas y de anticuerpos detectables contra las proteínas virales (Concepcion Casado et al., 2020).

Otro factor interesante que se ha descrito en los CE es la presencia de niveles más altos de 2-LTR circulares del ADN viral, sugiriendo un bloqueo en la integración al genoma viral luego de la entrada a la célula (Gonzalo-Gil et al., 2017).

### ***6.8.3 Factores Genéticos del Huésped***

Se ha sugerido que el control inmunológico de los CE está relacionado a los epitopos presentados por el HLA en el contexto de una célula infectada por el VIH (Migueles & Connors, 2015). Los alelos de HLA, particularmente B57\*, B58\* y B27\* así como otros genotipos de genes de CCR5, receptor de quimiocina de tipo 2 (CCR2), factor derivado de células estromales 1 (SDF1) y del receptor tipo inmunoglobulina de célula NK con 3 dominios Ig y cola citoplasmática corta 1 (KIR3DS1) se han asociado al control viral por su

mayor presencia en pacientes no progresores (Concepcion Casado et al., 2020; Gonzalo-Gil et al., 2017; Lopez-Galindez et al., 2019).

Hasta el día de hoy, quizás el factor más asociado al control viral es la presencia del alelo CCR5 delta 32 (mutación delecional de 32 pares de base que hace el receptor perder su funcionalidad) que en los individuos homocigotos confiere protección contra la infección viral, siendo completamente resistentes a la infección por las cepas virales con tropismo R-5; los heterocigotos tienen expresión del receptor relativamente normal, pero la enfermedad progresa más lentamente. Este genotipo es el que ha sido utilizado en los trasplantes de médula ósea que han resultado en 2 pacientes curados de la infección (Gupta et al., 2019).

A pesar de los múltiples y diversos esfuerzos para determinar los factores involucrados en el control de la infección por VIH todavía queda mucho por estudiar y conocer.

## 7. Capítulo 1

### Aspectos de la respuesta inmunológica de CE

Muchos grupos de investigación han dedicado sus estudios a la búsqueda de marcas inmunológicas distintivas de pacientes CE. Se han comparado poblaciones celulares, distribución de estas poblaciones y subpoblaciones, capacidad de activación, funcionalidad, marcadores celulares, perfiles de citoquinas y diferencias en los alelos de HLA, entre otros. En muchos casos, se han hallado diferencias significativas respecto a otros pacientes infectados con VIH o controles negativos para la enfermedad que podrían representar bases prometedoras para el desarrollo de mejores estrategias de diagnóstico, seguimiento y tratamiento para los pacientes infectados con VIH. En este capítulo se puntualizarán esas diferencias.

#### 7.1 Inmunidad innata

##### 7.1.1 Células inmunes innatas

Dentro de las diferencias observadas en células de la inmunidad innata de los CE, se encontró que estos pacientes cuentan con cantidades significativamente más altas de monocitos CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> respecto a controles negativos para el virus. Además, estos monocitos expresan mayor cantidad de CX3CR1, receptor de quimiocinas importante en la mediación de la migración celular. Estos monocitos también mostraron mayor capacidad de secreción de IL-1 $\beta$  al ser estimulados con lipopolisacárido (LPS) a pesar de tener niveles basales similares a los controles negativos, lo que parece sugerir que los CE tienen monocitos más propensos a activarse (Krishnan et al., 2014a).

En CE el gen SIGLEC1 se encontró disminuido, este es un gen expresado por células mieloides y codifica por proteínas de superficie involucradas en múltiples respuestas inmunes. Muchos macrófagos y células dendríticas unen el VIH a estas proteínas de superficie, lo internalizan y median la transmisión de célula a célula, por lo que su expresión puede contribuir al aumento en la transmisión del virus y a aumentar el tamaño del reservorio latente, así que su expresión disminuida puede ser un factor favorecedor para los CE (Zhang et al., 2018). Por otro lado, el gen que codifica por KLF12 se encontró

aumentado, este es un factor de transcripción que actúa como regulador de la expresión genética y que se ha relacionado a la proliferación de células NK (García et al., 2020).

También, se han observado niveles porcentuales y números absolutos de células significativamente más altos en células dendríticas mieloides (CDm) periféricas y sus subpoblaciones CD1c+ y CD141+ y células dendríticas plasmacitoides periféricas (CDp), principales productoras de IFN de tipo I, en CE al comparar con pacientes en TARV. Respecto a individuos sanos la diferencia en CDm no es significativa y las CDp no mostraron diferencia. Se cree que la presencia de cargas virales detectables puede afectar las cantidades de estas células. Además, se ha encontrado correlación positiva de los porcentajes de CDp con la producción de IFN- $\alpha$  y correlación negativa con la carga viral (Machmach et al., 2012). Consecuentemente, la producción de IFN- $\alpha$  fue mayor en pacientes CE comparado con pacientes virémicos cuya respuesta es muy débil en ausencia de estímulos. Además, al estimular células mononucleares de sangre periférica (CMSP) a través de TLR9 con CpG, la producción de IFN- $\alpha$  en CE fue hasta 100 veces mayor que en grupos de pacientes sanos y de controladores virémicos. Aunque la determinación se realizó en CMSP se asume que la producción se debe principalmente a CDp ya que solo ellas y los linfocitos B expresan TLR9 y, además, solo las CDp pueden llegar a expresar hasta 1000 veces más IFN- $\alpha$  que los demás tipos celulares. De manera que, la mayor producción de IFN- $\alpha$  probablemente se debe a los niveles preservados de CDp y no a una mejor funcionalidad de estas en células en CE (Machmach et al., 2012).

Por otro lado, las CDp de CE mostraron una capacidad más alta de suprimir la producción de partículas del VIH in vitro, logrando niveles de supresión similares a los de sujetos sanos, mientras que las células de los pacientes virémicos no mostraron capacidad de reducir la producción viral. Esta reducción de la producción viral es al menos parcialmente mediada por IFN- $\alpha$ , ya que al utilizar anticuerpos contra IFN- $\alpha$  se revierte. Este efecto mediado por IFN- $\alpha$  también puede deberse a la apoptosis de células T, ya que las CDp de CE pueden inducir la expresión del ligando inductor de apoptosis relacionado al TNF (TRAIL). Esto correlaciona con la observación de que las CDp de CE inducen mayores cantidades de células Topro III positivas, marcador de muerte celular, esto comparado a infectados virémicos (Machmach et al., 2012).

La menor respuesta de las CDp de pacientes virémicos al VIH se ha asociado a la menor expresión de CD4+, tanto en su superficie celular como a nivel intracelular, en comparación con las CDp de CE y sujetos sanos. La endocitosis es importante para la activación de las CDp y se cree que la exposición continua al virus puede asociarse a la internalización del CD4 en estas células, lo que afecta su capacidad de activación. Se ha observado que las CDp de pacientes virémicos son funcionales, pero no permiten la estimulación efectiva por el VIH por lo que requieren de una vía alternativa para su activación, contrario a las CDp de CE que tienen funcionalidad preservada y magnitudes de respuesta mayores (Machmach et al., 2012).

La mayoría de los estudios *in vitro* de CDp sugieren que el IFN- $\alpha$  es el principal mecanismo de supresión viral de estas células. Este, además de interferir en la replicación viral, también tiene un efecto adyuvante en diferentes células inmunes como monocitos, células NK y células T, lo que genera un enlace entre la inmunidad innata y la adaptativa (Machmach et al., 2012). Además, la interrelación de las células T con el número y funciones preservadas de las células innatas podría ser un factor crítico para el mantenimiento de la alta respuesta T específica al VIH en los CE (Concepcion Casado et al., 2020).

### **7.1.2 Autofagia**

La autofagia comprende varias vías iniciadas por señales de ULK1, ULK2, y complejo BECN1/Beclin 1-IPK3C3. Es regulada por una serie de cofactores y termina en los lisosomas donde se da la degradación. El sistema inmune hace uso del proceso de autofagia para eliminar patógenos intracelulares como partículas virales y regular la respuesta inmune, sin embargo, algunos virus la utilizan para evadir esta respuesta. En el caso del VIH, se ha descrito que su proteína Vif se une a proteínas involucradas en la regulación de la autofagia. En la fase temprana, el VIH es capaz de estimular la autofagia para maximizar la producción viral, pero en fases más avanzadas, la proteína Nef interactúa con BECN1 para prevenir la degradación del VIH (Nardacci et al., 2014).

En pacientes CE y LTNP se ha encontrado un porcentaje significativamente más alto de CMSP que contienen vesículas con material no digerido, así como mayor número de

vesículas en cada célula individual respecto a pacientes no progresores. En pacientes infectados con VIH se han encontrado niveles de expresión más altos de marcadores de autofagia como ATG5, BECN1, AMBRA1 y MAP1LC3A-II (LC3-II) respecto a individuos sanos, lo que demuestra que el proceso de autofagia se encuentra activo. Cuantitativamente, MAP1LC3A-II mostró nivel significativamente más alto en CE y LTNP respecto a progresores normales y sujetos sanos, AMBRA1 mostró aumento en LTNP respecto a los progresores normales, mientras que BECN1 se encontró más alto en CE respecto a donadores sanos y en LTNP respecto a progresores normales. Los niveles más altos de ARNm de BECN1 se encontraron en los CE que eran capaces de controlar por completo la viremia, mientras que ATG5 no mostró diferencias entre los diferentes grupos de pacientes infectados. Se concluyó que este mayor nivel de expresión de proteínas correlaciona con mayor flujo de autofagia en las CMSP de pacientes controladores del VIH (Nardacci et al., 2014).

Se confirmó que el VIH puede ser degradado en autofagosomas al evidenciar co-localización de la proteína viral GP-120 con la proteína de membrana asociada a lisosomas (LAMP1) y la tetraspanina CD63 en células de LTNP, lo que refuerza que la autofagia funcional aumentada puede contribuir al control viral removiendo componentes virales del citoplasma celular (Nardacci et al., 2014).

En muchos procesos biológicos existe comunicación entre la autofagia y la apoptosis, algunos de los genes que se han involucrado en la apoptosis de células T inducida por el VIH también resultan en moléculas claves reguladoras de la autofagia. El aumento de la autofagia como mecanismo de supervivencia podría tener un rol en limitar la disminución drástica de células T al limitar su apoptosis, ya que podría colaborar en la remoción de mitocondrias y demás componentes dañados y así evitar la liberación de citocromo C, un desencadenante de apoptosis (Nardacci et al., 2014).

### ***7.1.3 Aumento en p21 (factor de restricción)***

Se ha descrito que las células de CE poseen menor permisividad a la infección por VIH. La evaluación de ADN viral sugiere que esto sucede a causa de un bloqueo en la replicación luego de la entrada y antes de la integración, durante las etapas tempranas de la

transcripción reversa. Esta observación se ve respaldada por la reducción en el número de provirus integrados y el aumento proporcional de intermediarios no integrados en CE (Madlala et al., 2018).

En experimentos *ex vivo* las células T CD4<sup>+</sup> de CE mostraron una reducción de la transducción viral. Al determinar intermediarios virales 12 horas post transducción, los productos de la transcripción reversa tardíos, así como el número de copias integradas fueron más bajos en CE, pero no se evidencia algún bloqueo adicional porque los círculos 2-LTR no se encontraron elevados. Se analizó la expresión de algunos receptores y proteínas involucradas y fue similar en CE, paciente infectado progresor y en control sano, la única diferencia hallada fue un aumento en la expresión de p21 en CE (Madlala et al., 2018), lo que concuerda con la mayor expresión de ARNm de p21 en CE que se ha evidenciado en otros estudios (Moosa et al., 2018). Por esto, se propone que este bloqueo puede deberse a los efectos de este factor de restricción celular que inhibe la actividad enzimática de CDK9, proteína esencial para la correcta elongación del ARNm del VIH (Madlala et al., 2018).

## **7.2 Inmunidad adaptativa**

### **7.2.1 Células T**

Se han encontrado conteos mayores de células T CD4<sup>+</sup> en CE respecto a los no controladores y controladores post tratamiento (Gomes et al., 2017; Krishnan et al., 2014a), pero significativamente más bajos que los de controles sanos (Gomes et al., 2017). Los números absolutos de células T CD4<sup>+</sup> no variaron entre CE y controladores virémicos, sin embargo, con el tiempo se ve una disminución significativa de los porcentajes de CD4<sup>+</sup> mientras que los porcentajes de CD8<sup>+</sup> aumentan, esto se ha asociado con viremia baja persistente y el balance de citoquinas (Platten et al., 2016). También el grupo de CE mostró conteos de CD8<sup>+</sup> ligeramente más altos, sin ser significativos, que los grupos de no controladores y pacientes sanos, lo que puede deberse al estímulo constante (Gomes et al., 2017).

CE y controladores secundarios a suspensión de tratamiento mostraron células T con mayor capacidad de proliferación frente a las proteínas virales Gag y Pol, esto sugiere que la

proliferación relativamente alta se asocia al control del virus, sin importar si es de forma espontánea o no (Van Gulck et al., 2012). También se ha evidenciado respuesta de células T a Gag y Nef y en menor grado contra Tat (Moroni et al., 2014).

La respuesta a Gag se ha señalado como la principal y se ha encontrado dirigida contra regiones que contienen epítomos restringidos al HLA-B\*57. Una tercera parte de las células T CD8+ específicas para HLA-B\*57 expresan CCL4 (MIP-1b) y la mitad de estas células mostraron polifuncionalidad (Moroni et al., 2014). En la respuesta T CD4+ específica a Gag se han observado también epítomos restringidos a HLA-DR1\*13 (Pernas et al., 2012). En CE excepcionales (CEE), pacientes con más de 25 años de control, se ha encontrado que esta respuesta a Gag es más alta en frecuencia y polifuncionalidad al comparar con sujetos en TARV y similar a la de CE persistentes (Casado et al., 2020).

Al evaluar genes expresados diferencialmente en CMSP de CE y progresores virémicos, se evidenció expresión diferencial de 6 moléculas miembros de la familia del TNF (TNFSF) y 5 miembros de la familia del receptor de TNF (TNFRSF) que están involucradas en vías reguladoras de apoptosis, inflamación, diferenciación celular y estado antiviral. Respecto a las vías de muerte celular, la apoptosis inducida por TRAIL se ha evidenciado en células T infectadas lo que podría ser una explicación para la depleción de células T. En los CE, se han encontrado niveles más bajos de TRAIL y FasL comparado con progresores virémicos y controladores sanos, y de TWEAK comparado con sanos. Esta vía de Fas se ha señalado como una de las causantes de la disminución de linfocitos y el hecho que FasL se encuentre disminuido en CE respecto a progresores virémicos y sanos, sugiere que en estos pacientes es posible que el virus no induzca esa vía de señalización o que los linfocitos sean menos sensibles a esta señalización (Zhang et al., 2018).

La expresión génica de CXCR6, correceptor minoritario para la entrada de VIH a los linfocitos T, se encontró también disminuido en CE respecto a progresores virémicos (Zhang et al., 2018).

#### *7.2.1.1 Subpoblaciones de células T*

Las poblaciones de células T de CE mostraron niveles de activación significativamente mayores cuando se compararon con controladores virémicos, progresores en ausencia de TARV y progresores con supresión viral debida al TARV (López et al., 2011).

Los CE mostraron conteos más bajos de todas las subpoblaciones T CD8+ excepto de células T CD8+ vírgenes, con niveles mayores comparado a los típicos progresores, esto sugiere un compartimento T CD8+ mejor preservado en los CE. Respecto a los niveles de activación, todos los pacientes VIH+ mostraron niveles de activación aumentados en los diferentes subgrupos de T CD8+ respecto a los pacientes negativos, mientras que los CE mostraron niveles de activación de T CD8+ totales más altos que los progresores con supresión viral por TARV, incremento mediado principalmente por aumento en la activación de las subpoblaciones de T CD8+ vírgenes y T CD8+ de memoria central (TCM), estas últimas representando la contribución proporcionalmente más significativa al total (López et al., 2011). El alto nivel de activación de células T CD8+ totales en CE no fue explicado por diferencias en los reservorios y replicación virales, ya que su carga viral fue indetectable, por lo que debe ser explicado por otros factores; podría ser que los niveles más altos de activación estén relacionados con la pérdida progresiva de células T CD4+ que presentan algunos CE aún con carga viral indetectable (López et al., 2011).

Respecto a las subpoblaciones de células T CD4+, los CE no mostraron diferencias significativas en la distribución de los diferentes estadios de diferenciación con pacientes exitosamente tratados con TARV, progresores sin TARV y controles negativos. La mayoría fueron células T CD4+ vírgenes y TCM. Los niveles de activación de todas las subpoblaciones de células T CD4+ en CE fue normal, con niveles similares a los pacientes supresores con TARV, pero niveles más bajos que los de controladores virémicos y progresores típicos debido principalmente a menor activación en la subpoblación de células TCM (López et al., 2011).

Al evaluar la expresión génica enfocado en células T CD4+, algunos CE tiene perfiles transcripcionales más similar a individuos con viremia suprimida por TARV y otros son más similares a individuos negativos. Los CE que se asemejan más a individuos no infectados mantienen niveles de T CD4+ mayores, menor magnitud de respuestas T CD8+

específicas contra el VIH y menor cantidad de copias de VIH en el plasma (Gaardbo et al., 2014).

#### *7.2.1.2 Funcionalidad de células T CD4+*

En las células T CD4+ de CE se encontraron receptores de superficie con gran avidéz de antígeno para péptidos virales como Gag. Estos linfocitos T CD4+ parecen tener un efecto indirecto al estimular la respuesta T CD8+, más efectiva en el control de la infección. También, se ha planteado la posibilidad de que estas células T CD4+ con especificidad anti-VIH tengan un efecto directo disminuyendo la replicación viral, ya que se ha observado que en la infección por VIH se da un aumento en la cantidad de células T CD4+ circulantes que contienen perforinas y grandes cantidades de marcadores de actividad citotóxica, por lo que son capaces de promover la lisis de células B autólogas que posean el péptido que reconocen (Pina et al., 2018).

Se ha encontrado respuesta T CD4+ específica contra Gag y Pol con menor magnitud que la observada en células T CD8+ y es una respuesta que a pesar de que disminuye con el tiempo persiste detectable (Moosa et al., 2018).

Las células T CD4+ de memoria en reposo (Trm) son importantes como reservorio de VIH, y la infección por este virus induce cambios en su perfil transcripcional. En CE, se encontró una expresión muy diferente a la de pacientes progresores, pero no comparado a pacientes con viremia suprimida por TARV y sanos, lo que sugiere que el perfil transcripcional puede estar relacionado al control de la viremia sin importar la forma en la que se alcance. El VIH genera cambios que pueden ser revertidos al controlar la replicación viral (García et al., 2020).

Los resultados del perfil transcripcional completo de células Trm sugieren la existencia de diferencias sutiles, pero relevantes, entre CE y controladores post TARV, con mayor expresión de procesos relacionados a respuestas inmunes innatas y adaptativas en CE. El perfil de los procesos fue diferente en ambos grupos, en CE se relacionaban a activación, proliferación y funcionalidad de células T, diferenciación y citotoxicidad de células NK, procesos con actividad antiviral como transporte intracelular de proteínas virales, regulación de la replicación del genoma viral y regulación por el virus de niveles de

proteínas virales en la célula huésped, mientras que en los controladores post tratamiento fueron procesos relacionados a la anergia y tolerancia de linfocitos, respuesta inmune humoral y respuesta inmune en mucosas y no se encontraron procesos relacionados al ciclo de vida viral (García et al., 2020). Al comparar con sanos y progresores, los CE presentaron niveles aún más altos de procesos relacionados a respuesta inmune y niveles más bajos de procesos relacionados al establecimiento de latencia viral respecto a sanos. Esta evidencia sugiere la existencia de patrones transcripcionales en células Trm asociadas específicamente con el estatus de CE que pueden estar relacionados con la habilidad de estos individuos de controlar espontáneamente la infección por VIH y de mantener un reservorio de menor tamaño (García et al., 2020).

#### 7.2.1.3 Funcionalidad de linfocitos T CD8+

La citotoxicidad de los linfocitos T CD8+ representa uno de los mecanismos principales para el control de la replicación por VIH (Casado et al., 2020; Pina et al., 2018). La infección por VIH resulta en niveles altos de activación de linfocitos T CD8+ desde etapas tempranas (Falivene et al., 2015).

Se ha descrito una respuesta de linfocitos T citotóxicos (CTL) amplia y fuerte especialmente hacia Gag (Casado et al., 2020; Llano et al., 2019). Esto se reafirma con la observación de que los pacientes CE que pierden su estatus tienen la capacidad de las células T CD8+ de inhibir la replicación viral *in vitro* reducida respecto a los controladores persistentes y LTNP desde antes de perder el control, esto incluso se puede dar en pacientes con alelos de HLA protectores. Otra explicación alternativa para esta pérdida de control es el aumento en la activación de células T CD8+ y el agotamiento que desencadena la pérdida de control (Llano et al., 2019).

La magnitud y la amplitud en la respuesta de CTL en pacientes CE es importante para la respuesta antiviral, así se ha visto en el caso de un CE superinfectado (infectado 2 veces con diferentes virus) que logró controlar efectivamente los 2 virus y que, luego de la superinfección, mostraba tempranamente una respuesta detectable a 27 péptidos, 6 eran hacia Gag, 3 a Nef, 2 a la proteasa, 11 a la transcriptasa reversa y 2 a GP-120. La respuesta más fuerte fue hacia p24 y Nef y, de esos 27, 6 correspondían a epítomos óptimos de CTL

para los que el CE expresaba el alelo de HLA I restringido. Se comparó la respuesta CTL con una muestra 8 años después y se encontraron 23 respuestas, 13 iguales a las detectadas la primera vez y un ligero cambio en la respuesta específica a Gag, (principalmente p24), la integrasa y Nef. Esto evidencia la amplia, fuerte y sostenida respuesta de CTL al VIH que definitivamente podría contribuir al control viral (Pernas et al., 2012).

Para evaluar la magnitud de la respuesta T específica a Gag en CE se determinó el porcentaje de células T CD8+ con especificidad a Gag produciendo al menos una citoquina intracelular como TNF- $\alpha$ , IL-2 o IFN- $\gamma$ . Se encontraron niveles más altos de CD8+ totales específicos para Gag en pacientes CE al compararlos con pacientes con viremia suprimida por TARV, esas diferencias también se notaron en las subpoblaciones de células de memoria central, memoria efectora y terminales diferenciadas. Se utilizó el índice de polifuncionalidad para determinar la liberación simultánea de múltiples citoquinas y este fue más alto en las células T CD8+ totales con especificidad Gag que producían 3, 4 y 5 funciones en los CE al comparar con los pacientes en TARV (Casado et al., 2020). Esto concuerda con el hallazgo en otros CE en donde la activación de células T fue similar a los no infectados y pacientes progresores, pero al primer año post infección se evidenció magnitud alta de respuesta T CD8+ secretando IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-2 con especificidad hacia Gag y Nef así como una respuesta moderada hacia Pol, estas respuestas fueron disminuyendo luego de 5 años de control viral pero persistieron detectables. Al rastrear la respuesta Gag se encontró que estaba restringida al epítipo TL9 del HLA-B\*81:01 (Moosa et al., 2018).

Al analizar *ex vivo* la susceptibilidad de células T CD4+ de CE, se encontró que no son refractarias al VIH intrínsecamente ni con virus tropismo R5 o X4, pero al agregar células T CD8+ del huésped al ensayo, se obtiene una reducción en la replicación, lo que evidencia el papel primordial de la respuesta CTL para apoyar la capacidad del sistema inmune de generar respuestas adaptativas específicas (Casado et al., 2020).

El impacto de la respuesta T en el control de la replicación viral no puede ser explicado únicamente por la cuantificación de la magnitud y amplitud de esta respuesta, ya que incluso se ha reportado que esta magnitud y amplitud es variable entre los diferentes

fenotipos de pacientes infectados por VIH (van Gulck et al., 2012). Aparentemente, es más influyente el tema de la polifuncionalidad en las respuestas CTL para generar el control viral (Pernas et al., 2012).

*Aumento en el potencial citotóxico de CD8+ está asociado con expresión de T-bet*

Se ha descrito un aumento en el potencial citotóxico de células T CD8+ de CE y que este aumento está asociado a la expresión de T-bet, que es un factor de transcripción de la familia de T-box. Inicialmente se describió como determinante en el compromiso del linaje Th1, pero se ha demostrado que es importante para la diferenciación efectora de las células T CD8+ que interviene en el desarrollo de muchas enfermedades autoinmunes (Hersperger et al., 2011).

Las células T CD8+ de CE tienen mayor capacidad de suprimir la replicación del VIH en células T CD4+ autólogas y se ha evidenciado una capacidad de expresar niveles más altos de perforina inmediatamente luego del reconocimiento del antígeno, esto respecto a progresores crónicamente infectados. La expresión de granzima B también es superior, comparado a pacientes progresores crónicos y pacientes con viremia suprimida por TARV. Ambas correlacionan positivamente con los niveles de T-bet, también más altos en estas células específicas al VIH. La perforina y la granzima B comprenden gran proporción de la respuesta específica a Gag y Nef, y T-bet se puede unir a regiones promotoras de ambas, por lo que tiene la capacidad de influir en los niveles de expresión de esas moléculas (Hersperger et al., 2011).

Durante respuestas específicas al virus, T-bet es rápidamente regulado a la alta, así como la perforina y granzima B, por lo que las células T CD8+ específicas al VIH de CE mostraron también niveles más altos de expresión de T-bet que los progresores crónicos luego de la proliferación, aunado a una capacidad de proliferación mayor. También, se encontró una correlación positiva entre los niveles de T-bet en células IFN- $\gamma$ + (Hersperger et al., 2011).

Estos datos sugieren que los T CD8+ específicos al VIH en CE tienen potencial citotóxico superior ya que expresan niveles más altos de perforina y granzima. También, hay un enriquecimiento de células efectoras CD8+ específicas contra el VIH que expresan

perforina en CE y esto está influenciado por el factor de transcripción T-bet (Hersperger et al., 2011).

### **7.2.2 Células T reguladoras y Th17**

Las células Treg (definidas como células T CD4+CD25+FoxP3+) son células T antiinflamatorias capaces de regular la inflamación crónica al disminuir la activación inmune suprimiendo la activación y proliferación de linfocitos efectores. Están relacionadas a las células T CD4+Th17 porque comparten vías de maduración, pero funcionan en vías opuestas en la respuesta inflamatoria, ya que las células Th17 pueden potenciar las defensas del huésped contra agentes microbianos y se han implicado en la inmunopatología de muchas enfermedades inflamatorias crónicas y autoinmunes.

Algunos autores han reportado que los diferentes fenotipos de pacientes infectados con VIH como CE, LTNP, progresores normales, controladores virémicos y controles negativos muestran porcentajes similares de Treg en sangre periférica y tejido linfoide (Gaardbo et al., 2014), mientras que otros han encontrado que los CE tienen cantidades de Treg significativamente menores que los de pacientes infectados crónicos con viremia independientemente del tratamiento. No obstante, los 3 grupos de pacientes infectados tienen cantidades significativamente más altas que los pacientes control no infectados, tanto en distribución porcentual como en valores absolutos (Brandt et al., 2011; Falivene et al., 2015). Los niveles de Treg no parecen diferir entre pacientes con la viremia controlada, independientemente de la forma en que se logre ese control, natural o posterior al TARV (Brandt et al., 2011). En CE y LTNP se han encontrado mayores proporciones de células Treg activadas, además en estos 2 grupos las células Treg en reposo también fue más baja (Gaardbo et al., 2014).

Algunos autores han descrito un aumento progresivo en Treg en CE al comparar con los progresores rápidos, pero sin diferencia significativa con LTNP (D. Li et al., 2011; Whittall et al., 2011). La infección por VIH puede llegar a mayores Treg en sangre periférica, e incluso se ha descrito correlación directa entre los niveles de Treg y de FoxP3 y la carga viral (D. Li et al., 2011; Whittall et al., 2011). También, se encontró una correlación inversa significativa entre el número absoluto de células Treg y el número de células T CD4+ en

todos los grupos de pacientes infectados con VIH, así como una correlación positiva entre las células Treg y los linfocitos T CD4+ y T CD8+ activos y en proliferación, ya que estos últimos se encontraron significativamente en menor frecuencia en individuos con control viral que en pacientes virémicos (Brandt et al., 2011).

El impacto de Treg en la infección por VIH es controversial, hay resultados que no muestran diferencias en las células T totales en los diferentes fenotipos, pero si en sus subpoblaciones, lo que sugiere que el total puede ser de poca importancia y que el factor que influyen en la progresión o no son los porcentajes de Treg activadas (Gaardbo et al., 2014).

En CE, la cantidad de células CD161+Th17 fue mayor a la de los LTNP, progresores y controles mientras que la cantidad de células CD3+CD8+CD161high Tc17 se encuentra preservada, ya que fue similar a la de los controles negativos y más altas que la de CV, LTNP y progresores que mostraron depleción (Gaardbo et al., 2014). Además, la producción de IL-10 se encontró preservada, sugiriendo todo esto que hay mecanismos inmunoregulatorios que podrían estar activos en los CE y que influyen en la preservación de las células T CD4+ (Gaardbo et al., 2014).

Respecto a las células Th17, se ha reportado que durante la infección por VIH en los pacientes con enfermedad progresiva su frecuencia disminuye significativamente al comparar con CE e individuos sanos (Falivene et al., 2015; D. Li et al., 2011). Además, esta frecuencia de células Th17 se relacionó positivamente con los conteos de células T CD4+ e inversamente a la carga viral (D. Li et al., 2011).

Estos cambios en las células Treg y Th17 se traducen en una pérdida del balance y disminución significativa en la proporción de células Th17/Treg mientras que en los pacientes que no muestran progreso y mantenían los niveles de T CD4+ estables los cambios en Treg y Th17 no fueron significativos lo que mantuvo la proporción estable. Los cambios en esta relación Th17/Treg se relacionan positivamente con cambios en los conteos de células T CD4+ e inversamente con la carga viral, por lo que los pacientes con los niveles más altos de Th17, niveles más bajos de Treg y la relación más alta Th17/Treg se mantuvieron estables durante el seguimiento mientras que los demás grupos evidencian

un mayor avance de la enfermedad al tener pérdida progresiva de células T CD4+ que inicia más tempranamente durante el curso de la infección. También, la relación Th17/Treg alta se ha asociado con células T CD8+ específicas al VIH con capacidad superior de suprimir la replicación del VIH *in vitro* (Falivene et al., 2015). Se ha reportado que esta relación Th17/Treg puede ser hasta de 2 o 4 veces más baja en no controladores con enfermedad progresiva que en pacientes sanos (Falivene et al., 2015; D. Li et al., 2011).

La preservación de los conteos de Th17 se considera como un aspecto favorecedor para el mejor estado clínico del paciente en términos de conteos de CD4+, CV y marcadores de progresión e inmunoactivación como CD40L, por el contrario el aumento en la subpoblación de Treg se asocia con aumento en la inmunoactivación, replicación viral y menores conteos de CD4+ (Falivene et al., 2015).

Una clave para el control espontáneo del VIH es lograr mantener el balance entre las células Th17 y Treg, aspecto que se ha demostrado en los CE al tener una relación comparable con la de los individuos no infectados, lo que indica que en CE el balance de ambos tipos celulares es cercano al de pacientes sanos (Brandt et al., 2011; D. Li et al., 2011).

### ***7.2.3 Marcadores de superficie celular (inhibitorios y activadores)***

Un factor importante en la respuesta inmune a infecciones virales crónicas es el agotamiento inmune. En la infección por VIH, la replicación viral constante y exposición persistente a antígenos lleva a un fallo de la respuesta inmune celular, con células disfuncionales y consecuentemente se van perdiendo células T CD4+. Este agotamiento se caracteriza por funciones efectoras pobres y expresión de muchos receptores inhibitorios, que se ha asociado con un control deficiente de infecciones virales crónicas y cáncer, de hecho, su bloqueo ha revolucionado el tratamiento del cáncer (Noyan et al., 2018).

Se ha reportado que los patrones de expresión de receptores inhibitorios asociados con el agotamiento de células T tales como PD-1, CTLA-4 y TIGIT en diferentes poblaciones de células T CD4+ de memoria en pacientes infectados por VIH varía de acuerdo con el fenotipo de respuesta del paciente (Noyan et al., 2018). Se han encontrado diferencias muy marcadas en la proporción de células T CD4+PD1+ y diferencias menores pero

significativas en la proporción de células CD4+CTLA-4+ entre CE y progresores rápidos (Whittall et al., 2011), pacientes en tratamiento y pacientes virémicos, y expresión muy similar a los controles sanos (Noyan et al., 2018). La tasa de progresión en 4 grupos estudiados (CE, LTNP, progresores normales y progresores rápidos) está cercanamente relacionada a las funciones regulatorias de células Treg, expresión de CTLA-4 y agotamiento relacionado a PD-1 de células T (Whittall et al., 2011).

Utilizando las células T CD4+ vírgenes como referencia, ya que son las que presentan la menor expresión de moléculas inhibitorias, la frecuencia de células T CD4+ expresando individualmente PD-1+, su ligando PD-1L2 y CTLA-4+ fue significativamente más baja en CE que en sujetos virémicos y paciente progresores (Noyan et al., 2018; Whittall et al., 2011; Zhang et al., 2018), lo mismo con las células expresando TIGIT+ respecto a sujetos virémicos (Noyan et al., 2018). La coexpresión de múltiples receptores inhibitorios también fue significativamente más baja en CE respecto a virémicos y también a pacientes en tratamiento en magnitudes aún mayores, tanto las células T CD4+ expresando los 3 marcadores y células T CD4+ expresando PD-1 y CTLA-4. Por el contrario, las células negativas para los 3 marcadores fueron mayores en CE que los otros 2 grupos (Noyan et al., 2018).

Niveles más altos de T CD4+ agotadas durante la infección están parcialmente relacionados con frecuencias más altas de Treg. También, existe correlación entre células que expresan el factor de transcripción Helios y células T CD4+PD-1+CTLA-4+TIGIT+ y células T CD4+CTLA-4+ (Noyan et al., 2018).

Se ha establecido una asociación entre el aumento en la expresión de receptores inhibitorios y la activación de células T, ya que células T CD4+PD-1+CTLA-4+TIGIT+, células T CD4+CTLA-4+ y células T CD4+TIGIT+ correlacionan con activación inmune tanto en células que expresan CD38, HLA-DR o ambas (Noyan et al., 2018). También, se ha descrito correlación entre las células T CD4+PD-1+CTLA-4+TIGIT+, células T CD4+CTLA-4+ y células T CD4+TIGIT+ y la frecuencia de Treg (CD4+CD25+FoxP3+) (Noyan et al., 2018), así como una correlación inversa significativa entre moléculas inhibitorias como PD-1 y células Treg en CE (Whittall et al., 2011).

Estos patrones de receptores inhibitorios también varían entre las subpoblaciones de células T CD4+ de memoria. PD-1 y TIGIT mostraron expresión más alta que CTLA-4 en todas las subpoblaciones, siendo mayor en las efectoras de memoria y las transicionales de memoria. El patrón en las células efectoras fue muy similar. En las células de memoria transicionales de CE la expresión de PD-1 fue menor que los virémicos y CTLA-4 menor que los pacientes en TARV, mientras que en células de memoria central PD-1 fue más bajo que ambos grupos. Respecto a controles sanos, CE no mostraron diferencia significativa en lo que respecta a ninguno de los marcadores (Noyan et al., 2018).

Observaciones en CE que perdieron el estatus refuerzan estos hechos, ya que en ellos se ha reportado expresión de CD38 (marcador de activación) en niveles similares a la de LTNP previo a la pérdida del control en ausencia de replicación residual elevada que explique la mayor cantidad de células activadas. Luego de la pérdida del control, se evidencia un aumento de casi 2 veces en el porcentaje de células CD38+ y niveles más altos de HLA-DR+CD8+. También, se observó un aumento significativo en PD-1 en estos pacientes y de CD8+PD-1+ antes de perder el control y podría relacionarse con la menor actividad de inhibición viral *in vitro* que se ha relacionado con la progresión de la enfermedad, por lo que podrían representar marcadores tempranos de pérdida del control viral (Llano et al., 2019).

Algunos parámetros clínicos de la progresión de la enfermedad por VIH se han asociado al agotamiento de células T CD4+. Se ha descrito correlación inversa entre las células T CD4+ que expresan los 3 receptores inhibitorios con el conteo de células T CD4+, la relación CD4/CD8 (utilizada como predictor de disfunción de células T) y la carga viral (Noyan et al., 2018).

El patrón de expresión de CE fue significativamente diferente a pacientes en tratamiento y virémicos, pero no fue significativamente diferente ni en el patrón de expresión ni en la combinación de marcadores al de individuos sanos sugiriendo que el agotamiento en CE es equivalente al de individuos sanos, con ausencia de inmunoadactivación excesiva, lo que sugiere que los CE mantienen un estado saludable de expresión de receptores inhibitorios

en células CD4+ que puede ser importante en el mantenimiento de su estatus (Noyan et al., 2018).

Por otro lado, el ligando de CD40 (CD40L) es miembro de la superfamilia del TNF. En CE, se encontró una expresión significativamente más alta de CD40L en pacientes sin tratamiento (Zhang et al., 2018), progresores rápidos y normales (Whittall et al., 2011) a la vez que se demostró una correlación inversa significativa entre células Treg y células T CD4+CD40L+. En CE, a medida que la proporción de Treg aumenta la de T CD4+CD40L+ disminuía y la de T CD4+PD-1+ aumentaba, lo que sugiere un efecto de balance de Treg promoviendo el efecto inhibitorio de PD-1 mientras inhibe la función estimuladora de CD40L (Whittall et al., 2011).

Una disminución progresiva en la expresión entre CD40L y Treg se observó también en CE. Treg fueron correlacionados inversamente con el conteo de CD4+ en CE. CE con PD-1 también correlacionó inversamente con el conteo de CD4+. Los resultados sugieren un balance crítico en el control del VIH entre la activación de CD40L en células dendríticas, monocitos y células B, la función regulatoria de Treg y los efectos inhibitorios PD-1 y CTLA-4 CD4+ (Whittall et al., 2011).

Se han observado también niveles significativamente más bajos de CD27 y CD70 en CE. CD27 y su ligando CD27L se encontraron aumentados en progresores respecto a sanos, se ha visto que esto genera respuestas IgG defectuosas y promueve el agotamiento de células T (Zhang et al., 2018).

#### **7.2.4 Respuesta de células B**

Se ha encontrado que la frecuencia media de células B IgG+ específicas al VIH en CE es significativamente mayor a la de pacientes infectados que reciben TARV, con la subpoblación de células B de memoria siendo mayoría en ambos grupos y las intermedias de memoria fueron mayores en pacientes tratados. Al evaluar la subpoblación de células B de memoria específicas al VIH, esta fue más alta en CE tanto en valor absoluto como porcentual respecto a pacientes en TARV (Buckner et al., 2016) aunque también se ha reportado distribución de las subpoblaciones de células B en CE comparables a la de individuos no infectados (Moroni et al., 2014).

Se ha encontrado también que estas células B de CE son capaces de generar una respuesta B específica contra el VIH superior y más fuerte que la encontrada en pacientes infectados en TARV, a pesar de que estos últimos presentan mayores cantidades de células con ADN y ARN del VIH y que la replicación viral se ha asociado tradicionalmente a mejor mantenimiento de la respuesta B, lo que demuestra que la carga viral no es el único factor que determina la cantidad y respuesta de células B, aunque hay evidencia de que sí la influencia. En un seguimiento longitudinal a CE que pierden el estatus e inician TARV se observó una disminución en las células B específicas al VIH y que la respuesta B específica también disminuía a medida que la carga viral disminuía con el TARV y que si se discontinuaba el TARV, esa respuesta B tendía a subir (Buckner et al., 2016).

Esta diferencia en la respuesta de CE sí es característica de la infección viral y no resultado de una mejor competencia inmune en general, ya que se probó con otros antígenos y la respuesta fue en niveles y perfiles muy similares a los de pacientes negativos utilizados como controles (Buckner et al., 2016).

### **7.2.5 Anticuerpos**

La presencia de anticuerpos y su capacidad neutralizante en CE ha sido un tema gran discusión, ya que en diferentes estudios se han encontrado resultados discrepantes y contradictorios.

Se ha descrito un caso de CE que 2 años luego de la infección desarrolló anticuerpos neutralizantes contra el subtipo C (por el cual estaba infectado) y A, pero a los 4 años post infección mostró una débil actividad neutralizante contra varios virus diferentes (Moosa et al., 2018). En otros casos, en que los CE tenían anticuerpos detectables contra todas las proteínas virales, luego de 14 a 19 años de seguimiento los niveles fueron significativamente más bajos en CE que en LTNP virémicos a pesar de que mostraron una respuesta neutralizante baja pero persistente a un mini panel de aislamientos virales (Casado et al., 2020). También, el caso de un CE superinfectado que mostraba una respuesta de neutralización del 50% contra 4 de 6 virus recombinantes probados con diferentes subtipos y tropismos, siendo esta respuesta de neutralización mayor a la respuesta promedio encontrada en pacientes infectados. En este paciente no se encontró

diferencia significativa entre una muestra tomada cercana a la superinfección y otra analizada 3 años después (Pernas et al., 2012). Por el contrario, algunos estudios describen la ausencia de anticuerpos neutralizantes y de reactividad cruzada en CE (Moroni et al., 2014), y otros evidencian cantidades bajas en progresores y altas en no progresores, sugiriendo la necesidad de cierto nivel de viremia para mantener los anticuerpos (van Gulck et al., 2012).

También, se han evaluado anticuerpos específicos contra gp120, y p24 del VIH donde se observaron títulos muy bajos de IgM y más altos de la subclase IgG1, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas entre CE y otros grupos de pacientes infectados en ninguna de las clases (Whittall et al., 2011).

La evidencia sugiere que los anticuerpos no tienen rol determinante en el control viral ya que los CE no son fuente importante de anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, a pesar de esto, sí hay una respuesta humoral de memoria importante evidenciada por esas células B antígeno específicas (Buckner et al., 2016).

### **7.2.6 Citoquinas**

Otro aspecto que se ha estudiado ante la interrogante del control élite en la infección por VIH es el papel de las citoquinas con la búsqueda de patrones característicos en este privilegiado grupo de pacientes que pueda conferirle ventaja en su respuesta inmunológica.

Se han evaluado los niveles de gran cantidad de citoquinas, la mayoría no varió mucho entre grupos y se encontró que las concentraciones de quimiocinas en CE concuerdan con los niveles encontrados en pacientes HIV negativos (Casado et al., 2020; Platten et al., 2016). Si se compara con pacientes positivos con carga viral suprimida por TARV, las concentraciones de 4 quimiocinas son más bajas en CE: CCL4 (MIP-1 $\beta$ ), proteína 10 inducida por IFN- $\gamma$  (IP-10) y monoquina inducida por IFN- $\gamma$  (MIG), siendo la diferencia en CCL4 la más significativa. Además, CCL4 e IP-10 correlacionaron inversamente con los porcentajes de T CD4+ y disminuciones sutiles en estas células se asocian con niveles más altos de citoquinas proinflamatorias por lo que se postula que a niveles de replicación bajos la inflamación puede estar relacionada al curso de las células T CD4+. Los pacientes

progresores presentaron las concentraciones de estas citoquinas más altas que todos los demás grupos (Platten et al, 2016).

Las quimiocinas IP-10 y MIG son miembros de la familia de citoquinas inducibles por IFN- $\gamma$  que se unen al receptor CXCR3 expresado por las células Th1 y se involucran en el reclutamiento de leucocitos al tejido inflamado, lo que las ubica en el contexto de inmuno activación crónica que se asocia con la progresión de la enfermedad y que se evidencia por la elevación de citoquinas inflamatorias, por lo que los niveles bajos en CE resultan favorecedores (Platten et al, 2016).

El abordaje planteado por otros autores ha sido medir citoquinas características de los perfiles Th1 (IL-2, TNF, IFN- $\gamma$ ), Th2 (IL-4, IL-6, IL-10) y Th17 (IL-17) a pacientes CE. En ellos se encontró presencia de IL-17, IL-6, TNF  $\alpha$ , INF- $\gamma$  e IL-10 y por el contrario no se detectó IL-2 ni IL-4 (Pina et al., 2018), aunque otros estudios han encontrado IL-2 en bajas concentraciones, tanto en controladores como no controladores (Gomes et al., 2017). Esta respuesta mixta Th1-Th2 se ha observado en controladores, y en otros CE se ha descrito este perfil de citoquinas no polarizado que sugiere una modulación cruzada que puede ser importante (Pina et al., 2018).

Los niveles de IFN- $\gamma$  fueron significativamente más altos en los controladores, lo que podría ser favorable por su papel en la respuesta celular y es relevante por su habilidad de inhibir la replicación viral. Además, es inductor de citoquinas inflamatorias que reclutan más leucocitos al sitio de inflamación, por lo que puede actuar en la inflamación crónica (Gomes et al., 2017). El IFN- $\alpha$  producido por células dendríticas plasmacitoides también tiene un efecto inhibitorio en la replicación viral y un efecto adyuvante con las células inmunes como monocitos, células NK y células T, lo que genera un enlace entre inmunidad innata y adaptativa (Machmach et al., 2012).

También se ha evidenciado en CE y en pacientes con control post tratamiento regulación a la alta de genes inducibles por interferón tipo I (IFIGs), esto comparado a los controles negativos. Además, los CE también mostraron los genes ISG56/IFIT regulados al alta, estos genes están involucrados en la iniciación de la traducción e inhibición de la replicación viral (Krishnan et al., 2014a).

Los niveles más bajos de Treg, PD-1 y CTLA-4 en CE también se han asociado a concentraciones más altas de promotores de respuesta T como IL-6, CCL-3, CCL-4, CCL-5 y CD40L, que los observados en progresores normales y progresores rápidos, lo que es consistente con la carga viral más baja y la baja tasa de progresión. Se cree que las células TCD4+ CD40L en controladores, estimulan la maduración de células dendríticas al unir CD40, lo que regula al alza la producción de IL-6, citoquina que inhibe la transcripción de FoxP3 promovida por TGF- $\beta$  en Treg, mecanismo que podría ser disfuncional en progresores y que sugiere que el control del VIH puede estar más influenciado por factores inmunoestimuladores y no inmunoregulatorios (Whittall et al., 2011).

Al evaluar el potencial biológico asociado a genes expresados diferencialmente entre CE y progresores virémicos, se encontraron 37 procesos relacionados, algunos relacionados a la respuesta a citoquinas o vías de señalización mediadas por citoquinas. Al comparar SNP para esos genes en los diferentes grupos, se encontraron algunos relacionados a CCR5, CXCL10 y CXCL11 presentes en baja frecuencia en CE y ausentes en progresores virémicos (Zhang et al., 2018).

El perfil proteómico de factores solubles en plasma mostró que CCL4 (MIP-1 $\beta$ ) y CCL7 que se unen a CCR5 están presentes en niveles significativamente más altos en CE que en progresores virémicos. CCL4 funciona como un competidor para la unión del virus, mientras que CXCL9, CXCL10 y CXCL11, todos ligandos de CXCR3, se encuentran presentes, pero en niveles significativamente más bajos en CE. CXCL10 es considerado un biomarcador de inmunosupresión crónica que suprime la función de células T y células NK en pacientes infectados y se ha utilizado como indicador de progresión de enfermedad (Zhang et al., 2018).

### **7.3 Perfil de microARNs (miARN)**

Los miARNs son pequeños ARNs no codificantes de 18-25 nucleótidos que tienen importantes roles regulatorios en muchos procesos biológicos, ya que actúan a nivel celular silenciando la expresión de ARN o interfiriendo en la expresión post transcripcional (Reynoso et al., 2014; Yousefpouran et al., 2020). Se han considerado los principales reguladores de la expresión génica, algunos pueden ser encapsulados en micro vesículas y

salir de las células inmunes o de otros tejidos (Reynoso et al., 2014). Los miARNs están involucrados en las infecciones virales a través de 2 vías principales: efecto directo al interactuar con las regiones 3'UTR de ARNm viral e inhibir o promover la traducción de ellos, o efecto indirecto al regular la expresión de factores celulares necesarios para la replicación viral o el metabolismo celular (Yousefpouran et al., 2020).

Al analizar la expresión de miARNs se encontró que los CE mostraban mayor expresión de miR-22, miR-128, miR-181 y miR-223 y expresión similar de miR-29, miR-122, miR-146 y miR-155 respecto a controles sanos. miR-22 tiene efectos al inhibir la entrada del VIH al unirse al 3'UTR de ARNm de CD4 lo que inhibe su traducción, su regulación al alta en CE podría influir en el bajo título de VIH en ese grupo. miR-128 es un factor inducible de IFN tipo 1 que actúa como mediador antiviral en la infección por VIH e inhibe la replicación. miR-223 se ha implicado en latencia y control de la replicación viral, mientras que miR181 tiene roles importantes en las funciones celulares como promoción del crecimiento celular, tumorigénesis y disminución de apoptosis. Por otro lado, al miR-155 se le ha atribuido un rol en la homeostasis de la respuesta inflamatoria y el desarrollo de células T reguladoras (Yousefpouran et al., 2020). La expresión en CE fue diferente a la de otros pacientes, pero muy similar a la de sanos, estas diferencias pueden ser por involucrar miARNs en el control de la replicación viral respuesta inmune o infectividad viral (Yousefpouran et al., 2020).

También, algunos miARNs específicos en plasma se han correlacionado positiva o negativamente con los conteos de T CD4+ y el tiempo conocido de infección y la cantidad de estos miARNs podría variar según la evolución de la infección (Reynoso et al., 2014; Yousefpouran et al., 2020).

Otro estudio encontró 3 miARN expresados diferencialmente entre CE y progresores crónicos hsa-miR-29b-3p, hsa-miR-33a-5p y hsa-miR-146-5p. Hsa-miR-29b-3p y hsa-miR-33a-5p también fueron diferentes entre progresores crónicos y sanos, mientras que no se encontraron diferencias en estos entre CE e individuos sanos. También, se evaluó con pacientes infectados sin tratamiento y se encontró que hsa-miR-29b-3p y hsa-miR-33a-5p fueron significativamente más bajos en pacientes con VIH que en controles sanos. Todo

esto respalda la afirmación de que la infección por VIH afecta el perfil de miARNs en la sangre (Reynoso et al., 2014).

Estos miARNs expresados diferencialmente entre CE y crónicos tienen como blanco genes con funciones importantes en el ciclo del VIH. Hsa-miR-29b-3p actúa a nivel de Nef, que es importante en la patogenicidad del VIH; hsa-miR-33a-5p afecta JNK, que es clave en la integración del ADN viral; y hsa-miR-146-5p afecta CXCR4, receptor que interviene en la entrada del virus a la célula. Estos puntos son los que sostienen la hipótesis de defensa contra la progresión del VIH a través de mayor expresión de estos miARNs, ya que se demostró una reducción significativa en la producción viral y cantidad de p24, así como regulación a la baja del receptor CXCR4 en los modelos probados *in vitro* (Reynoso et al., 2014).

En conclusión, el perfil de miARN puede tener un rol importante en el control de la viremia y ser una herramienta valiosa para discriminar entre grupos de pacientes, ya que fue significativamente diferente en pacientes CE comparado a progresores y pueden tener similitudes a los sanos (Reynoso et al., 2014). Estos miARNs, además de servir como marcadores de riesgo de progresión, pueden ser utilizados para determinar los perfiles involucrados en la patogénesis y su manipulación podría llevar a nuevas posibilidades de control de la infección (Yousefpouran et al., 2020).

#### **7.4 Alelos HLA**

Previamente, se han señalado algunos alelos HLA como un factor de protección frente a la infección por VIH, al asociarse con lenta o no progresión de la enfermedad, entre ellos A\*25:01, A\*74:01, B\*14:02, B\*27:05, B\*42:01, B\*44:03, B\*51:0, B\*57:01, B\*57:03, B\*57:08, B\*58:01, B\*81:01, C\*06, C\*08:02 y DRB1\*13 (Moosa et al., 2018; Moroni et al., 2014; Zhang et al., 2018), sin embargo, su rol es controversial.

Un estudio mostró que el 63% de los CE que analizaron poseían al menos 1 alelo que se ha identificado previamente como protector (A\*25:01, A\*74:01, B\*14:02, B\*27:05, B\*42:01, B\*51:01, B\*57:01, B\*57:03, B\*58:01, B\*81:01) y 21% tenían 2 alelos protectores. Sin embargo, algunos CE también tenían alelos identificados como de susceptibilidad a la enfermedad (Zhang et al., 2018). En otros estudios, ninguno de los alelos HLA asociados a

la no progresión de la enfermedad presentó una distribución sesgada entre los grupos (van Gulck et al., 2012; Whittall et al., 2011).

También, se han descrito SNP en la región rs9264608 del HLA-C, rs9264942 (C/T) y rs67384697 (G/delección) con un efecto protector asociado a el control de la viremia por VIH (Moroni et al., 2014). En un estudio, se encontraron de estos polimorfismos en el 21% de CE y en el 12% de progresores. No se encontraron polimorfismos en los genes relacionados al SIDA (ARGs), CCR5-delta32, CCR5 59029G y SDF1-3A. Sin embargo, en 3 CE se encontraron SNP en regiones de proteínas no codificantes HCP r2395029 (Zhang et al., 2018).

Un grupo de 3 CE extraordinarios que han contenido la infección por más de 25 años mostraron 3 o 4 haplotipos protectores, incluyendo HLA-B\*57:01, HLA-B\*58:01, HLA-B\*27:05, y HLA-B\*14:02, además los 3 mostraron la mutación T>C en el polimorfismo 9264942 del HLA-C (Casado et al., 2020).

También, se ha descrito el caso de un paciente con superinfección por VIH que logró controlar los 2 virus diferentes que los infectaron y que no tenía ninguno de los alelos señalados como protectores para HLA I, pero presentaba los alelos de HLA II DRB1\*13 y DQB1\*16. Estos alelos de HLA II se han asociado más recientemente con progresión lenta y se cree que su efecto beneficioso incluye la inducción de respuesta T CD4+ potente, que puede mantener actividades efectivas en linfocitos T citotóxicos. También, se ha observado una respuesta Gag que contiene un epítipo T colaborador restringido al HLA-DR1\*13. Esas respuestas T CD4+ restringidas a un HLA podrían generar efectos citolíticos directos en células infectadas (Pernas et al., 2012).

Otros estudios no han encontrado diferencia significativa en la frecuencia de subtipos de algunos HLA como B27 y B57 en CE respecto a controladores virémicos (Platten et al., 2016) y se ha descrito también que pacientes con alelos protectores como HLA clase I B57 y B58 posteriormente pierden el control de la enfermedad. Sin embargo, no se ha encontrado asociación de un HLA específico con esta pérdida de control (Llano et al., 2019).

Toda esta evidencia sugiere que estos marcadores solo son un factor influyente más para el fenotipo controlador, no así factores determinantes, ya que a pesar de que están presentes en un porcentaje considerable de CE, están ausentes en una proporción similar en estos pacientes (Pernas et al., 2012).

## 8. Capítulo 2

### Aspectos virales

Aunque previamente se describieron muchos factores inmunes, en algunos casos el fenotipo de CE también puede verse influenciado o determinado por factores asociados al virus. Algunos de esos factores son el tamaño y sitio de integración del reservorio, tasa de replicación y de evolución viral, tropismo viral, estado de metilación del ADN proviral o la infección con virus defectuosos o deletéreos, entre otros. A continuación, se describen las principales observaciones relacionadas.

#### 8.1 Reservorio viral

Un factor que se ha señalado en los CE es el menor tamaño de su reservorio viral.

En el caso de 3 CEE, se cuantificó el ADN viral en células T CD4+ infectadas, ya que representan una fracción importante del reservorio viral en sangre periférica y se logró encontrar cantidades detectables, pero extremadamente bajas de copias de ADN viral. Este reservorio llega a ser hasta 50 veces más pequeño que en individuos infectados que reciben TARV (Casado et al., 2020). Otros estudios con mayor cantidad de CE han llegado a la misma conclusión de menor tamaño de reservorio de VIH en diferentes subpoblaciones de células T CD4+, importantes contribuyentes al tamaño del reservorio tales como células T de memoria en reposo (T<sub>rm</sub>), células T colaboradoras foliculares periféricas y células T colaboradoras foliculares no periféricas, respecto a pacientes con viremia suprimida por TARV y pacientes progresores sin tratamiento (García et al., 2017). Lo mismo en células de la mucosa intestinal y en CMSP, donde se detecta ADN viral asociado, pero en niveles muy bajos (Moroni et al., 2014).

El análisis de más de 185 genomas provirales de 64 CE y 2388 de pacientes en TARV demostró que el número medio de productos de amplificación provirales ya sea intacto o defectuoso por persona fue significativamente más bajo en CE al comparar con los pacientes en tratamiento. La frecuencia de secuencias provirales completas o cerca de ser

completas con genomas intactos que no contenían defectos en la secuencia considerados letales también fueron marcadamente reducidas en CE (Jiang et al., 2020).

En los pacientes con tratamiento, el reservorio de ADN proviral es lo suficientemente grande como para ser detectado, esto porque el tratamiento solo previene la infección de nuevas células, pero no la transcripción y producción viral en las células ya infectadas. En el control natural lo que ocurre es que, a través de mecanismos inmunes, el huésped elimina las células expresando antígenos virales, razón por lo que el tamaño del reservorio llega a ser más bajo. En este estudio, se pudo recuperar y replicar virus de pacientes sin tratamiento virémicos, no controladores y pacientes en tratamiento, pero con varios intentos en CE solo se pudo cultivar virus de un paciente CE que tenía niveles detectables de ARNsplice (ARNus), utilizado como marcador de las células en las que hay transcripción de ARN viral activa y fue un paciente que posteriormente perdió el control viral y el estado de CE (van Gulck et al., 2012).

La diferencia más grande observada entre pacientes CE y pacientes infectados con replicación suprimida por TARV fue en el subgrupo de células T colaboradoras periféricas foliculares, población celular con rol fundamental en la respuesta inmune antiviral, lo que sugiere una posible relación entre niveles bajos de infección en estas células y la habilidad de pacientes CE de controlar la replicación del VIH espontáneamente (García et al., 2017).

Un factor adicional es la estabilidad de esos reservorios, aspecto ligado a la falta de evolución viral, y que se ha evidenciado al obtener cantidades similares de copias de ADN viral en muestras de pacientes CEE que se han obtenido hasta con 13 años de diferencia entre ellas (Casado et al., 2020).

Las células Trm permiten el establecimiento de un reservorio latente y de larga duración del virus, ya que estas células tienen un fenotipo de memoria y una baja expresión de marcadores de activación permitiendo el establecimiento de reservorios latentes extremadamente estables con una vida media promedio de 44 meses (García et al., 2017). Datos de microarray revelan que podría haber mecanismos moleculares en estas células que estén involucrados en la reducción del reservorio en los pacientes CE (García et al., 2020).

Contrario a las células Trm, las células T colaboradoras foliculares apoyan la persistencia de la infección, replicación y producción de VIH (García et al., 2017).

También, la composición del reservorio puede influir en el fenotipo de CE, ya que se ha observado que en estos pacientes los reservorios provirales con frecuencia están compuestos por poblaciones oligoclonales cercanas a monoclonales de secuencias provirales intactas lo que está asociado a los pocos niveles de replicación y evolución viral (Jiang et al., 2020).

No se ha descrito correlación entre el tamaño del reservorio y años sin tratamiento, duración de la infección antes del diagnóstico o esquema de tratamiento utilizado (García et al., 2020); sin embargo, las observaciones en conjunto sugieren que los CEE tienen niveles muy limitados de persistencia viral en sangre, reservorio de ADN extremadamente bajo en células T CD4+ periféricas e incapacidad de generar ARNm viral y partículas o viriones competentes (Casado et al., 2020).

Se cree que eventos durante la infección primaria por VIH pueden determinar los niveles bajos de replicación viral subsecuentes ya que la contención inicial mediada por el huésped podría reducir el reservorio (Pina et al., 2018).

### ***8.1.1 Sitio de integración del reservorio***

Un factor adicional es el hecho de que las secuencias provirales de CE logren mantener el estado de latencia profunda y duradera posiblemente facilitado por la integración en regiones genómicas que no son permisivas para la transcripción viral activa (Jiang et al., 2020).

Se analizaron estos sitios de integración y se encontró que una proporción significativamente grande de las secuencias provirales intactas de CE se localizaban en regiones no génicas o pseudogénicas. Algunas de estas regiones estaban posicionadas en, o rodeadas de ADN microsatélite o centromérico satélite, regiones no codificantes que consisten en desiertos génicos densos en heterocromatina que son desfavorables para la integración viral y que se han asociado con latencia profunda. También, sitios de integración localizados en intrones mostraron menor actividad transcripcional y se encontró

que las secuencias integradas en ADN satélite o genes de ZNF (dedos de zinc) representan más del 45% (Jiang et al., 2020).

Otra característica fue la mayor distancia cromosómica presente entre los sitios de integración de los genomas virales y los sitios de inicio de transcripción del huésped más próximos en los CE. Estos sitios se encontraron a distancias significativamente aumentadas de la cromatina accesible, comparada con los pacientes tratados (Jiang et al., 2020).

También, se ha descrito en CE expresión diferencial de modificaciones de cromatina activadoras o inhibidoras como mayor o menor enriquecimiento de histonas represivas o activadoras de cromatina, respectivamente, o mayor frecuencia de residuos de citosina hipermetilados. Esta hipermetilación en el ADN genómico puede facilitar la latencia profunda a largo plazo de las secuencias provirales intactas y además brindar protección contra el ataque de células inmunes (Jiang et al., 2020).

El número de sitios de integración asociados también fue menor en CE comparado con pacientes tratados (Jiang et al., 2020).

Todos estos datos sugieren un mecanismo de control viral “block and lock” definido por silencio en la expresión de genes provirales a través de la integración en localizaciones represivas, esto puede ser resultado de fuerzas de selección mediadas por células inmunes que potencialmente eliminan las secuencias más permisivas a la transcripción viral haciendo que las secuencias provirales menos activas con características de latencia profunda y menor vulnerabilidad a reconocimiento inmune sean las que persistan con el tiempo (Jiang et al., 2020).

## **8.2 Evolución viral**

Otro aspecto que se ha señalado como factor posiblemente influyente en el fenotipo de CE es la poca evolución viral en estos pacientes. Los virus de algunos CE muestran muy poca variabilidad genética en cada uno y esto se evidencia por lo corto de los brazos en el árbol filogenético, lo que sugiere un control fuerte de la replicación viral aún luego de muchos años de infección. Se ha descrito casi ausencia total de diversidad y evolución viral durante al menos 15 años, probablemente debido a reservorios con la capacidad de replicación

afectada (Casado et al., 2020; Casado et al., 2018). El grado de heterogeneidad fue hasta 8 veces menor en CE cuando se comparó con otros grupos de infectados que controlan la viremia. La diversidad de las quasiespecies también mostró una variabilidad genética restringida, con un estimado de solo 0.010 sustituciones por nucleótido en los años de seguimiento (Casado et al., 2020).

La diversidad y la evolución viral están estrechamente ligadas a la replicación viral. En un estudio retrospectivo, se analizó la evolución de los virus de 3 pacientes CEE durante los últimos 15 años y se logró recuperar 86, 94 y 2 secuencias *env*, respectivamente. Estas secuencias *env* recuperadas mostraban evolución genética prácticamente nula, baja complejidad y datos ancestrales, respaldando la baja replicación viral durante décadas. (Casado et al., 2020).

De todas esas secuencias recuperadas solo 2 correspondían a secuencias hipermutadas, número muy inferior comparado a lo que se suele obtener de individuos en tratamiento, lo que evidencia el poco nivel de replicación existente en estos CEE. Esto además es reforzado con la evidencia de que 2 secuencias aisladas de un mismo CEE con 13 años de diferencia entre sí solo presentaron variación de 2 nucleótidos en todo el genoma. Esta falta de heterogeneidad evidencia la lenta evolución viral y la expansión clonal de las células inmunes infectadas, todo sugerido por los “clusters” idénticos en los estudios filogenéticos (Casado et al., 2020).

En otro estudio se evaluó el ADN viral asociado a CMSP de un CE en 3 mediciones. Las primeras 2 mediciones tenían 6 meses de diferencia entre ellas y luego una tercera medición después de 1.5 años, obteniendo por cada 106 células 28 copias, menos de 13 y 10 copias, respectivamente. En esas mediciones también se lograron recuperar 6, 9 y 8 secuencias *gag*, todas las secuencias obtenidas con 6 meses de diferencia y 5 de las 8 obtenidas luego de 1.5 años fueron idénticas. También, se obtuvieron 4, 10 y 6 secuencias *env*, todas las obtenidas en la primera medición fueron idénticas, las 10 de la segunda medición codificaban por proteínas idénticas y diferían con la población de la primera toma en solo 1 aminoácido y 3 de las 6 recuperadas luego de 1.5 años eran idénticas a las recuperadas en la segunda toma.

Todo esto demuestra una homogeneidad excepcional en el ADN asociado a células mononucleares periféricas (Moroni et al., 2014).

El caso de un paciente superinfectado que logró contener los 2 virus diferentes que contrajo, también ejemplifica la influencia de la poca evolución viral. Se encontró muy poca heterogeneidad en las quasiespecies para el primer virus con más de 20 años de infección y de igual forma para el segundo virus luego de más de 13 años de infección, lo que denota la limitada evolución viral en este paciente (Pernas et al., 2012).

La falta de evolución viral también se evidencia en la composición de los reservorios provirales de los CE que frecuentemente consisten en poblaciones oligoclonales o incluso cerca de monoclonales consistiendo en pocos genomas distintos con niveles, muy bajos o casi nulos de replicación viral y que la propagación es más que todo por mitosis celular. Esto se determinó al analizar filogenéticamente secuencias de 50 CE, donde se encontraron grandes clusters de secuencias completamente idénticas en todos los genomas, en algunos casos se recolectaron muestras con 10 años de diferencia y los clusters fueron idénticos, denotando que se originan de células que se expanden clonalmente y que se pasan copias idénticas del genoma viral durante su división. La diversidad intraindividual de las secuencias provirales fue más baja en CE (Jiang et al., 2020).

Esta baja diversidad y falta de evolución viral ha sido altamente correlacionada con el control viral permanente en CE persistentes. Por el contrario, en CE que luego pierden el estatus se han encontrado niveles más altos de diversidad viral (Casado et al., 2020).

### **8.3 Replicación viral**

El reservorio viral pequeño y la poca diversidad están asociados también a la baja replicación viral y competencia del virus para replicarse. En el curso de la infección se van acumulando mutaciones deletéreas de manera irreversible ocasionando el “trinquete de Muller” lo que hace cada vez más difícil que el virus recupere sus capacidades (Casado et al., 2020).

Estos aspectos virales junto a la persistencia de respuestas T CD8 sugieren la persistencia de niveles extremadamente bajos de replicación viral en los pacientes CE (Moroni et al.,

2014) e incluso en algunos casos que no muestren ningún nivel de replicación viral (Gomes et al., 2017). En un ensayo ultrasensible para detectar viremia, la cuantificación de ARN viral asociada a células mostró ausencia de transcripción viral en células T CD4+ periféricas en más de 1 millón de células probadas (Casado et al., 2020).

Como la cuantificación de ADN viral realizada en células T CD4+ de 3 CEE no permite discriminar entre virus defectuosos y virus competentes para la replicación, se cuantificó la frecuencia de IUPM (unidades infecciosas por millón) en un ensayo *in vitro* de cultivo y cuantificación viral. En ese ensayo no se logró detectar ningún virus competente para la replicación en 28-63 millones de células de cada individuo, obteniendo valores de IUPM menores a 0.025 (Casado et al., 2020).

También, los niveles de ARNsplice, que permite presumir que se está llevando a cabo producción de partículas virales en una célula, por lo que se relaciona a infección productiva, fue detectable en solo un CE, mismo paciente que un año después perdió el estatus de CE (van Gulck et al., 2012).

En un estudio con virus quiméricos derivados de un paciente CE superinfectado, los virus resultaron funcionales en los modelos celulares utilizados ya que se lograban replicar en unas células a pesar de que otros solo lo lograron en algunas, pero en todos los casos se encontraron en bajos títulos. En ninguno de los virus se encontró defectos en el gen *env* que se pudiera asociar con poca capacidad de replicación, aunque si se encontraron muchas mutaciones inusuales que se han podido asociar a progresión lenta o no progresión de la enfermedad (Pernas et al., 2012).

Se evaluó la capacidad de replicación y ninguno de los virus mostró replicación luego de 17 días en cultivo celular, lo que muestra que los virus derivados del paciente eran funcionales, pero se replicaban pobremente (Pernas et al., 2012). El virus de este paciente CE con superinfección no era defectuoso, era deletéreo, lo cual es diferente porque los virus defectuosos no son capaces de replicarse, en cambio los virus deletéreos son capaces de replicarse, aunque muy pobremente (Pernas et al., 2012).

La ausencia o pobre replicación viral está estrechamente asociada al reservorio viral y a la evolución genética prácticamente nula, y se ha sugerido que durante la infección primaria pueden darse eventos que determinen los niveles bajos de replicación viral subsecuentes, ya que las presiones de la respuesta inmune pueden eliminar los virus con mayor capacidad de replicación, seleccionando los que se replican pobremente (Pina et al., 2018).

#### **8.4 Metilación en ADN proviral**

Muchos factores están incluidos en el control de la replicación viral en la infección por VIH y se ha planteado que las modificaciones epigenéticas a nivel de promotores podrían ser uno de ellos. Estas modificaciones podrían influir en el silencio epigenético de la transcripción del VIH (diferentes niveles de regulación de cromatina, remodelamiento del cromosoma, metilación del ADN) o podrían actuar como mecanismos de restricción viral (Palacios et al., 2012).

En un estudio, se comparó el estado de metilación del promotor del VIH en grupos de pacientes infectados con diferentes fenotipos. Las porciones 5LTR de VIH en todos los pacientes progresores mostraron metilación baja o ausente comparada con los CE en los que el porcentaje de metilación de CpGs en el promotor de VIH fue más alto, sugiriendo cierto silenciamiento de LTR VIH en los CE/LTNP. La mayoría de los sitios metilados fueron dentro de los sitios de unión de Sp1 y el segundo en las islas CpG, lo que podría reducir la activación por Sp1 o impedir la transcripción por reclutamiento de la proteína 2 con dominio de unión a metil-CpG. (Palacios et al., 2012).

La estabilidad de la expresión genética que puede contribuir al control viral de esos pacientes correlaciona más cercanamente con la densidad de metilación del ADN y no con un estado de ausencia o presencia de metilación, ya que al cuantificar la metilación global del ADN no se encontró diferencia, el efecto parece ser más por metilación local en LTR del VIH (Palacios et al., 2012).

También, se encontró una correlación positiva entre la metilación del ADN y el tiempo de infección, lo que sugiere que la metilación del ADN se acumula durante largos periodos de tiempo de evolución de la infección, esto podría contribuir a que se disminuyan los eventos de reactivación viral e influir en el retraso o no progresión de la enfermedad. La activación

de la expresión viral de células latentes infectadas se ha relacionado con la pérdida de metilación del LTR de ADN viral. La metilación del ADN parece ser un evento tardío que potencia el silencio de virus que se encontraban latentes, más que contribuir a la entrada en latencia (Palacios et al., 2012).

### **8.5 Tropismo viral**

Un factor que podría influir en el estatus de CE es el tropismo del virus hacia el receptor. Aunque no es así en todos los casos, en algunos estudios todos los virus recuperados de pacientes CE o su mayoría han mostrado tropismo R5 (Casado et al., 2018) y se ha planteado que un cambio del tropismo viral de R5 a X4 podría llevar a la pérdida de control. Esto se evidenció en un estudio con CE que perdieron el control, se analizaron muestras previas a la pérdida y en todos los casos se detectó población viral con tropismo a CCR5. En cambio, en las muestras posteriores a la pérdida de control, en una tercera parte de los pacientes con tropismo previo CCR5 se detectaron poblaciones virales con tropismo CXCR4 (Llano et al., 2019).

Este cambio de tropismo viral puede preceder la disminución en los conteos de CD4+ y la progresión de la enfermedad, esto porque el cambio de R5 a X4 podría generar una mutante que logre escapar efectivamente de la inmunidad de células T que está enfocada principalmente en los epítomos presentados con las células T infectadas y no por macrófagos (Llano et al., 2019).

El tropismo viral también se ha asociado con diferencias específicas del tipo de célula como diferencias en el procesamiento de antígenos y diferencias en la presentación de epítomos en células T o en macrófagos y células dendríticas infectadas (Llano et al., 2019).

### **8.6 Virus defectuosos**

Diversos estudios han evidenciado el predominio de virus defectuosos en pacientes con el fenotipo de CE. Estos genomas defectuosos podrían generar proteínas o antígenos virales truncados o afectar la capacidad de replicación de virus, facilitando el control de la infección.

Hay un reporte en el que solo encontraron una secuencia con el genoma intacto y 21 secuencias de provirus defectuosos en 1.02 billones de células de un paciente, mientras que en otro caso no lograron detectar ni una sola secuencia proviral intacta y solo 19 defectuosas, algunas de las cuales era secuencias casi completas, pero con hipermutaciones letales. No se logró recuperar ni una sola especie viral competente para replicarse de ambas muestras. Además de CMSP, tampoco se logró recuperar virus de células de recto e íleon (Jiang et al., 2020).

Luego del análisis de más de 185 genomas provirales de 64 CE y 2388 de pacientes en TARV, se demostró que el número medio de productos de amplificación provirales defectuosos por persona fue significativamente más bajo en CE comparado a los pacientes en tratamiento (Jiang et al., 2020).

En otro estudio con 3 CEE, luego de más de 337 intentos de amplificación con millones de células realizados con el objetivo de encontrar genomas virales completos de ADN proviral, el único genoma completo encontrado estaba mutado, lo que le generaba una capacidad de replicación muy limitada. Se recuperaron otras 10 secuencias que mostraban deleciones importantes principalmente en los genes de *pol* y *env*, lo que evidencia que la mayoría de los virus en estos individuos son defectuosos (Casado et al., 2020).

En un estudio previo se generaron virus recombinantes a partir de clones *env* de un CCE y estos pseudovirus mostraron muy poca capacidad de unión a CD4, transferencia y fusión (Casado et al., 2020).

Otro caso muy ilustrativo de la infección con virus defectuosos es el de un paciente CE en el que 30 de 47 clones provirales recuperados poseían una deleción de 38 pares de bases en *nef* que resultaba en la deleción de 13 aminoácidos, generando un codón de terminación prematuro, los otros 17 poseían una mutación compensatoria que restauraba el marco de lectura. Con el tiempo, la evolución de este virus llevó a que los clones con la mutación compensatoria fueran mayoría y el paciente empezara a mostrar niveles bajos de viremia (Salgado et al., 2014).

En algunos casos, los CE sí poseen las proteínas Nef, Gag, Pol y Env íntegras, pero estas son menos eficientes en sus funciones que las presentes en pacientes progresores.

#### **8.6.1 Funciones de Env atenuadas**

Se ha reportado que la proteína Env induce reorganización de la tubulina y actina del citoesqueleto cortical, lo que funciona como señales promotoras de la infección por VIH. Por esto, funciones deficientes de esta proteína pueden ser las responsables de infección ineficiente y no progresión viral que determinen el fenotipo de CE.

En una caracterización funcional de secuencias *env* completas se encontró que los virus de CE infectaban pobremente las células y no eran capaces de promover los pasos tempranos de la infección viral, esto comparado a controles sanos y pacientes progresores crónicos. Se evaluó la expresión de Env en la superficie celular y no difería estadísticamente, por lo que la ineficacia del virus no se pudo atribuir a diferencias en su expresión. En ensayos subsiguientes se evaluó la interacción Env-CD4 y se encontró diferencia significativa en la habilidad de transferir partículas virales a células T CD4+, siendo menor en CE, lo que sugiere que estos virus tienen afectada su capacidad de unión a las moléculas CD4 expresadas en las células. También se evidenció menor capacidad de fusión en virus de CE comparado a los otros pacientes. Se observó una correlación significativa entre los datos de transferencia del VIH y esta capacidad de unión y de fusión, lo que enlaza estos defectos con la baja afinidad al CD4. También, se estudió la habilidad de desencadenar las vías de señalización y consistente con los hallazgos previos, las secuencias *env* de CE promovieron la acetilación de  $\alpha$ -tubulina en menor cantidad que las de controles y se ha demostrado que la infección por VIH eficiente se logra solo cuando las señales desencadenadas por Env son lo suficientemente fuertes para inducir la formación de pseudópodos a través de la reorganización del citoesqueleto de actina en al menos un 20-30% de las células y los CE lo lograron solo en un 14-16% siendo una diferencia significativa (Casado et al., 2018).

El análisis de todos estos resultados confirma que los Env de los CE utilizados en el estudio tienen funciones debilitadas que resultan en una infección limitada.

#### **8.6.2 Funciones de Nef atenuadas**

Nef es una proteína viral accesoria que se ha asociado al mantenimiento de altas cargas virales y progresión de la enfermedad por VIH, esto porque tiene una variedad de funciones que ayudan a modular la patogénesis; por ejemplo, regula a la baja la expresión de CD4 y el HLA-I, regula al alta la cadena invariante de HLA II, aumenta la infectividad del virión y estimula la replicación viral en CMSP. Todas esas actividades juntas facilitan la evasión inmune y promueven la diseminación viral (Mwimanzi et al., 2013).

Se han analizado las secuencias de *nef* en CE y los virus que albergaron esas secuencias mostraron capacidades de infección y de replicación significativamente más baja que las mostradas por secuencias de *nef* derivadas de progresores crónicos (Mwimanzi et al., 2013). Todos los clones de *nef* pertenecientes a CE mostraron también mayores habilidades de modular receptores de superficie celular, de regular a la baja el HLA I y el CD4 que los controles negativos; sin embargo, esta habilidad fue significativamente más baja que los virus de progresores crónicos (Mwimanzi et al., 2013).

Al evaluar polimorfismos asociados al HLA y estas funciones de Nef, se observaron asociaciones significativas a lo largo de los CE que expresan HLA-B\*57, considerado protector y la replicación mediada por Nef, regulación a la baja del HLA I y regulación a la alta de CD74 (Mwimanzi et al., 2013). Es decir, los clones *nef* de CE fueron funcionales para sus actividades más características, sin embargo, esas funciones fueron significativamente más bajas al ser comparadas a los progresores crónicos, lo que podría influir en la no progresión de la enfermedad en CE (Mwimanzi et al., 2013).

## 9. Capítulo 3

### Potencial terapéutico

Esta sección recapitula algunas de las ideas planteadas en la literatura como alternativas posibles para desarrollar o potenciar estrategias terapéuticas, algunas más sustentadas y avanzadas que otras, pero que no dejan de ser ideas con potencial de desarrollo.

#### 9.1 “Hipótesis de conversión” de células T

Como se mencionó en el capítulo 1, se ha evidenciado que los pacientes que durante la infección por VIH logran mantener niveles más altos de Th17, niveles más bajos de Treg y la relación más alta Th17/Treg logran mantenerse estables durante el seguimiento, mientras que los grupos que pierden el balance y muestran relaciones Th17/Treg más bajas evidencian mayor avance de la enfermedad con mayor y más temprana pérdida de células T CD4+. Por esta razón se ha considerado el lograr mantener el balance entre las células Th17 y Treg como un factor favorecedor para el control del VIH.

En este contexto, se ha planteado la posibilidad de manipular las funciones de estas células Th17 y Treg con la premisa de que puede ser beneficioso controlar la diversidad de Treg y Th17 así como su balance a modo de estrategia para controlar la replicación viral y su diseminación (D. Li et al., 2011). La “hipótesis de conversión” busca contener el VIH convirtiendo las marcas inmunológicas de progresores a las encontradas en CE, con el objetivo de establecer una homeostasis funcional reestructurando la respuesta inmune sin causar efectos adversos, se buscaron agentes que lograran reducir la proporción aumentada de células Treg (CD4+ CD25+ FoxP3+) y bajas respuestas inmunes a niveles más bajos de Treg y respuestas inmunes aumentadas como se observa en CE (Whittall et al., 2011).

La hipótesis se probó *in vitro* con 7 candidatos como agentes de conversión, CD40L que activa monocitos, macrófagos y células B, IL-4, CD40L combinado con IL-4, anticuerpos anti-PD1 que se unen a PD-1 y bloquean funciones inmunoreguladoras, IL-6 que suprime FoxP3 a través de TGF- $\beta$  en células T vírgenes, HSP70 y arsenito de sodio que es un

agente de estrés oxidativo que induce la expresión de CD40L, proliferación de células T CD4+ y citoquinas Th1 potenciando las respuestas inmunes (Whittall et al., 2011).

Al tratar CMSP de pacientes progresores con todos los agentes se logró disminuir la cantidad de Treg, con CD40L e IL-4 solos el cambio no fue estadísticamente significativos, combinados sí. Para demostrar el efecto reverso, se evaluó la expresión de CD40L en células T CD4+ y todos los agentes probados mostraron aumento en su expresión, pero ese aumento solo fue estadísticamente significativo con CD40L combinado con IL-4 y con el arsenito de sodio (Whittall et al., 2011).

En estudios paralelos con pacientes no progresores se obtuvieron resultados similares a los de pacientes progresores, con la diferencia de que el nivel basal de Treg era menor en no progresores. También se evaluaron en LTNP con niveles aumentados de Treg y se logró inhibición significativa con CD40L combinado con IL-4 y anti-PD-1, pero no con IL-6. En CE no se observó efecto, ya que ellos expresaban niveles bajos de Treg (Whittall et al., 2011).

En conclusión, el tratamiento *in vitro* con CD40L combinado con IL-4 o los anticuerpos anti PD-1 fueron los más efectivos en convertir las características inmunes de progresores a las observadas en controladores ya que el CD40L e IL-4 juntos lograron disminuir las células Treg y aumentar CD40L significativamente, mientras que los anti PD-1 disminuyeron Treg pero fueron menos efectivos aumentando CD40L, sin embargo esto requiere ser confirmado *in vivo* para poder ser considerado como una estrategia terapéutica nueva para el control inmune de la infección por VIH (Whittall et al., 2011).

## **9.2 Modulación T-bet**

En los pacientes CE se ha descrito mayor potencial citotóxico de las células T CD8+ y este aumento se ha asociado a la expresión de T-bet que es un factor de transcripción de la familia de T-box. Se ha demostrado que es importante para la diferenciación efectora de las células T CD8+ y son éstas las células con mayor capacidad de suprimir la replicación del VIH que se lleva a cabo en los linfocitos T CD4+ (Hersperger et al., 2011).

Se han correlacionado los niveles de T-bet con linfocitos T CD8+ con potencial citotóxico superior, ya que T-bet se puede unir a las regiones promotoras de perforina y granzima B e inducir una mayor expresión de ambas moléculas, importantes en la respuesta específica a Gag y Nef. (B042). Bajo esta premisa, y con la evidencia de que T-bet puede influenciar el estado efector de las células T CD8+ se propone T-bet como un blanco atractivo para la modulación inmune como una alternativa terapéutica para promover las funciones efectoras de las células CD8+ y mejorar la inmunidad específica contra el VIH (Hersperger et al., 2011).

### **9.3 Activación selectiva de células Treg**

Aunque algunos autores han reportado porcentajes similares de Treg en pacientes con diferentes fenotipos de la enfermedad por VIH y otros han reportado cantidades de Treg menores en CE respecto a otros pacientes, se ha encontrado que los CE tienen mayores proporciones de células Treg activadas y menor cantidad de Treg en reposo (Gaardbo et al., 2014).

Esto junto a otras evidencias de citoquinas sugieren que hay mecanismos inmunoregulatorios activos en los CE y que pueden influir en la preservación de las células T CD4+. También, se sugiere que la cantidad de Treg no es tan importante como el estado de activación, por lo que se ha planteado como una idea terapéutica para desarrollar, el promover la activación selectiva de las células Treg que se encuentran en reposo, como una forma de favorecer el manejo inmune de la infección, sin embargo, en este caso es evidente que se requieren más estudios (Gaardbo et al., 2014).

### **9.4 Inhibición de puntos de control**

Como se mencionó previamente, en la infección por VIH, así como en otras infecciones virales crónicas, el agotamiento inmune es un factor determinante en la respuesta inmunológica. La replicación viral constante y la exposición persistente a los antígenos lleva a fallo en la respuesta con células que van perdiendo su funcionalidad. Este estado de agotamiento es caracterizado por expresión de receptores inhibitorios (Noyan et al., 2018).

Se ha descrito asociación inversa entre el aumento en la expresión de receptores inhibitorios y la activación de células T y que los patrones de expresión de receptores

inhibitorios que se asocian con el agotamiento (PD-1 y CTLA-4) varían de acuerdo con el fenotipo de respuesta del paciente con diferencias marcadas en la proporción de células T CD4+PD-1+ y T CD4+CTLA-4+ entre progresores rápidos y CE (Noyan et al., 2018). Comparativamente, los CE poseen menor expresión de PD-1 (Zhang et al., 2018), CTLA-4 y menor coexpresión de ambos receptores, así como mayor cantidad de células negativas para la expresión de receptores inhibitorios, lo que ha llevado a sugerir que los CE mantienen un estado saludable de expresión de receptores inhibitorios que puede ser importante para el mantenimiento de su estatus (Whittall et al., 2011). Esta afirmación ha sido respaldada por el hecho de que CE que pierden el estatus muestran expresión aumentada de PD-1, e incluso se ha propuesto como predictor de control (Llano et al., 2019).

Estas observaciones han llevado a plantear la posibilidad de utilizar anticuerpos monoclonales terapéuticos que logren bloquear estos puntos de control inmunológico (anti-PD-1 y anti-CTLA-4) como una alternativa para evitar el agotamiento y fortalecer la respuesta inmune antiviral, de la misma forma en que se han utilizado para fortalecer la respuesta inmune antitumoral en los casos de cáncer en los que han demostrado utilidad (Zhang et al., 2018). De hecho, ya se ha realizado al menos un ensayo clínico que evalúa la efectividad de estos anticuerpos como tratamiento contra el VIH (Gay et al., 2017).

Además, estudios recientes han demostrado que bloqueando específicamente los receptores inhibitorios también se logra obtener patrones de citoquinas en células T CD4+ que podrían colaborar a restaurar propiedades funcionales de estas células y potenciar también la respuesta inmune antiviral. Ya se ha demostrado *in vitro*, la posibilidad de que anticuerpos anti-PD-1 permitan convertir signos inmunes de pacientes progresores en los patrones observados en controladores (Whittall et al., 2011). Estos anticuerpos podrían utilizarse también como un abordaje complementario a otras terapias inmunobasadas.

## **9.5 Muerte celular**

Como se mencionó en el capítulo 1, se ha evidenciado que las vías de muerte celular como la apoptosis inducida por TRAIL y la vía de Fas, que ocurren en células T infectadas con el virus y que pueden contribuir de forma importante a la disminución de células T CD4+ que

se observa en los pacientes infectados con VIH, se encuentra en niveles disminuidos en CE respecto a pacientes progresores. Esto sugiere la posibilidad de que en los CE el virus no induzca estas vías de señalización o que los linfocitos son menos sensibles a ellas y que esto actúe como un factor protector de la disminución de los conteos de CD4+ y consecuente progresión de la enfermedad (Zhang et al., 2018).

Basado en esas observaciones, se ha considerado la posibilidad terapéutica de regular a la baja la señalización mediada por Fas y/o TRAIL mediante anticuerpos con especificidad anti-FasL y/o anti-TRAIL que logren bloquear estas vías de inducción de muerte celular con el fin de preservar el número de células inmunes funcionales que colaboren en la respuesta inmune antiviral y también evitar la progresión de la enfermedad (Zhang et al., 2018).

#### **9.6 Promoción de la autofagia**

El sistema inmune utiliza el proceso de autofagia para eliminar patógenos intracelulares, entre ellos las partículas virales, el VIH tienen la capacidad de modular este mecanismo a través de su proteína Vif para maximizar la producción viral en fase temprana y prevenir la degradación del VIH en fases más avanzadas.

La observación de que pacientes CE y LTNP tienen mayor expresión de marcadores de autofagia como ATG5, BECN1, AMBRA1 y MAP1LC3A-II sugiere que en estos pacientes se lleva a cabo mayor flujo de autofagia en las CMSP respecto a pacientes progresores. Basado en esto, la rapamicina para inhibir MTOR y otros inductores de autofagia están en estudios clínicos para el tratamiento de varias enfermedades como la enfermedad de Parkinson y efectos del envejecimiento y otros inhibidores de proteasa como nelfinavir, saquinavir y vitamina D están siendo evaluados por sus actividades promotoras de la autofagia y se sugiere que podrían ser probados como una alternativa para facilitar el aclaramiento de partículas virales en pacientes infectados por VIH así como en el tratamiento de algunos tipos de cáncer (Nardacci et al., 2014).

#### **9.7 Relacionado a transcripción**

Como se explicó previamente, en la infección por VIH se han evidenciado diferentes patrones de expresión de miARNs que pueden estar involucrados en el curso de la

enfermedad. Por esto, se ha planteado la posibilidad de evaluar miARNs específicos con el objetivo de identificar nuevos biomarcadores para diagnóstico y pronóstico de la enfermedad por VIH (Yousefpouran et al., 2020). Además, la combinación del análisis transcripcional, la biología de sistemas y la manipulación de miARNs, por ejemplo miR-29b-3p que actúa a nivel de Nef y puede afectar la patogenicidad del virus, miR-33a-5p que actúa a nivel de JNK que interviene en la integración del ADN viral, y miR-146a-5p que actúa a nivel del CXCR4 afectando la entrada del virus a la célula, tienen potencial para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y el diseño de nuevos medicamentos anti-VIH que colaboren con el control de la infección. De hecho, los resultados obtenidos en modelos celulares *in vitro* han mostrado buenos resultados disminuyendo la producción de partículas virales y cantidad de p24 (García et al., 2020; Reynoso et al., 2014; Yousefpouran et al., 2020).

### **9.8 Predictores de pérdida de control**

A lo largo de la revisión de la literatura, se identificaron otros factores que, a pesar de no ser terapéuticos, pueden representar posibilidades de mejorar el diagnóstico o el seguimiento de los pacientes, en este caso en particular de CE.

Dado que algunos de estos pacientes CE pueden perder el control, se identificaron factores que podrían estar relacionados a este evento y ser utilizados como predictores de esta pérdida de estatus. Identificarlos a tiempo puede ser una herramienta muy útil para iniciar TARV de una forma adecuada en los casos en los que los pacientes no posean tratamiento o haya sido interrumpido, o modificar esquemas existentes. Algunos de estos factores predictivos son, disminución de la capacidad antiviral *in vitro* de células T CD8+ que puede ser monitoreada a través de ensayos de inhibición viral *in vitro* (VIA) y niveles aumentados de PD-1 (Llano et al., 2019). Estos factores podrían ser utilizados también como guía para el seguimiento o como complemento a terapias inmunobasadas.

## 10. Discusión

Dentro de los aspectos inmunológicos descritos en los CE, la mayoría parece estar asociado a estrategias para lograr una mayor o mejor actividad del sistema inmunológico tanto innato como adaptativo y consecuentemente una mayor eliminación del virus o menor replicación viral. Sin embargo, también se describen algunos mecanismos en los que la clave parece ser un mejor balance inmune o modulación cruzada. Muchos de estos factores están relacionados entre sí.

De los aspectos que generan mayor actividad de la respuesta inmune, podemos destacar 5 que evidencian mayor importancia.

- Mayor producción de IFN- $\alpha$ , mediado principalmente por niveles preservados de CDp y fundamental en la respuesta antiviral. Además, el IFN- $\alpha$  genera un efecto adyuvante en células de la inmunidad innata y adaptativa, favoreciendo ambas respuestas.
- El aumento en la respuesta citotóxica observado en CE también se ha identificado como factor clave en el control de la replicación viral. No solo la respuesta amplia y fuerte de linfocitos T CD8+, también linfocitos T CD4+ circulantes con gran cantidad de perforinas, granzimas y marcadores de actividad citotóxica.
- Células T con mayor capacidad de proliferación frente a las proteínas virales, principalmente contra Gag y esta respuesta a Gag es más alta en frecuencia y polifuncionalidad. Estos pacientes poseen células T CD4+ con mayor avidez a Gag que a la vez estimulan mejor la respuesta T CD8+ generando mayor cantidad de estas células específicas a la proteína y totales y logrando también mejor calidad al mostrar más amplitud y magnitud, lo que representa uno de los mecanismos principales para el control viral. Estos linfocitos T CD8+ también mostraron mayor liberación de múltiples citoquinas y más funciones activas en los CE. A pesar de que la respuesta CD4+ específica a Gag es más débil que la respuesta de células T CD8+, ambas persisten detectables en el tiempo.

- Menor inhibición de la respuesta inmune respecto a otros pacientes infectados, evidenciado con menos células con receptores inhibitorios y menos cantidad de esos receptores en cada célula.
- Respuesta humoral de memoria importante con mayor presencia de células B IgG+ específicas hacia el VIH capaces de generar una respuesta superior y fuerte.

Además de estos, se han mencionado otros como monocitos más propensos a activarse, más proliferación de células NK, mayor cantidad y porcentaje de células dendríticas con funcionalidad preservada y magnitudes mayores de respuesta, mayor flujo de autofagia, células T con mayor capacidad de proliferación y subpoblaciones con mayores niveles de activación, células T CD4+ con mayor avidez entre otros, algunos de estas observaciones respaldadas también por estudios de los perfiles transcripcionales.

El propósito de la mayoría de los mecanismos expuestos es acelerar la eliminación del virus y disminuir su replicación y transmisión, pero hay más factores que también colaboran en esta disminución viral clave en estos pacientes, tales como menor expresión de proteínas de superficie que median la transmisión célula-célula, menor expresión de CXCR4 y de CXCR6, correceptor minoritario para la entrada del VIH, niveles más altos de CCL4, competidor para la unión del virus a los receptores, mayor expresión de ARNm de p21, factor de restricción que inhibe la transcripción reversa del VIH y mayor expresión de miR-22 que inhibe la entrada del VIH a la célula y de otros miARNs que actúan no solo interfiriendo con la entrada del virus a la célula sino también con diferentes proteínas virales, además de mayor apoptosis de células infectadas, entre otros.

Otros factores identificados en estos pacientes sugieren, por el contrario, mejores mecanismos regulatorios o mejor balance inmune como estrategia para controlar la infección de la mejor manera. Uno de estos mecanismos es la relación entre Th17 y Treg cuya proporción alta y estable se ha asociado a no progresión de la enfermedad. También la ausencia de inmuoactivación excesiva evidenciada en un estado saludable de expresión de receptores inhibitorios en células CD4+ y la respuesta mixta de citoquinas con un perfil no polarizado también evidencian mejor modulación cruzada y regulación inmune.

Esto no significa que mayor y mejor respuesta inmune y mejores mecanismos regulatorios y balance sean alternativas excluyentes, por el contrario, es probable que ambos estén presentes en diferentes momentos de la infección. Así, durante la infección primaria y cuando se detecte replicación viral, una mejor respuesta inmune le puede permitir al paciente limitar el desarrollo de la infección y el establecimiento de los reservorios iniciales, o contener rápidamente la replicación viral para evitar el aumento en la carga viral y sus efectos. Mientras que el tiempo que el virus se encuentra limitado y la infección tiene un curso más crónico es probable que mejor regulación y balance inmune resulte favorecedor para evitar el agotamiento de la respuesta o efectos negativos de inmunoactivación o inflamación excesiva crónica.

Otra estrategia recurrentemente mencionada en estos pacientes y que puede influir en su fenotipo es la preservación de conteos de diversos tipos celulares. Además de mantener los conteos de CD4+, diferentes autores recalcan la preservación de las poblaciones o conteos de células como CDp, células T CD8+, células CD3+CD8+CD161highTc17, también, se ha sugerido que la preservación del compartimento de células Th17 en estos pacientes, puede ser importante para preservar niveles altos de otras células efectoras y sus funciones lo que colabora en la defensa contra el VIH y otras infecciones. Este aspecto se ve favorecido por los hallazgos de apoptosis limitada en células T, linfocitos menos sensibles a la vía de FasL presentes en CE y mayor flujo de autofagia. El mayor flujo de autofagia representa un factor clave en este sentido, ya que permite eliminar componentes celulares dañados evitando que la célula desencadene procesos apoptóticos, lo que resulta determinante en la preservación de conteos celulares.

Resulta interesante la influencia de la carga viral que se menciona en factores como cantidades de células dendríticas o de linfocitos T CD8+ u otros, en algunos casos incluso sugiriendo relaciones de dependencia. Sería de esperar para estos casos, menor participación en CE, sin embargo, no siempre ocurre así por lo que es importante retomar que a pesar de que estos pacientes logran un control del virus hasta niveles indetectables esto no significa que el virus sea eliminado por completo y tampoco descarta que muy ocasionalmente puedan presentarse picos virémicos leves, que el paciente logra controlar espontáneamente sin que se dé la progresión de la enfermedad. Esta baja permisividad a la

reactividad viral permite una exposición medida de antígenos virales al sistema inmune, lo que puede colaborar en mantener una respuesta antiviral funcional y efectiva, sin llegar a altos niveles de replicación que puedan promover agotamiento inmune.

Muchos aspectos inmunológicos evidenciados en los CE tales como cantidad de CDm y CDp, CD8+, algunos perfiles transcripcionales en linfocitos T CD4+, balance entre células Th17 y Treg, niveles de expresión de receptores inhibitorios, concentraciones de quimiocinas, entre otros, difieren significativamente respecto a otros pacientes infectados, pero son similares o conservados respecto a individuos negativos para la infección. Esto hace pensar que una estrategia favorecedora puede ser el mantener un perfil de respuesta muy similar al de individuos sanos.

Otros factores interesantes son las regulaciones a nivel molecular evidenciadas en estos pacientes, la hipótesis de defensa contra la progresión del VIH a través de mayor expresión de miARN, las diferencias en metilación del ADN proviral, el mecanismo de control “block and lock” que procura el silencio en la expresión de genes provirales que evidencian que el fenotipo de CE también podría estar determinado desde bases moleculares.

Las interrelaciones existentes entre diferentes factores de los expuestos y que se mencionaron en el desarrollo de este trabajo, deben servir para recordarnos que el organismo y el sistema inmune actúa como uno solo con diferentes mecanismos efectores que se entrelazan entre sí, y también nos permite recalcar que el fenotipo de CE es heterogéneo. A pesar de la descripción de muchos factores favorables para los CE como la polifuncionalidad de la respuesta T o la respuesta de interferones de tipo I, entre otros, un solo hallazgo de estos no explica el fenotipo y, por el contrario, lo más probable es que sea el resultado de múltiples factores.

Algunos factores como el impacto de Treg en la infección por VIH, los anticuerpos y su capacidad neutralizante y el rol de los haplotipos protectores de HLA, entre otros, aún resultan controversiales, ya sea por evidencia o por resultados contradictorios, esto puede estar muy influenciado por limitantes en los estudios que se mencionarán más adelante.

Respecto a las Treg, su papel no es claro, se ha planteado que las células específicas al VIH son las que puedan tener un impacto positivo, pero no así las totales. También se ha mencionado que se puede tratar de un aumento en el porcentaje de Treg activas lo que favorece la no progresión de la enfermedad (Gaardbo et al., 2014) sin embargo, al ser células difíciles de caracterizar, su población puede variar entre estudios (Brandt et al., 2011) y además su evaluación en sangre periférica se puede afectar por la redistribución de células que se da entre ésta y los diferentes tejidos.

El caso de los alelos protectores de HLA resulta particularmente interesante, ya que en muchas publicaciones se mencionan, sin embargo, en otros estudios no muestran influencia significativa (Platten et al., 2016; van Gulck et al., 2012) ni sobre representación de estos alelos en el grupo de CE (García et al., 2020). A pesar de que algunos CE poseen uno o varios alelos considerados protectores y algunas respuestas restringidas a estos, también hay CE que no poseen ninguno (Pernas et al., 2012) e incluso tienen alelos considerados de riesgo o susceptibilidad a la enfermedad (Zhang et al., 2018), mientras que otros pacientes poseen alelos favorecedores, pero no se comportan como CE ante la infección. Resulta difícil establecer conclusiones respecto a este punto, pero parece ser que el HLA puede ser un factor importante pero no determinante.

Toda esta evidencia sugiere que existen factores en el huésped, no solo de índole genéticos, que van a influenciar el estado de no progresión en los pacientes CE.

Respecto a los factores virales descritos, está claro que algunos son determinantes del fenotipo de CE, pero no son exclusivos. Ejemplo de esto son los pacientes infectados únicamente con virus defectuosos o virus incompetentes para la replicación por la falta de alguna proteína viral fundamental, casos en los que definitivamente el progreso de la enfermedad queda limitado y los pacientes se comportaran como CE. Dicho de otra forma, se puede pensar que todos los pacientes infectados con virus defectuosos podrían comportarse como CE, pero no todos los CE están infectados con este tipo de virus. Además, como quedó evidenciado en múltiples casos, la infección con virus atenuados no garantiza que el fenotipo de CE perdure, ya que los virus pueden evolucionar y recuperar sus capacidades de replicación ocasionando la pérdida del estatus.

Sin embargo, a pesar del punto anterior, en múltiples estudios de los consultados queda evidenciado que la mayoría de CE portan virus competentes (Buckner et al., 2016) y que es probable que ocurra replicación viral aunque sea a niveles muy bajos. Esto es reforzado por el hecho de que son pacientes que se infectan, logran transmitir la infección a otros y en algunos casos pueden perder el control viral, entre otras evidencias. Con esto, hay 2 puntos importantes que quedan claros, hay algunos factores que por sí solos podrían definir o determinar el fenotipo de CE en algunos casos, no son los únicos factores y puede haber otros factores involucrados.

Otro de los factores descritos es la latencia viral profunda, ésta puede contribuir considerablemente al fenotipo de CE, pero no es un factor que determine o asegure control completo y permanente, ya que puede ser reversible y esto se ha visto en casos de pacientes que pierden el control (Jiang et al., 2020).

También, hay algunos aspectos virales que se han asociado al fenotipo de CE que podrían ser influenciados por el sistema inmune y la respuesta temprana a la infección, por lo que no se podría asegurar con certeza cuál es la causa y cuál es la consecuencia. Ejemplo de esto puede ser la presencia de únicamente virus defectuosos en un paciente, ya que esto puede ser resultado de la respuesta inmune inicial que haya generado una selección de los virus defectuosos (Casado et al., 2020). También, la presencia de virus con proteínas con funciones atenuadas como las descritas en Nef o algunas características del reservorio viral como su menor tamaño podrían ser resultado de presiones del sistema inmune y control temprano de la infección en pacientes CE que impide que se establezcan mayor cantidad de virus en el reservorio (García et al., 2017).

La observación de menor integración del VIH debido al bloqueo de su replicación mediada por factores de restricción celular también refuerza el hecho de presiones del huésped en etapas tempranas de la infección que podrían determinar el fenotipo de CE, ya que el resultado directo de esto es un reservorio viral de menor tamaño que es favorecedor para los pacientes. Además, se ha demostrado que niveles más altos de Th17 en los pacientes durante la infección primaria correlacionan con respuestas T antivirales más potentes, asociadas con protección al VIH y que los altos niveles de activación inmune observada en

las etapas tempranas tiende a disminuir al año post infección. Toda esta evidencia demuestra que los eventos ocurridos tempranamente durante el curso de la infección primaria son muy importantes y pueden ser claves para determinar el fenotipo de CE en un paciente.

Un caso interesante que ilustra esta presión inmune es el de un paciente CE en el que años previos a la infección se encontró en varias oportunidades una respuesta T CD4+ dirigida a Gag y Pol, pero no se logró encontrar virus detectable. Esto puede ser evidencia de una infección abortada o que fue contenida a nivel local y que no logró diseminarse más allá del sitio de transmisión ya que la respuesta presente por exposiciones previas logró restringir la infección y la replicación viral (Moosa et al., 2018).

Entonces, el fenotipo de CE se puede generar por 2 vías diferentes, infección con virus defectuosos o deletéreos incapaces de replicarse o infección con virus competentes, pero durante la infección temprana o tardía la respuesta inmune logra controlar el virus por diferentes mecanismos, limitando su replicación y progresión de la enfermedad.

Respecto a las limitaciones de este trabajo, surgen 2 principales del diseño elegido, y además los resultados obtenidos también se ven influenciados por las limitaciones de cada uno de los estudios utilizados.

La primera gran limitante se encuentra en la definición de CE, ya que ante la falta de una definición consenso oficial, el criterio a utilizar en este estudio fue decidido en base a lo más frecuentemente mencionado en la literatura. Este factor representa también una limitante para todos los estudios utilizados ya que la carencia de una definición clara y detallada oficial lleva a que cada grupo de investigadores utilice la que considere conveniente y eso le agrega aún más heterogeneidad a un grupo que ya por si solo es bastante heterogéneo en sus características.

La otra limitación surge con el uso de pacientes coinfectados con hepatitis B y C. Inicialmente, se quería excluir todos los estudios cuyos pacientes presentaran estas coinfecciones, sin embargo, no fue posible por la alta frecuencia de estas coinfecciones en pacientes con VIH debido principalmente a las vías de transmisión compartidas

(Yousefpouran et al., 2020). A pesar de que algunos estudios aseguraron no tener influencia por el estatus de HCV, replicación o carga viral (López et al., 2011) esto no se puede generalizar para todas las investigaciones, ya que, en infecciones virales crónicas, un virus puede modificar la historia natural de otro virus (Yousefpouran et al., 2020).

De los criterios de selección se derivan también limitaciones, principalmente temporales, ya que, al definir un rango de 10 años, todo hallazgo previo al 2010 independientemente de su relevancia queda excluido, sin embargo, esta delimitación fue necesaria para garantizar la factibilidad del trabajo. Este es el caso de la variante del receptor CXCR5 delta 32, que se ha demostrado que confiere resistencia natural a la infección por VIH con tropismo R5 y que ha sido muy estudiada desde el 2007 cuando el “paciente Berlín” recibió un trasplante de médula ósea de un donante con esta variante y posteriormente logró permanecer libre del virus en ausencia de TARV, generando la esperanza de una cura para el VIH, punto que no se aborda en este trabajo.

Además de la falta de una definición consenso que ya fue mencionada previamente, las limitaciones de los estudios utilizados influyen también en los resultados de este trabajo. Algunas de estas limitaciones identificadas se mencionan a continuación.

Los CE son difíciles de identificar durante el abordaje clínico de rutina, y esto es aún más difícil a partir del año 2013 en el que se emitió la recomendación de iniciar TARV en todos los pacientes infectados por VIH independientemente de su conteo de células T CD4+ por el evidente beneficio que esto representa. Este factor complica obtener datos relativos a la frecuencia de esta población de pacientes, situación que además se complica por la falta de la definición oficial. La baja frecuencia de estos pacientes representa una gran limitación para la mayoría de los estudios utilizados ya que generalmente los grupos y cohortes de CE utilizados están conformados por grupos pequeños con muy pocos individuos, lo que afecta los resultados, ocasionando incluso que los resultados obtenidos en el mismo estudio o en estudios similares puedan ser contradictorios entre sí. Este factor es además agravado por la heterogeneidad que han mostrado estos pacientes.

Otra limitante identificada es la falta de definiciones homogéneas de las poblaciones celulares, ya que cada grupo de investigación decide que marcadores utilizar para

caracterizar los diferentes tipos de células inmunes y este factor influencia los resultados de los estudios y les agrega más heterogeneidad a las determinaciones (García et al., 2017). Además de esto, los análisis de poblaciones celulares individuales en determinadas muestras no evidencian el panorama completo del sistema inmune que es bien complejo y poseen muchas dependencias mutuas o múltiples (Zhang et al., 2018).

Muchos de los hallazgos expuestos en los estudios se concluyen en base a diferencias estadísticamente significativas encontradas entre los diferentes grupos, sin embargo, estas conclusiones siempre deben tomarse con cautela, ya que en muchos factores que se evalúan es difícil poder determinar cuál es la causa y cuál es la consecuencia y si se trata de relaciones causales o simplemente de casualidades. Los resultados siempre van a estar limitados a las poblaciones y a las circunstancias expuestas, a menos que sean respaldados por estudios similares en otras poblaciones o que sean escalados a poblaciones mayores obteniendo los mismos resultados.

Por último, otra limitante importante de los trabajos consultados es la poca carga viral presente en estos pacientes, lo que dificulta su recuperación e incluso en muchos casos no se logran recuperar virus completos, afectando el estudio y la caracterización funcional de los virus que infectan a estos pacientes CE (Casado et al., 2020; Palacios et al., 2012).

A pesar de estas limitaciones y de la heterogeneidad de estos pacientes, su estudio ha contribuido a generar ideas terapéuticas no solo para el VIH, si no también para otras patologías. En algunos casos, como el de los anticuerpos anti-PD-1, agentes conversores, promotores de autofagia o manipulación de miARNs ya se ha avanzado con algunos experimentos o ensayos y a pesar de que en estas y en las demás ideas expuestas queda mucho camino por recorrer, algunas iniciativas resultan prometedoras.

## 11. Conclusiones

El fenotipo de CE es un fenómeno heterogéneo y multifactorial que puede resultar de diferentes factores del paciente como aspectos genéticos o inmunes, factores del virus o una combinación de ambos.

En una minoría de pacientes, la infección con virus defectuosos o deletéreos puede determinar el fenotipo de CE, pero no es la única vía para alcanzarlo y tampoco garantiza que perdure, ya que, en algunos casos, el virus puede recuperar su capacidad de replicación.

La mayoría de CE están infectados con virus patogénicos completamente funcionales y competentes para la replicación, en estos pacientes los factores inmunológicos son fundamentales para determinar el fenotipo de CE y asegurar un buen control de la infección que evita el progreso de la enfermedad.

De los aspectos inmunológicos, los eventos ocurridos tempranamente durante la infección primaria resultan particularmente importantes, ya que lograr contener el virus, eliminar las variantes con mayor capacidad de replicación o disminuir el establecimiento de los reservorios son acciones claves para facilitar el control de la infección no solo al inicio, ya que también favorecen el control por mecanismos inmunes tardíos.

Los hallazgos en CE han sido fuente de ideas para el desarrollo de alternativas de tratamiento, no solo para pacientes con VIH, también para otros tipos de enfermedades no infecciosas como cáncer y enfermedades neurodegenerativas.

## 12. Bibliografía

- Altfeld, M., & Gale, M. (2015). Innate immunity against HIV-1 infection. *Nature Immunology*, *16*(6), 554–562. <https://doi.org/10.1038/ni.3157>
- Barré-Sinoussi, F., Ross, A. L., & Delfraissy, J. F. (2013). Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nature Reviews Microbiology*, *11*(12), 877–883. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3132>
- Blankson, J. N., Bailey, J. R., Thayil, S., Yang, H.-C., Lassen, K., Lai, J., Gandhi, S. K., Siliciano, J. D., Williams, T. M., & Siliciano, R. F. (2007). Isolation and Characterization of Replication-Competent Human Immunodeficiency Virus Type 1 from a Subset of Elite Suppressors. *Journal of Virology*, *81*(5), 2508–2518. <https://doi.org/10.1128/jvi.02165-06>
- Brandt, L., Benfield, T., Mens, H., Clausen, L. N., Katzenstein, T. L., Fomsgaard, A., & Karlsson, I. (2011). Low level of regulatory T cells and maintenance of balance between regulatory T cells and TH17 cells in HIV-1-infected elite controllers. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *57*(2), 101–108. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e318215a991>
- Buckner, C. M., Kardava, L., Zhang, X., Gittens, K., Shawn Justement, J., Kovacs, C., McDermott, A. B., Li, Y., Sajadi, M. M., Chun, T. W., Fauci, A. S., & Moir, S. (2016). Maintenance of HIV-Specific Memory B-Cell Responses in Elite Controllers Despite Low Viral Burdens. *Journal of Infectious Diseases*, *214*(3), 390–398. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw163>
- Burton, D. R. (2019). Advancing an HIV vaccine; advancing vaccinology. *Nature Reviews Immunology*, *19*(2), 77–78. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0103-6>
- Casado, Concepcion, Galvez, C., Pernas, M., Tarancon-Diez, L., Rodriguez, C., Sanchez-Merino, V., Vera, M., Olivares, I., De Pablo-Bernal, R., Merino-Mansilla, A., Del Romero, J., Lorenzo-Redondo, R., Ruiz-Mateos, E., Salgado, M., Martinez-Picado, J., & Lopez-Galindez, C. (2020). Permanent control of HIV-1 pathogenesis in

exceptional elite controllers: a model of spontaneous cure. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58696-y>

Casado, Concepción, Marrero-Hernández, S., Márquez-Arce, D., Pernas, M., Marfil, S., Borràs-Grañana, F., Olivares, I., Cabrera-Rodríguez, R., Valera, M. S., de Armas-Rillo, L., Lemey, P., Blanco, J., Valenzuela-Fernández, A., & Lopez-Galíndez, C. (2018). Viral characteristics associated with the clinical nonprogressor phenotype are inherited by viruses from a cluster of HIV-1 elite controllers. *MBio*, *9*(2), 1–18. <https://doi.org/10.1128/mBio.02338-17>

Chen, J., Wang, F., & Liu, J. P. (2011). HIV Genome wide protein associations. *Xi'an Jianzhu Keji Daxue Xuebao/Journal of Xi'an University of Architecture and Technology*, *43*(5), 678–682. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00065-15>.Address

Crowell, T. A., & Hatano, H. (2015). Clinical outcomes and antiretroviral therapy in “elite” controllers: a review of the literature. *Journal of Virus Eradication*, *1*(2), 72–77. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27123315><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4844069>

Davenport, M. P., Khoury, D. S., Cromer, D., Lewin, S. R., Kelleher, A. D., & Kent, S. J. (2019). Functional cure of HIV: the scale of the challenge. *Nature Reviews Immunology*, *19*(1), 45–54. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0085-4>

Deeks, S. G., Overbaugh, J., Phillips, A., & Buchbinder, S. (2015). HIV infection. *Nature Reviews Disease Primers*, *1*(October). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.35>

Falivene, J., Ghiglione, Y., Laufer, N., Socías, M. E., Holgado, M. P., Ruiz, M. J., Maeto, C., Figueroa, M. I., Giavedoni, L. D., Cahn, P., Salomón, H., Sued, O., Turk, G., & Gherardi, M. M. (2015). Th17 and Th17/Treg ratio at early HIV infection associate with protective HIV-specific CD8+ T-cell responses and disease progression. *Scientific Reports*, *5*(May), 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep11511>

Gaardbo, J. C., Ronit, A., Hartling, H. J., Gjerdrum, L. M. R., Springborg, K., Ralfkiær, E., Thorsteinsson, K., Ullum, H., Andersen, Å. B., & Nielsen, S. D. (2014).

- Immunoregulatory T cells may be involved in preserving CD4 T cell counts in HIV-infected long-term nonprogressors and controllers. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 65(1), 10–18. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3182a7c932>
- Ganepola, S., Müßig, A., Allers, K., Ph, D., Schneider, T., Hofmann, J., Kücherer, C., Blau, O., Blau, I. W., Hofmann, W. K., Thiel, E., Ph, D., Hofmann, J., Ph, D., Kücherer, C., Blau, O., Blau, I. W., Hofmann, W. K., & Thiel, E. (2009). Long-Term Control of HIV by. *The New England Journal of Medicine*, 360(7), 692–697. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0802905>
- García, M., Górgolas, M., Cabello, A., Estrada, V., Ligos, J. M., Fernández-Guerrero, M., Barros, C., López-Bernaldo, J. C., De La Hera, F. J., Montoya, M., Benito, J. M., & Rallón, N. (2017). Peripheral T follicular helper Cells Make a Difference in HIV Reservoir Size between Elite Controllers and Patients on Successful cART. *Scientific Reports*, 7(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17057-y>
- García, M., López-Fernández, L., Mínguez, P., Morón-López, S., Restrepo, C., Navarrete-Muñoz, M. A., López-Bernaldo, J. C., Benguría, A., García, M. I., Cabello, A., Fernández-Guerrero, M., De la Hera, F. J., Estrada, V., Barros, C., Martínez-Picado, J., Górgolas, M., Benito, J. M., & Rallón, N. (2020). Transcriptional signature of resting-memory CD4 T cells differentiates spontaneous from treatment-induced HIV control. *Journal of Molecular Medicine*, 98(8), 1093–1105. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01930-x>
- Gay, C. L., Bosch, R. J., Ritz, J., Hataye, J. M., Aga, E., Tressler, R. L., Mason, S. W., Hwang, C. K., Grasela, D. M., Ray, N., Cyktor, J. C., Coffin, J. M., Acosta, E. P., Koup, R. A., Mellors, J. W., & Eron, J. J. (2017). Clinical trial of the anti-PD-L1 antibody BMS-936559 in HIV-1 infected participants on suppressive antiretroviral therapy. *Journal of Infectious Diseases*, 215(11), 1725–1733. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix191>
- Gomes, S. T. M., Gomes, É. R., dos Santos, M. B., Lima, S. S., Queiroz, M. A. F., Machado, L. F. A., Cayres-Vallinoto, I. M. V., Vallinoto, A. C. R., Ishak, M. de O. G.,

- & Ishak, R. (2017). Immunological and virological characterization of HIV-1 viremia controllers in the North Region of Brazil. *BMC Infectious Diseases*, *17*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2491-9>
- Gonzalo-Gil, E., Ikediobi, U., & Sutton, R. E. (2017). Mechanisms of virologic control and clinical characteristics of HIV+ elite/viremic controllers. *Yale Journal of Biology and Medicine*, *90*(2), 245–259.
- Gupta, R. K., Abdul-Jawad, S., McCoy, L. E., Mok, H. P., Peppia, D., Salgado, M., Martinez-Picado, J., Nijhuis, M., Wensing, A. M. J., Lee, H., Grant, P., Nastouli, E., Lambert, J., Pace, M., Salasc, F., Monit, C., Innes, A. J., Muir, L., Waters, L., ... Olavarria, E. (2019). HIV-1 remission following CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature*, *568*(7751), 244–248. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1027-4>
- Gurdasani, D., Iles, L., Dillon, D. G., Young, E. H., Olson, A. D., Naranbhai, V., Fidler, S., Gkrania-Klotsas, E., Post, F. A., Kellam, P., Porter, K., & Sandhu, M. S. (2014). A systematic review of definitions of extreme phenotypes of HIV control and progression. *Aids*, *28*(2), 149–162. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000049>
- Hassan, A. S., Bibby, D. F., Mwaringa, S. M., Agutu, C. A., Ndirangu, K. K., Sanders, E. J., Cane, P. A., Mbisa, J. L., & Berkley, J. A. (2019). Presence, persistence and effects of pretreatment HIV-1 drug resistance variants detected using next generation sequencing: A Retrospective longitudinal study from rural coastal Kenya. *PLoS ONE*, *14*(2), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210559>
- Hersperger, A. R., Martin, J. N., Shin, L. Y., Sheth, P. M., Kovacs, C. M., Cosma, G. L., Makedonas, G., Pereyra, F., Walker, B. D., Kaul, R., Deeks, S. G., & Betts, M. R. (2011). Increased HIV-specific CD8+ T-cell cytotoxic potential in HIV elite controllers is associated with T-bet expression. *Blood*, *117*(14), 3799–3808. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-12-322727>
- Jiang, C., Lian, X., Gao, C., Sun, X., Einkauf, K. B., Chevalier, J. M., Chen, S. M. Y., Hua, S., Rhee, B., Chang, K., Blackmer, J. E., Osborn, M., Peluso, M. J., Hoh, R.,

- Somsouk, M., Milush, J., Bertagnolli, L. N., Sweet, S. E., Varriale, J. A., ... Yu, X. G. (2020). Distinct viral reservoirs in individuals with spontaneous control of HIV-1. *Nature*, *585*(7824), 261–267. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2651-8>
- Kok, Y. L., Ciuffi, A., & Metzner, K. J. (2017). Unravelling HIV-1 Latency, One Cell at a Time. *Trends in Microbiology*, *25*(11), 932–941. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.06.002>
- Krishnan, S., Wilson, E. M. P., Sheikh, V., Rupert, A., Mendoza, D., Yang, J., Lempicki, R., Migueles, S. A., & Sereti, I. (2014a). Evidence for innate immune system activation in HIV type 1-infected elite controllers. *Journal of Infectious Diseases*, *209*(6), 931–939. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit581>
- Krishnan, S., Wilson, E. M. P., Sheikh, V., Rupert, A., Mendoza, D., Yang, J., Lempicki, R., Migueles, S. A., & Sereti, I. (2014b). Evidence for innate immune system activation in HIV type 1-infected elite controllers. *Journal of Infectious Diseases*, *209*(6), 931–939. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit581>
- Li, D., Chen, J., Jia, M., Hong, K., Ruan, Y., Liang, H., Liu, S., Zhang, X., Zhao, H., Peng, H., Ma, P., & Shao, Y. (2011). Loss of balance between T helper type 17 and regulatory T cells in chronic human immunodeficiency virus infection. *Clinical and Experimental Immunology*, *165*(3), 363–371. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04435.x>
- Li, G., Piampongsant, S., Faria, R. N., Voet, A., Pineda-Peña, A. C., Khouri, R., Lemey, P., Vandamme, A. M., & Theys, K. (2015). An integrated map of HIV genome-wide variation from a population perspective. *Retrovirology*, *12*(1). <https://doi.org/10.1186/s12977-015-0148-6>
- Llano, A., Olvera, A., Ruiz-riol, M., Rocafort, M., Cobarsi, P., Crespo, M., Dorrell, L., Paredes, R., Brander, C., & Mothe, B. (2019). *crossm Mechanisms of Abrupt Loss of Virus Control in a Cohort of*. *93*(4).
- Lopez-Galindez, C., Pernas, M., Casado, C., Olivares, I., & Lorenzo-Redondo, R. (2019).

- Elite controllers and lessons learned for HIV-1 cure. *Current Opinion in Virology*, 38, 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2019.05.010>
- López, M., Soriano, V., Peris-Pertusa, A., Rallón, N., Restrepo, C., & Benito, J. M. (2011). Elite controllers display higher activation on central memory CD8 T cells than HIV patients successfully on HAART. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 27(2), 157–165. <https://doi.org/10.1089/aid.2010.0107>
- Machmach, K., Leal, M., Gras, C., Viciana, P., Genebat, M., Franco, E., Boufassa, F., Lambotte, O., Herbeuval, J. P., & Ruiz-Mateos, E. (2012). Plasmacytoid Dendritic Cells Reduce HIV Production in Elite Controllers. *Journal of Virology*, 86(8), 4245–4252. <https://doi.org/10.1128/jvi.07114-11>
- Madlala, P., Van de Velde, P., Van Remoortel, B., Vets, S., Van Wijngaerden, E., Van Laethem, K., Gijssbers, R., Schrijvers, R., & Debyser, Z. (2018). Analysis of ex vivo HIV-1 infection in a controller-discordant couple. *Journal of Virus Eradication*, 4(3), 170–173. [https://doi.org/10.1016/s2055-6640\(20\)30268-5](https://doi.org/10.1016/s2055-6640(20)30268-5)
- Mailler, E., Bernacchi, S., Marquet, R., Paillart, J. C., Vivet-Boudou, V., & Smyth, R. P. (2016). The life-cycle of the HIV-1 gag–RNA complex. *Viruses*, 8(9), 1–19. <https://doi.org/10.3390/v8090248>
- Martinez-navio, J. M., Fuchs, S. P., Pantry, S. N., Lauer, W. A., Duggan, N. N., Keele, B. F., Rakasz, E. G., Gao, G., Jeffrey, D., & Desrosiers, R. C. (2020). *HHS Public Access*. 50(3), 567–575. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.02.005>. Adeno-associated
- Migueles, S. A., & Connors, M. (2015). Success and failure of the cellular immune response against HIV-1. *Nature Immunology*, 16(6), 563–570. <https://doi.org/10.1038/ni.3161>
- Ministerio de, S. (2018). Medición del Gasto de la Respuesta Nacional ante el VIH y sida 2016. Costa Rica. In *Index of North and South American Constitutions 1850 to 2007*. <https://doi.org/10.1515/9783110968002.189>

- Ministerio de Salud de Costa Rica. (2016). *Plan Estratégico Nacional (PEN) En VIH y SIDA, 2016-2021*. <https://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos/963-plan-estrategico-nacional-pen-vih-sida/file%0Ahttps://www.ministeriodesalud.go.cr/index.php/biblioteca-de-archivos/sobre-el-ministerio/politcas-y-planes-en-salud/planes-en-salud/963->
- Moir, S., & Fauci, A. S. (2017). *cell responses to HIV infection*. 33–48. <https://doi.org/10.1111/imr.12502>
- Moosa, Y., Tanko, R. F., Ramsuran, V., Singh, R., Madzivhandila, M., Yende-Zuma, N., Abrahams, M. R., Selhorst, P., Gounder, K., Moore, P. L., Williamson, C., Abdool Karim, S. S., Garrett, N. J., & Burgers, W. A. (2018). Case report: Mechanisms of HIV elite control in two African women. *BMC Infectious Diseases*, *18*(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-2961-8>
- Moroni, M., Ghezzi, S., Baroli, P., Heltai, S., De Battista, D., Pensieroso, S., Cavarelli, M., Dispinseri, S., Vanni, I., Pastori, C., Zerbi, P., Tosoni, A., Vicenzi, E., Nebuloni, M., Wong, K., Zhao, H., McHugh, S., Poli, G., Lopalco, L., ... Alfano, M. (2014). Spontaneous control of HIV-1 viremia in a subject with protective HLA-B plus HLA-C alleles and HLA-C associated single nucleotide polymorphisms. *Journal of Translational Medicine*, *12*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12967-014-0335-6>
- Mwimanzi, P., Markle, T. J., Martin, E., Ogata, Y., Kuang, X. T., Tokunaga, M., Mahiti, M., Pereyra, F., Miura, T., Walker, B. D., Brumme, Z. L., Brockman, M. A., & Ueno, T. (2013). Attenuation of multiple Nef functions in HIV-1 elite controllers. *Retrovirology*, *10*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1742-4690-10-1>
- Nardacci, R., Amendola, A., Ciccocanti, F., Corazzari, M., Esposito, V., Vlassi, C., Taibi, C., Fimia, G. M., Del Nonno, F., Ippolito, G., D'Offizi, G., & Piacentini, M. (2014). Autophagy plays an important role in the containment of HIV-1 in nonprogressor-infected patients. *Autophagy*, *10*(7), 1167–1178. <https://doi.org/10.4161/auto.28678>
- Noticia Ms Hpv.Pdf*. (n.d.).

- Noyan, K., Nguyen, S., Betts, M. R., Sönnnerborg, A., & Buggert, M. (2018). Human immunodeficiency virus type-1 elite controllers maintain low co-expression of inhibitory receptors on CD4+ T cells. *Frontiers in Immunology*, 9(JAN). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00019>
- ONUSIDA. (2019). Estadísticas mundiales sobre el VIH de 2019. *Onusida*, 1–4. [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/UNAIDS\\_FactSheet\\_es.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_es.pdf)
- Palacios, J. A., Perez-Pinar, T., Toro, C., Sanz-Minguela, B., Moreno, V., Valencia, E., Gomez-Hernando, C., & Rodes, B. (2012). Long-Term Nonprogressor and Elite Controller Patients Who Control Viremia Have a Higher Percentage of Methylation in Their HIV-1 Proviral Promoters than Aviremic Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. *Journal of Virology*, 86(23), 13081–13084. <https://doi.org/10.1128/jvi.01741-12>
- Pernas, M., Casado, C., Arcones, C., Llano, A., Sánchez-Merino, V., Mothe, B., Vicario, J. L., Grau, E., Ruiz, L., Sánchez, J., Telenti, A., Yuste, E., Brander, C., & López-Galíndez, C. (2012). Low-replicating viruses and strong anti-viral immune response associated with prolonged disease control in a superinfected HIV-1 LTNP elite controller. *PLoS ONE*, 7(2), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031928>
- Perreau, M., Levy, Y., & Pantaleo, G. (2013). Immune response to HIV. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 8(4), 333–340. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e328361faf4>
- Pina, A. F., Matos, V. T. G. de, Bonin, C. M., Dal Fabbro, M. M. F. J., & Tozetti, I. A. (2018). Non-polarized cytokine profile of a long-term non-progressor HIV infected patient. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 22(2), 142–145. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.01.003>
- Reynoso, R., Laufer, N., Hackl, M., Skalicky, S., Monteforte, R., Turk, G., Carobene, M., Quarleri, J., Cahn, P., Werner, R., Stoiber, H., Grillari-Voglauer, R., & Grillari, J. (2014). MicroRNAs differentially present in the plasma of HIV elite controllers reduce HIV infection in vitro. *Scientific Reports*, 4, 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep05915>

- Ross, S. R. (2018). Cellular immune responses to retroviruses. *Retrovirus-Cell Interactions*, 401–420. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811185-7.00011-X>
- Saag, M. S. (2019). HIV 101: fundamentals of antiretroviral therapy. *Topics in Antiviral Medicine*, 27(3), 123–127.
- Sáez-Cirión, A., & Pancino, G. (2013). HIV Controllers: A Genetically Determined Or Inducible Phenotype? *Immunological Reviews*, 254(1), 281–294. <https://doi.org/10.1111/imr.12076>
- Salgado, M., Gandhi, S., Buckheit, R. W., Berkenblit, G. V., & Blankson, J. N. (2014). Evolution of an attenuated HIV-1 isolate in an elite suppressor. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 30(3), 284–288. <https://doi.org/10.1089/aid.2013.0229>
- Schwartz, C., Bouchat, S., Marban, C., Gautier, V., Van Lint, C., Rohr, O., & Le Douce, V. (2017). On the way to find a cure: Purging latent HIV-1 reservoirs. *Biochemical Pharmacology*, 146, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.07.001>
- Scutari, R., Faieta, M., D'Arrigo, R., Fabeni, L., Mussini, C., Cossarizza, A., Casoli, C., Perno, C. F., Svicher, V., Alteri, C., & Aquaro, S. (2018). The degree of HIV-1 amino acid variability is strictly related to different disease progression rates. *Virus Genes*, 54(4), 493–501. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1571-2>
- Sengupta, S., & Siliciano, R. F. (2018). Targeting the Latent Reservoir for HIV-1. *Immunity*, 48(5), 872–895. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.04.030>
- van Gulck, E., Bracke, L., Heyndrickx, L., Coppens, S., Atkinson, D., Merlin, C., Pasternak, A., Florence, E., & Vanham, G. (2012). Immune and viral correlates of “secondary viral control” after treatment interruption in chronically HIV-1 infected patients. *PLoS ONE*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037792>
- Wensing, A. M., Calvez, V., Ceccherini-Silberstein, F., Charpentier, C., Günthard, H. F., Paredes, R., Shafer, R. W., & Richman, D. D. (2019). 2019 update of the drug resistance mutations in HIV-1. *Topics in Antiviral Medicine*, 27(3), 111–121.

- Whittall, T., Peters, B., Rahman, D., Kingsley, C. I., Vaughan, R., & Lehner, T. (2011). Immunogenic and tolerogenic signatures in human immunodeficiency virus (HIV)-infected controllers compared with progressors and a conversion strategy of virus control. *Clinical and Experimental Immunology*, *166*(2), 208–217. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04463.x>
- Wilén, C. B., Tilton, J. C., & Doms, R. W. (2012). HIV: Cell binding and entry. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(8). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006866>
- Yousefpouran, S., Mostafaei, S., Manesh, P. V., Iranifard, E., Bokharaei-Salim, F., Nahand, J. S., Mirzaei, H., Taran, M., Babaei, F., Sayad, B., & Moghoofei, M. (2020). The assessment of selected MiRNAs profile in HIV, HBV, HCV, HIV/HCV, HIV/HBV Co-infection and elite controllers for determination of biomarker. *Microbial Pathogenesis*, *147*, 104355. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104355>
- Zhang, W., Ambikan, A. T., Sperk, M., van Domselaar, R., Nowak, P., Noyan, K., Russom, A., Sönnernborg, A., & Neogi, U. (2018). Transcriptomics and Targeted Proteomics Analysis to Gain Insights Into the Immune-control Mechanisms of HIV-1 Infected Elite Controllers. *EBioMedicine*, *27*, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.11.031>
- Zuo, L., Liu, K., Liu, H., Hu, Y., Zhang, Z., Qin, J., Xu, Q., Peng, K., Jin, X., Wang, J. H., & Zhang, C. (2020). Trend of HIV-1 drug resistance in China: A systematic review and meta-analysis of data accumulated over 17 years (2001–2017). *EClinicalMedicine*, *18*, 100238. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2019.100238>

## **Anexos**

**Anexo 1**

Cuadro de operacionalización de variables

Objetivos específicos	Variable	Definición Conceptual	Dimensiones (Variables contenidas en la definición conceptual)	Definición operacional	Indicadores	Nivel de medición
1. Detallar los principales aspectos de la respuesta inmune al VIH que se han identificado en los pacientes controladores élite que se han asociado a una mejor respuesta ante el virus	1. Características de la respuesta inmunológica específica para el VIH	Conjunto de mecanismos inmunológicos generados en presencia del VIH	Factores Humorales	Aspectos relacionados a actividad de complemento y anticuerpos	Evidencia de actividad del complemento	Razón o Proporción
					Desarrollo de anticuerpos neutralizante	Ordinal
			Factores Celulares	Aspectos relacionados a actividad de células innatas y adaptativas	Actividad citolítica de células innatas y TCD8+	Razón o Proporción
					Cantidad de células efectoras específicas	Razón o Proporción
	2. Características inmunológicas de los pacientes controladores élite	Conjunto de características inmunológicas intrínsecas de los pacientes controladores élite, independientes de los agentes infecciosos	Factores Genéticos	Aspectos determinados por genes	Haplotipos de HLA	Nominal
			Factores celulares	Aspectos determinados por las diferentes poblaciones de células inmunes	Cantidad de cada población celular	Ordinal o proporción

Objetivos específicos	Variable	Definición Conceptual	Dimensiones (Variables contenidas en la definición conceptual)	Definición operacional	Indicadores	Nivel de medición
2. Identificar factores virales que pueden influir en la efectividad de la respuesta inmune de los pacientes controladores élite.	1. Características de la cepa viral que infecta al paciente	Conjunto de características estructurales y funcionales de la cepa viral particular	Variaciones Cualitativas	Aspectos que afectan la funcionalidad de las partículas virales	Integridad del genoma viral	Nominal
			Variaciones Cuantitativas	Aspectos que afectan la cantidad de partículas virales	Tasa de replicación	Ordinal
3. Enumerar los aspectos de la interacción inmunológica virus-controlador élite que puedan representar estrategias terapéuticas complementarias o alternativas para el manejo efectivo de la enfermedad	1. Interacción inmunológica virus-controlador élite	Puntos clave en la interacción virus-respuesta inmune identificados en pacientes controladores élite que podrían ser blanco de tratamientos	Factores Virales	Aspectos relacionados al virus identificados como posible blanco de tratamientos	Diferentes puntos clave identificados	Nominal
			Factores inmunológicos de paciente controlador élite	Aspectos inmunológicos particulares de controladores élite que podrían ser blanco de tratamientos	Diferentes puntos clave identificados	Nominal
	2. Estrategias terapéuticas	Iniciativas para tratamiento que han surgido a raíz del estudio de controladores élite	Utilidad clínica de las iniciativas planteadas para el tratamiento	Estudios en fase de prueba o desarrollo de posibles tratamientos que han surgido a raíz del estudio de controladores élite	Diferentes iniciativas terapéuticas identificadas	Nominal

## Anexo 2

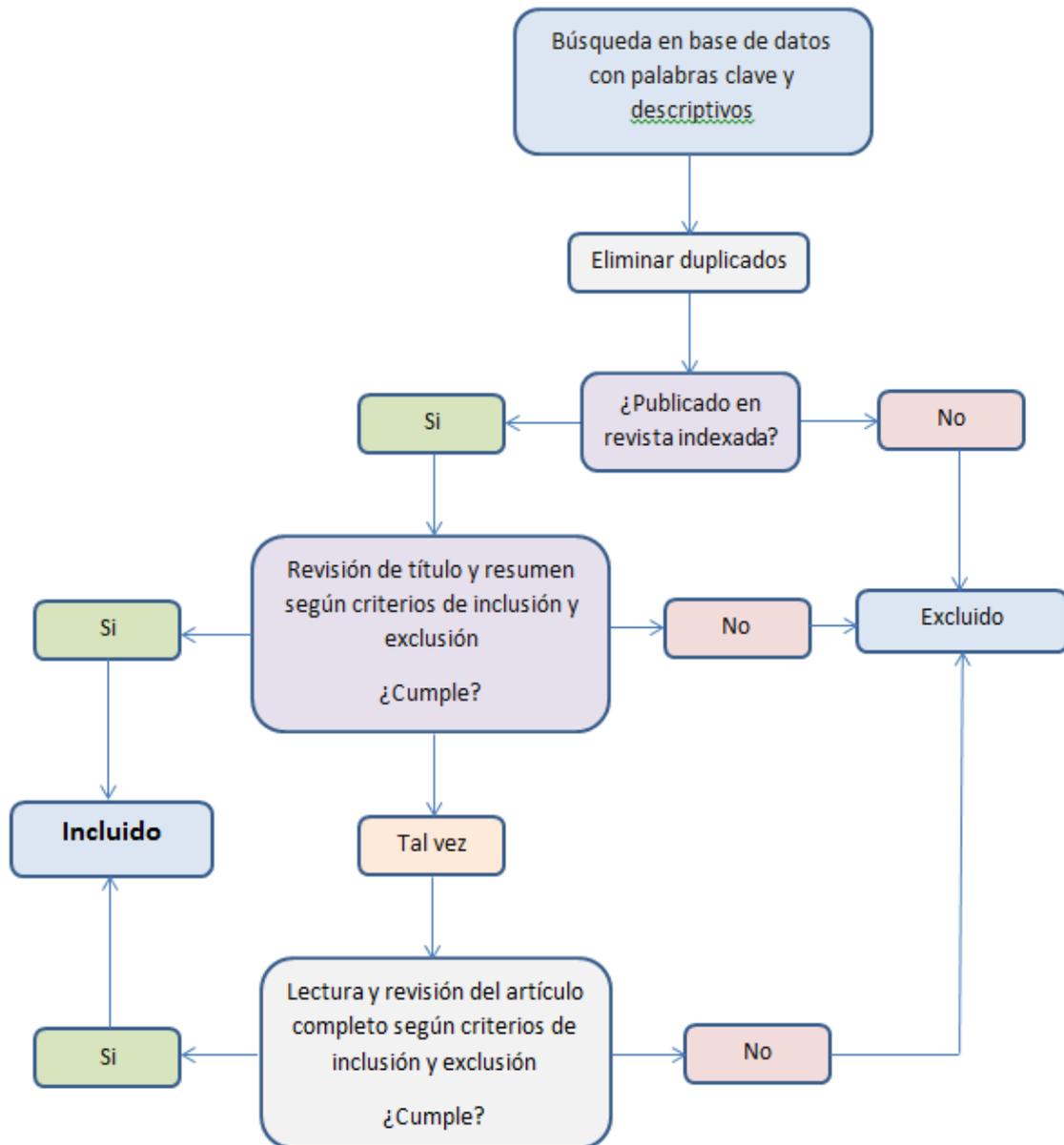
Instrumento para la selección de las publicaciones

Referencia del estudio:		
Idioma:	Año:	
Nivel de Selección		
Titulo	Resumen	Texto
¿Pacientes incluidos cumplen con la definición de CE?	SI	NO
¿Pacientes con TARV previo?	SI	NO
¿Ensayo realizado en modelo animal?	SI	NO
Tipo de publicación:		
¿Incluye análisis estadístico?	SI	NO
INCLUIDO	SI	NO



## Anexo 4

### Esquema de la estrategia metodológica



### Anexo 5

#### Definiciones de pacientes utilizadas en los artículos consultados

<b>Clasificación del paciente</b>	<b>Definición</b>	<b>Referencia</b>
CE excepcionales	Sujetos infectados que mantienen las características de CE sin progresión de la enfermedad por más de 25 años	(Concepcion Casado et al., 2020)
CE persistentes	CE con más de 18 años de infección controlada	(Concepcion Casado et al., 2020)
CE superinfectado	Individuo que se infectó 2 veces con diferentes variantes del virus y logró contener ambos virus y mantener CV indetectables por más de 20 años	(Pernas et al., 2012)
CE transitorios	Sujetos que pierden el control viral espontáneo durante el periodo de seguimiento	(Concepcion Casado et al., 2020)
Controladores	Sujetos con más de 6 años de infección sin tratamiento que mantienen conteos de células T CD4+ mayores a 500 células/ $\mu$ l y CV entre 50 y 10000 copias/ml	(Gomes et al., 2017)
Controladores persistentes	Individuos que logran mantener el estatus de CE	(Llano et al., 2019)
Controladores post tratamiento	Sujetos infectados que luego de 1 año de TARV logran mantener la viremia suprimida (CV menor a 50 copias/ml)	(Krishnan et al., 2014b)
	Pacientes en tratamiento que mantienen viremia no detectable (menor a 50 copias/ml) durante al menos 12 meses previo al estudio	(García et al., 2020)
Controladores relativos	Sujetos infectados sin TARV y con CV entre 40-1000 copias/ml en al menos 3 determinaciones durante el último año	(Machmach et al., 2012)
Controladores secundarios a suspensión de TARV	Pacientes que habían iniciado TARV y que a pesar de suspender el tratamiento lograron mantener la CV indetectable por los primeros 6 meses y luego de este tiempo mantenerla menor a 1000 copias/ml	(van Gulck et al., 2012)

<b>Clasificación del paciente</b>	<b>Definición</b>	<b>Referencia</b>
Controladores virémicos	Individuos que luego de 2 años de infección y en ausencia de tratamiento logran mantener CV bajas (50-600 copias/ml) y células T CD4+ mayores a 500/ $\mu$ l	(Platten et al., 2016)
	Subgrupo de LTNP que corresponde a pacientes infectados que mantienen viremia persistente pero siempre por debajo de 2000 copias/ml	(López et al., 2011)
	Pacientes con mínimo 2 años de infección y que mantienen CV menor a 2000 copias/ml y conteos de células T CD4+ normales	(Gaardbo et al., 2014)
	Sujetos con más de 2 años de infección sin tratamiento y con CV entre 50-6000 copias/ml y conteo de células T CD4+ mayor a 500 células/ $\mu$ l	(Platten et al., 2016)
	Pacientes con CV entre 50 y 2000 copias/ml luego de 6 meses de infección	(Moosa et al., 2018)
Sujetos virémicos	Pacientes infectados con CV mayores a 10000 copias/ml y sin TARV	(Machmach et al., 2012)
LTNP	Individuos con más de 8 años de infección que se mantienen clínicamente estables en ausencia de TARV, con CV mayores a 200 copias/ml y conteos de células T CD4+ mayores a 500 células/ $\mu$ l	(Nardacci et al., 2014)
	Infección demostrada serológicamente por más de 10 años sin síntomas relacionados al VIH y conteos de células T CD4+ mayores de 500 células/ $\mu$ l en ausencia de TARV	(López et al., 2011)
	Infección mínima de 10 años con CV de más de 5000 copias/ml pero sin disminución en el conteo de células T CD4+ por mínimo 2 años consecutivos antes de la inclusión al estudio	(Gaardbo et al., 2014)
	Individuos infectados sin tratamiento con conteo de células T CD4+ estable pero permitiendo una variación de hasta 100 células/ $\mu$ l a través de un periodo de seguimiento de más de 4 años	(Whittall et al., 2011)
LTNP virémicos	Sujetos con más de 10 años de infección sin presencia de progresión pero con CV detectable	(Concepcion Casado et al., 2020)

<b>Clasificación del paciente</b>	<b>Definición</b>	<b>Referencia</b>
No controladores	Pacientes con más de 6 años de infección con células T CD4+ menores a 500 células/ $\mu$ l y CV mayor a 10000 copias/ml en ausencia de TARV	(Gomes et al., 2017)
No controladores con enfermedad progresiva	Pacientes infectados con conteos de células T CD4+ menores a 350 células/ $\mu$ l en ausencia de TARV	(D. Li et al., 2011)
No controladores secundarios	Sujetos infectados que poseen CV mayores a 10000 copias/ml 3 meses luego de dejar el TARV	(van Gulck et al., 2012)
No controladores sin TARV	Pacientes infectados con CV de más de 10000 copias/ml y que no están recibiendo TARV	(van Gulck et al., 2012)
No progresores en TARV	Pacientes infectados con TARV estable y que mantienen la CV menor a 50 copias/ml	(van Gulck et al., 2012)
Pacientes con viremia suprimida por TARV	Pacientes con TARV que logran mantener CV indetectable	(García et al., 2020)
	Pacientes con replicación viral suprimida secundaria a TARV	(García et al., 2017)
	Sujetos que mantiene CV indetectable por al menos 2 años antes de la inclusión al estudio y que se encuentran recibiendo TARV	(Hersperger et al., 2011)
	Pacientes infectados que reciben TARV y mantiene CV suprimida con valores menores a 50 copias/ml	(Platten et al., 2016)
	Individuos infectados con al menos 5 años en TARV y que mantienen supresión viral completa	(García et al., 2017)
Pacientes en TARV	Sujetos infectados que reciben TARV y mantienen CV indetectable durante al menos el último año	(Machmach et al., 2012)
	Pacientes con largos periodos de uso de TARV (13-24 años) y supresión viral exitosa al mantener la CV indetectable durante ese periodo	(Noyan et al., 2018)
	Individuos con más de 1 año en TARV y con CV suprimida a niveles inferiores de 40 copias/ml	(Brandt et al., 2011)
	Pacientes infectados con TARV estable y que mantienen la CV menor a 50 copias/ml	(van Gulck et al., 2012)

<b>Clasificación del paciente</b>	<b>Definición</b>	<b>Referencia</b>
Pacientes infectados crónicos	Pacientes infectados con TARV y CV menor a 50 copias/ml	(Reynoso et al., 2014)
	Individuos con una infección por VIH establecida por más de 3 años con CV mayor a 10000 copias/ml y que no había recibido TARV al momento del estudio	(Falivene et al., 2015)
Pacientes infectados en TARV	Individuos infectados con CV indetectable bajo TARV prolongado	(Concepcion Casado et al., 2020)
	Pacientes infectados que reciben TARV y logran mantener la CV por debajo del límite de detección	(Jiang et al., 2020)
Pacientes progresores	Pacientes con infección documentada por más de 1 año, con conteos de células T CD4+ menor a 350/ $\mu$ l en ausencia de TARV	(Platten et al, 2016)
	Individuos infectados sin TARV y con altos niveles de ARN viral	(García et al., 2020)
Pacientes supresores con TARV	Pacientes progresores con viremia suprimida por TARV	(López et al., 2011)
Pacientes virémicos	Pacientes infectados que nunca han recibido TARV	(Brandt et al., 2011)
	Sujetos infectados sin TARV y con viremia detectable	(Zhang et al., 2018)
	Pacientes infectados, sin TARV y con CV media de 7700 copias/ml	(Noyan et al., 2018)
Progresores	Sujetos infectados sin TARV	(Yousefpouran et al., 2020)
	Pacientes infectados con una tasa mínima de disminución de células T CD4+ de 50 células/ $\mu$ l por año por un mínimo de 2 años consecutivos antes de la inclusión y CV mayores a 5000/ml	(Gaardbo et al., 2014)
Progresores con supresión viral debida al TARV	Pacientes infectados con CV indetectable que han recibido TARV por 2-15 años	(Concepcion Casado et al., 2020)
Progresores crónicamente infectados	Sujetos infectados sin TARV con CV mayores a 10000 copias/ml por al menos 2 años antes de la inclusión	(Hersperger et al., 2011)
Progresores crónicos	Pacientes infectados sin TARV	(Mwimanzi et al., 2013)

<b>Clasificación del paciente</b>	<b>Definición</b>	<b>Referencia</b>
Progresores normales	Sujetos infectados sin TARV, CV medias de 31600 copias/ml y conteos de células T CD4+ menores de 500 células/ $\mu$ l	(Nardacci et al., 2014)
	Individuos infectados sin TARV en los que el conteo de células T CD4+ disminuye más de 50 células/ $\mu$ l por año durante más de 4 años	(Whittall et al., 2011)
Progresores rápidos	Pacientes infectados sin TARV en los que la disminución media de células T CD4+ es mayor a 100 células/ $\mu$ l por año por más de 2 años o con conteos de células T CD4+ menores a 200 células/ $\mu$ l y desarrollo de manifestaciones clínicas de enfermedad avanzada por VIH en los primeros 2 años de infección	(Whittall et al., 2011)
	Pacientes en los que los conteos de células T CD4+ disminuyen hasta conteos debajo de 350 células/ $\mu$ l en el primer año post infección	(Falivene et al., 2015)
Progresores típicos	Pacientes en los que los conteos de células T CD4+ se mantienen por encima de 350 células/ $\mu$ l durante el primer año post infección	(Falivene et al., 2015)
	Pacientes infectados que carecen de TARV	(López et al., 2011)
Progresores virémicos	Pacientes infectados sin TARV y con viremia detectable	(Zhang et al., 2018)

CV: Carga viral    TARV: Tratamiento anti retroviral