

# Variante Viral de VIH-1 asociada con rápida progresión a SIDA en individuos cubanos

**Autores Principales:** Vivian Kourí<sup>1</sup>, Yoan Alemán<sup>1</sup>

**Otros Autores:** Ricardo Khouri<sup>2</sup>, Yeissel Abrahantes<sup>1</sup>, Lissette Pérez<sup>1</sup>, Jorge Pérez<sup>1</sup>, Anne-Mieke Vandamme<sup>2</sup>, Ana B Pérez<sup>1</sup>, Kristel Van Laethem<sup>2</sup>, Carlos Fonseca<sup>1</sup>, Michel Moutschen<sup>3</sup>, Alina Alvarez<sup>1</sup>, Yudira Soto<sup>1</sup>, Celia M Limia<sup>1</sup>, Yenisleidys Martínez<sup>1</sup>, Yoanna Baños<sup>1</sup>, Yaniris García<sup>1</sup>.

**Colaboradores:** Jurgen Vercauteren<sup>2</sup>, Andrea Pineda<sup>2</sup>, Kristof Theys<sup>2</sup>, Sarah Megens<sup>2</sup>, Nico Pfeifer<sup>2</sup>, Johan Van Weyenbergh<sup>2</sup>.

## **Filiaciones:**

<sup>1</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

<sup>2</sup> Universidad Católica de Leuven, Bélgica.

<sup>3</sup> Universidad de Liege, Bélgica

## **Autor para la correspondencia**

Vivian Kourí Gardellá.

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

Autopista Novia del Mediodía Km. 6 entre Carretera Central y Autopista Nacional Apdo. postal 601 Marianao 13.

Teléfono: 2553551

Fax: 53 -7 204 6051

Correo electrónico: vkouri@ipk.sld.cu

# 1. Resumen

**Antecedentes:** Sin tratamiento antirretroviral, la infección por VIH toma entre 5 y 10 años hasta que el paciente progresa a SIDA, lo más común es entre 8 y 10 años. Debido a la observación de una tendencia al incremento de pacientes que desarrollan SIDA pocos años después del diagnóstico de VIH en Cuba se decidió realizar esta investigación.

**Objetivo:** Identificar marcadores virales, de respuesta inmune, clínicos y epidemiológicos, que pudieran asociarse a la rápida progresión a SIDA.

**Diseño del estudio:** Se estudiaron 95 individuos cubanos seropositivos a VIH-1; 52 progresaron a SIDA en menos de 3 años (PR-SIDA), 22 eran pacientes en estado SIDA que progresaron en 8 a 10 años (PN-SIDA) y 21 eran seropositivos con 2-5 años de diagnóstico sin progresar a SIDA (PNV). Se estudiaron variables inmunológicas de activación celular y humoral. Las secuencias de los genes pol y env de VIH-1 fueron utilizadas para determinar el subtipo viral, el uso del co-receptor, análisis de clúster de transmisión, resistencia antirretroviral y eficiencia evolutiva (genotypic fitness landscape). Se estimaron predictores virales del hospedero, inmunológicos y virales, combinando modelos lineales y no lineales.

**Resultados:** Se observaron conteos significativamente menores de CD4 y niveles de carga viral (cv) mayores al diagnóstico de VIH en los PR-SIDA vs PN-SIDA y PNV. Además se detectaron niveles significativamente mayores de expresión de marcadores de activación celular. Se encontraron diferencias significativas en los niveles de algunos marcadores humorales de activación entre los grupos estudiados, siendo mayores en los PR-SIDA. La Candidiasis oral y el no uso de condón se asociaron también a la rápida progresión a SIDA.

Los principales subtipos virales detectados fueron: CRF \_ BG 20-23-24 (32,6 %), B (26,3 %) y CRF19\_cpx (9,5 %).

El Subtipo B fue más prevalente entre los PN-SIDA y PNV ( $p=0,034$ ). Todos los CRF19\_cpx se observaron en los PR-SIDA ( $p=0,0090$ ), mostraron mayor eficiencia evolutiva (fitness) en la región de proteasa ( $p\ll 0,0001$ ) y mayores niveles de cv ( $p=0,0002$ ). Ninguno de los virus CRF19\_cpx se agrupó en un clúster de transmisión y las secuencias CRF19\_cpx fueron predictores de utilizar el correceptor CXCR4 ( $p=0,0034$ ). Los pacientes infectados con esta variante viral tuvieron niveles significativamente mayores de RANTES ( $p=0,038$ ). El análisis multivariado identificó como predictores más fuertes de progresión rápida a SIDA al subtipo CRF19\_cpx, la candidiasis oral y los niveles de RAN-

TES.

**Conclusiones:** Los resultados indican que el CRF19\_cpx, un virus con alta adecuación evolutiva, se replica de manera eficiente activando la respuesta inmune, lo que incrementa los niveles de RANTES, que bloquearía el receptor de entrada de VIH (CCR5) promoviendo el cambio del virus R5 a X4, explicando potencialmente la rápida progresión a SIDA.

## 2. Comunicación Corta

### 2.1. Antecedentes

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida, actualmente reconocido como sida fue descrito en 1981, por el Centro para el Control de las Enfermedades. Existen dos agentes productores del sida, el virus de inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-1), que tiene una distribución mundial y es el responsable de la mayor parte de los casos; y el virus de inmunodeficiencia humana tipo II (VIH-2), que predomina en el continente africano, aunque se reportan casos importados en Europa y América.

El VIH es un virus altamente variable, por lo que se han descrito múltiples variantes genéticas de ambos virus, particularmente del VIH-1. En el continente africano es donde se ha descrito la mayor circulación de subtipos y formas recombinantes del VIH-1, así como VIH-2. Debido a la circulación de múltiples subtipos del VIH los individuos son susceptibles de infectarse con más de un subtipo de VIH que, unido a la característica del genoma viral de presentar dos moléculas de ARN, es frecuente que se mezclen más de una variante viral en el mismo sujeto ocurriendo la aparición de formas recombinantes del virus.

La patogénesis de la infección por el VIH-1 es un proceso complejo y variable. Las personas infectadas muestran diferentes patrones de progresión hacia el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA); la mayoría (80 % al 90 %) desarrollan la inmunodeficiencia en un promedio de 6 a 10 años (progresores típicos). Entre el 5 y 10 % de los infectados se consideran progresores lentos o no progresores (LTNP, del inglés Long Term Non-Progressors) y se caracterizan porque, en ausencia de antirretrovirales, permanecen asintomáticos por más de 10 años, sin deterioro inmunológico y con cargas virales bajas o no detectables, mientras que aproximadamente el 10 % desarrolla SIDA en menos de cinco años (progresores rápidos).

Los factores que pueden determinar la variación en el tiempo de progresión a SIDA aún no están bien esclarecidos. De forma global pueden ser agrupados en tres categorías: características del virus, propiedades del hospedero infectado, relacionadas con la respuesta inmunológica o la susceptibilidad genética y factores ambientales, de tipo infeccioso o no.

En Cuba, a pesar de la baja prevalencia de la infección con VIH-1 circulan gran variedad de subtipos, principalmente B, C, G y H, las formas recombinantes BG y las formas recombinantes circulantes complejas (CRFs, siglas del inglés, *circulant recombinant forms*) CRF18\_cpx y CRF19\_cpx. Mientras que los recombinantes BG tienen origen cubano, los CRF18\_cpx y CRF19\_cpx parecen tener origen africano, pero se comportan de manera epidémica solo en Cuba. Esta diversidad contrasta con la epidemia casi exclusiva de Subtipo B en el resto del Caribe.

Hasta el cierre del 2014 había 21922 individuos viviendo con VIH y 9661 (58,6%) estaban bajo tratamiento antirretroviral en Cuba. La transmisión sexual es el factor de riesgo más frecuente y a ella corresponde el 99% de los casos descritos. El mayor número de casos son del sexo masculino con un 81%, y los HSH constituyen el 72% (Registro Nacional VIH del Ministerio de Salud Pública (MINSAP), informe de balance 2014). Debido a la observación de una tendencia al incremento de pacientes que desarrollan SIDA pocos años después del diagnóstico de VIH en Cuba se decidió realizar esta investigación con el objetivo de identificar marcadores virales, de respuesta inmune, clínicos y epidemiológicos, que pudieran asociarse a la rápida progresión a SIDA.

## **2.2. Diseño del estudio**

Se estudiaron 95 individuos cubanos seropositivos a VIH-1; 52 progresaron a SIDA en menos de 3 años (PR-SIDA), 22 eran pacientes en estado SIDA que progresaron en 8 a 10 años (PN-SIDA) y 21 eran seropositivos con 2-5 años de diagnóstico sin progresar a SIDA (PNV). Todos los pacientes dieron su consentimiento por escrito para participar en el estudio. Se colectó la información clínica, demográfica, virológica, epidemiológica e inmunológica de los pacientes estudiados. Se estudiaron variables inmunológicas de activación celular (conteo de células TCD4+/CD38+, TCD4+/HLADR+, TCD8+/CD38+, TCD8+/HLADR+) mediante citometría de flujo.

Se determinaron 15 citoquinas en plasma, mediante FlowCytomix ( eBios-

ciencia, EUA). Los niveles en plasma de Neopterina (IBL Inc., Alemania),  $\beta 2$  - microglobulina (Immundiagnostik AG, Alemania), Fas Ligando (IBL Inc., Alemania) y Fas soluble (IBL Inc., Alemania) fueron cuantificados utilizando estuches comerciales de ELISA.

Las secuencias de los genes pol y env de VIH-1 fueron utilizadas para determinar el subtipo viral, el uso del co-receptor, análisis de clúster de transmisión, resistencia antirretroviral y eficiencia evolutiva (genotypic fitness landscape). A través de análisis de minería de datos se estimaron predictores virales del hospedero, inmunológicos y virales, combinando modelos lineales y no lineales.

### 2.3. Resultados

Se observaron conteos significativamente menores de CD4 y niveles de carga viral (cv) mayores al diagnóstico de VIH en los PR-SIDA vs PN-SIDA y PNV. Además se detectaron niveles significativamente mayores de expresión de marcadores de activación celular TCD4 +/CD38 + ( $p=0,034$ ) y TCD4 +/- HLADR + ( $p=0,002$ ) y TCD8 +/CD38 + ( $p=0,005$ ) en las CMSP de los PR-SIDA. Se encontraron diferencias significativas en los niveles de algunos marcadores humorales de activación (RANTES, MCP-1, IP-10, Neopterina y B2 Microglobulina) entre los grupos estudiados, siendo mayores en los PR-SIDA ( $p<0,05$ ). Se encontró correlación positiva entre los valores de cv y los marcadores de activación humoral y negativa con el % de CD4. La Candidiasis oral y el no uso de condón se asociaron también a la rápida progresión a SIDA. La resistencia transmitida fue del 10 % entre los grupos recientemente infectados y no se observaron diferencias entre los grupos. El uso del correceptor X4 o r5x4 fue más común en los PR-SIDA (57,89 %).

Los principales subtipos virales detectados fueron: CRF\_BG 20-23-24(32,6 %) , B (26,3 %) y CRF19\_cpx (9,5 %). El Subtipo B fue más prevalente entre los PN-SIDA y PNV ( $p=0,034$ ). Todos los CRF19\_cpx se observaron en los PR-SIDA ( $p=0,0090$ ), mostraron mayor eficiencia evolutiva (fitness) en la región de proteasa ( $p<0,0001$ ) y mayores niveles de carga viral ( $p=0,0002$ ). Ninguno de los virus CRF19\_cpx se agrupó en un clúster de transmisión y las secuencias CRF19\_cpx fueron predictores de utilizar el correceptor CXCR4 ( $p=0,0034$ ). Los pacientes infectados con esta variante viral tuvieron niveles significativamente mayores de RANTES ( $p=0,038$ ). El análisis multivariado identificó como predictores más fuertes de progresión rápida a SIDA al subtipo CRF19\_cpx,

la candidiasis oral y los niveles de RANTES.

## **2.4. Hipótesis**

El CRF19\_cpx, un virus con alta adecuación evolutiva, se replica de manera eficiente activando la respuesta inmune, lo que incrementa los niveles de RANTES, que bloquearía el correceptor de entrada de VIH (CCR5) promoviendo el cambio del virus R5 a X4, explicando potencialmente la rápida progresión a SIDA.

## **2.5. Conclusiones**

Se confirma que la carga viral del VIH-1 y el conteo de Linfocitos TCD4+, al momento del diagnóstico, constituyen predictores de rápida evolución a SIDA. Se demuestra la expresión incrementada de algunos marcadores celulares, humorales y quimiocinas, asociados con rápida progresión a SIDA, además de la candidiasis oral y el no uso del condón.

La replicación activa de VIH genera un circuito de retroalimentación positiva donde la activación inmune potencia la replicación del VIH, conduciendo a un agotamiento inmunológico y progresión a SIDA.

El virus recombinante CRF19\_cpx constituye la variante viral que se asocia con rápida progresión a SIDA y relacionado con alta carga viral, fenotipo viral X4 y mayores niveles de RANTES, mientras que el subtipo B se asoció con progresión no rápida.

## **2.6. Impactos Científicos**

Por primera vez, a nivel mundial, se describe la asociación de una variante viral de VIH-1 cubana (el CRF19\_cpx), con rápida progresión a SIDA.

La alta adecuación viral (fitness), en el gen de la proteasa, de los virus CRF19\_cpx indican que la proteasa del VIH también podría jugar un papel importante en la progresión a SIDA.

Se confirma que la progresión rápida a SIDA es un proceso multifactorial donde se involucran factores del virus, del hospedero y del ambiente.

Los resultados indican la necesidad de ampliar los estudios de epidemiología molecular de VIH-1 en Cuba y en particular estudiar a mayor profundidad las características del virus CRF19\_cpx, que circula con frecuencia en el país.

## **2.7. Impactos sociales**

Las variables epidemiológicas, clínicas, inmunológicas y virológicas detectadas como predictoras de la rápida progresión a SIDA, podrían ser utilizadas para el seguimiento de los individuos infectados.

Estos resultados refuerzan la necesidad de que los individuos cubanos, en riesgo de infección, se realicen la prueba de VIH para detectar tempranamente la infección y además que mantengan un adecuado seguimiento médico para detectar marcadores de posible progresión SIDA.

Se refuerza la importancia del uso del condón, no solo para prevenir la infección, sino para evitar las reinfecciones con variantes virales que produzcan rápida progresión a SIDA.

## **3. Publicaciones que lo avalan**

1. Abrahantes Y et al. Factores asociados a la progresión rápida a SIDA en individuos cubanos. Rev Cub Med Trop 2010; 62(2)

2. Aleman Y et al. Caracterización de algunos marcadores de progresión rápida a SIDA en individuos cubanos seropositivos a VIH-1. Vaccimonitor 2011; 20 Supl 1: 6-7

3. Kouri V et al. CRF19\_cpx is an evolutionary fit HIV-1 variant exclusively associated with rapid progression to AIDS in Cuba. EBioMedicine 2015;2 (3):244-254

## **4. Aval del Programa VIH/ITS/SIDA**

**1.** Proyecto Internacional con la Región Valona de Bélgica (2008-2012) y Ramal: Caracterización virológica e Inmunológica de Cepas de VIH de pacientes Cubanos con rápida progresión a SIDA.

**2.** Entrevistas: NTV, TeleSur, CCTV, Juventud Rebelde, Cuba Sí, Juventud Técnica.

**3.** Notas de prensa (más de 100) : KU Leuven news release, BBC World, Miami Herald, Msnbc, CBS News, TIME, Chicago Tribune, American Journal of Public Health, FOXNews.com, The Science Times. . . .