

La Neuroinmunopatogénesis del VIH

J Roberto Trujillo*¹, Claudia Ramirez Rodriguez^{1,2},
Rick A. Rogers¹, Michelle P. Candanosa McCanr²,
Jesus Ancer Rodriguez², Max Essex³.

RESUMEN

La pérdida de neuronas es una característica frecuente en la demencia asociada al VIH-1, pero el mecanismo preciso del daño a neuronas es desconocido. Las infecciones por retrovirus pueden inducir respuestas autoinmunes por diversos mecanismos, incluyendo el mimetismo molecular, el cual puede ocurrir si hay homología entre los aminoácidos de las proteínas del retrovirus y las del huésped. Nosotros hemos descrito que los pacientes con complejo demencial del SIDA (CDS) tienen niveles más altos de anticuerpos anti-gp 120 en su líquido cefalorraquídeo, en comparación al suero de pacientes sin CDS. Importantemente, hemos demostrado mimetismo molecular entre la región V3 de la gp120 del VIH-1 y proteínas del cerebro humano, y las pruebas de inmunotinción sobre tejido cerebral normal demostraron que principalmente las neuronas expresaron una proteína similar a la región V3. Estudios de microscopía digital mostraron la presencia de proteínas similares a la región V3 en la superficie de células neuronales. Por otro lado, un tercio de los pacientes con CDS pueden tener auto-anticuerpos contra las proteínas del cerebro humano, y reconocer los epítopes similares a los de la región V3. Basándonos en todos nuestros resultados el próximo paso fue explorar si los anticuerpos anti-V3 pueden inducir apoptosis o muerte celular programada en neuronas. Al utilizar diversos estudios de apoptosis en las neuronas, detectamos que los anticuerpos anti-V3 inducen apoptosis neuronal. Los resultados indican que la región V3 de la gp 120 del VIH-1 comparte epítopes y tiene mimetismo molecular con las células neuronales. La respuesta inmune hacia la región V3 de la gp120 del VIH-1 que genera anticuerpos pudiera provocar una reacción cruzada con las proteínas de las neuronas. Este pudiera ser un mecanismo autoinmune por el cual el HIV-1 indirectamente provoque muerte neuronal vía apoptosis. Esta observación experimental de provocar la muerte de células tumorales con anticuerpos monoclonales pudiera ser un abordaje efectivo para la inmunoterapia de tumores derivados del sistema nervioso.

Revista Mexicana de Neurociencia 2001;2(5): 259-267

SUMMARY

Neuronal loss is a common feature in HIV-1 associated dementia, but the precise mechanism of neuronal damage is unknown. Retroviral infections can induce autoimmune responses by several mechanisms including molecular mimicry, which can occur if there is amino acid homology between retrovirus and host proteins. We have described patients with AIDS dementia complex (ADC) as having higher levels of anti-gp120 antibodies in their cerebrospinal fluid as compared to serum from patients without ADC. Importantly, we have demonstrated molecular mimicry between the HIV-1 gp120 V3 loop and human brain proteins. The immunostain assay of normal brain tissues showed that primary neurons expressed the V3-like domain. Confocal microscopy studies revealed the presence of the V3-like protein on the cell surface of neuronal cells. Furthermore, one third of ADC patients have autoantibodies to human brain proteins and recognized the V3-like epitopes. The next step was to determine whether anti-V3 antibodies could induce apoptosis or programmed cell death to neuronal cells, an important question since apoptosis of neurons is a primary feature of ADC. We have detected apoptosis in a tumor neuronal SK-N-MC cells by using several assays of apoptosis. The results indicate that the V3 loop of HIV-1 gp120 shares epitopes with neuronal cells. An immune response to the HIV-1 gp120 V3 loop that generates antibodies could then cross-react with neuronal proteins. This may be an autoimmune mechanism by which HIV-1 indirectly kills neurons through apoptosis. This experimental novel observation of killing tumor cells by monoclonal antibodies may be an effective approach for immunotherapy of tumors derived from the nervous system.

Revista Mexicana de Neurociencia 2001;2(5): 259-267

¹Physiology Program, Harvard University School of Public Health, Boston, Massachusetts 02115

²Facultad de Medicina y Hospital Universitario

"Dr. José E. González" U.A.N.L.,

Monterrey, Nuevo León, C.P. 64460, México

³Department of Immunology and Infectious Diseases, Harvard School of Public Health Boston, Massachusetts 02115

*Corresponding author: J Roberto Trujillo, M.D., Sc. D.

President, Pan-American Society for Neurovirology

Laboratorio de Neurovirología y Biología Celular

Physiology Program, Harvard University School of Public Health

655 Huntington Avenue I-1304, Boston MA, 02115

Tel. (617) 432-2095, Fax (617) 432-4710

e-mail: jtrujill@hsph.harvard.edu

LA NEUROEPIDEMIOLOGIA DEL VIH-1 Y EL SIDA

El SIDA fue reconocido por primera vez como una entidad clínica nueva y distinta en 1981 y desde entonces, la epidemia VIH/SIDA ha alcanzado proporciones enormes con un número total acumulativo de 56 millones de personas. Se estima que actualmente en todo el mundo viven 36 millones de personas con el VIH-1, y que más de 20 millones de personas han fallecido como consecuencia del SIDA. La región Sub-Sahara del Africa es la región del mundo más afectada por el SIDA, y el número de personas infectadas sigue incrementándose. A finales del año 2000, se estimaba que 25.3 millones de personas de la región Sub-Sahara vivían con el VIH. Los países más poblados de los continentes Americano y Asiático han sido afectados drásticamente por el SIDA y la epidemia sigue aumentando causando serios problemas de salud¹. Al dispersarse el VIH en el mundo la diversidad genética del virus se incrementa.

En México, la infección por el VIH se ha convertido en un serio problema de salud pública, con múltiples consecuencias sociales, económicas y políticas. En septiembre de 1999, los casos diagnosticados de SIDA en México suman 40,743, sin tomar en cuenta el 35% en el retraso de notificación y 18.5% de subregistro, lo que en total nos da un número de 62,540 casos. De este total, se estima que más de 37,000 casos de SIDA ya han fallecido. Por otra parte, se estima que más de 187,000 casos presentan infección con el VIH-1 sin manifestaciones clínicas de la enfermedad. La infección se ha venido incrementando en México y se estima de 3,000 a 4,000 casos por año. En México el SIDA es la tercera causa de muerte en los hombres de 25 a 34 años y la sexta entre las mujeres de esa misma edad².

La enfermedad del SIDA afecta todos los sistemas del ser humano. El sistema nervioso es afectado desde el inicio de la infección del VIH-1. Aproximadamente de un 30 a 60% de pacientes con SIDA presentan síntomas neurológicos y en más del 80% se pueden encontrar anormalidades neuropatológicas en la autopsia^{3,4,5}. Es decir, que aproximadamente más de 25 millones de personas infectadas por este virus a nivel mundial presentan o presentaron complicaciones neurológicas durante el curso natural de la enfermedad. En México, por ejemplo, en el primer estudio que reportamos, se observó que más del 30% de la población con SIDA presentó complicaciones neurológicas⁶, las cuales en general se dividen en 2 tipos: las primarias o directas del VIH; y las indirectas o secundarias a infecciones oportunistas y neoplasias. Las directas o primarias incluyen: el complejo demencial SIDA

(CDS), la mielopatía vacuolar, la meningitis aséptica, la neuropatía periférica y la miopatía. Frecuentemente se presentan múltiples patologías coexistentes al mismo tiempo⁷.

El complejo demencial de SIDA (ADC) es la complicación más común del VIH-1^{3,4}. Aproximadamente del 40 al 60% de pacientes con SIDA padecen CDS o encefalitis del VIH y del 3 al 10% de los pacientes presentan el CDS como primer síntoma o manifestación neurológica⁸. En los estudios realizados en México, el CDS se presentó en el 32.5% de los pacientes con SIDA, siendo ésta la complicación neurológica más común de presentación⁶ y en el 80% los síntomas progresan rápidamente⁹. El uso actual de los medicamentos anti-retrovirales, particularmente el AZT, ha modificado el curso natural del CDS, especialmente ha disminuido la severidad y frecuencia de presentación¹⁰. Los mecanismos específicos de la patogénesis del CDS no están muy claros. Los datos actuales sugieren que el VIH-1 puede inducir degeneración y disfunción neurológica por mecanismos indirectos, más que por lisis de células neuronales por la infección directa del VIH-1.

El propósito de esta revisión es describir lo siguiente: 1). La biología molecular del VIH-1 y su tropismo en el sistema nervioso, 2). La inmunidad humoral del VIH-1 en el sistema nervioso, 3). La autoinmunidad y el rol del mimetismo molecular en la neuropatogénesis del VIH-1 (término que se refiere a la homología que existe entre un virus [en este caso el VIH-1] y proteínas del huésped, en este caso las neuronas).

BIOLOGIA MOLECULAR Y TROPISMO DEL VIH-1

El VIH-1 es un virus RNA, miembro de la familia *retroviridae*. La organización genética del VIH-1 es compleja. Además de los genes estructurales gag, pol y env encontrados en todos los retrovirus, el VIH-1 contiene genes que codifican para proteínas reguladoras como: rev (regulador de la proteína estructural del virion), tat (trans-activador) y nef (factor regulador negativo); así como genes que codifican para proteínas que se creen involucradas en la maduración y liberación del virus: vif (factor de infectividad del virion), vpu (proteína viral U) y vpr (proteína viral R). Basados en el parentesco de las secuencias de nucleótidos y en la diversidad vista entre casos aislados de VIH-1 de personas de diferentes países, se ha diseñado una clasificación del VIH-1 en subtipos, designados de la A a la K, los cuales tienen secuencias de genes en la envoltura que varían un 20% o más entre los subtipos¹¹.

El gen env del VIH-1 codifica a un precursor glicoproteico gp160 el cual es dividido intracelularmente al gp120 maduro y a moléculas del gp41^{12,13}. La proteína gp120 de la envoltura tiene una estructura secundaria compleja estabilizada por enlaces disulfuro entre residuos conservados de cisteína. Se concentra una extensa variabilidad en 5 áreas discretas del gp120 denominadas V1 a V5, las cuales se encuentran esparcidas entre 5 regiones conservadas, denominadas C1 a C5¹⁴⁻¹⁶. La región V3 es la tercera área variable de la proteína gp120, formada por un puente disulfuro entre los residuos de Cis 301 y 336¹⁷. Aunque la mayoría de los aminoácidos de la región V3 son variables entre las diferentes cepas del VIH-1, la secuencia Gln-Pro-Gln-Arg en la punta de la región se ha visto altamente conservada entre casos aislados de Europa y Norte América¹⁸. Varios estudios también han demostrado que el área neutralizante principal (PND) del VIH-1 se encuentra dentro de región V3. Esta región en la punta, altamente conservada, forma un sitio de unión para anticuerpos que pueden inhibir la fusión del VIH-1 con las células y por lo tanto bloquear la infección por el VIH-1. La región V3 ha sido identificada como un área de fusión¹⁹, y un anticuerpo anti-V3 por sí solo puede prevenir la infección *in vitro*²⁰. Además un anticuerpo anti-V3 pudo proveer protección en 2 chimpancés infectados por el VIH-1²¹. La región V3 también regula el tropismo de las células blanco CD4 positivas y negativas²².

La selectividad de las cepas del VIH-1 para los diferentes tipos celulares es regulada por interacciones virales entre los receptores celulares y la envoltura viral. La infección por VIH-1 de los linfocitos T cooperadores (Virus T- trópicos) y monocitos/macrófagos (Virus M-trópicos) requiere la presencia de un receptor CD4²³⁻²⁴. Además algunos miembros de la familia de receptores quimiocinéticos son utilizados en combinación con el CD4 para la entrada del VIH-1 en las células blanco. El VIH-1 T-trópico utiliza el receptor CXCR4 como un co-receptor²⁵, mientras que el VIH-1 M-trópico utiliza el CCR5 y CCR3 como co-receptores²⁶⁻³¹. Los virus con tropismo de células T tienden a tener más residuos con cargas positivas, particularmente en ciertas posiciones de la región V3, mientras que los virus con tropismo de macrófagos tienden a tener residuos negativamente cargados en la región V3, incluyendo la tal llamada secuencia consenso V3²².

De manera adicional, el VIH-1 también infecta células que no expresan CD4, como las células gliales del cerebro, células neuronales y de la retina, células endoteliales de los capilares cerebrales, fibroblastos de la piel humana, líneas celulares fibroblastoides derivadas de músculo y hueso, células trofoblásticas humanas, células dendríticas foli-

culares, células epiteliales colónicas, células adrenales fetales, y células carcinomatosas del hígado humano³²⁻⁴¹. En nuestro laboratorio descubrimos que los virus con tropismo de células T con residuos de cargas positivas en la región V3, parecen regular el tropismo de las neuronas CD4 negativas y de las células epiteliales colónicas^{22,42}.

LA INMUNIDAD HUMORAL DEL VIH-1 EN EL SISTEMA NERVIOSO

La síntesis intratecal de anticuerpos anti-VIH-1 se ha observado en pacientes con SIDA en varios estadios de la enfermedad con y sin manifestaciones neurológicas. Los anticuerpos de toda la envoltura gp120 del VIH-1 o regiones de la gp120 en forma parcial se han detectado en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con o sin síntomas neurológicos. Sin embargo existían estudios controversiales que cuestionaban si la producción intratecal de anticuerpos anti-VIH-1 se asociaban o no a la enfermedad neurológica del VIH-1 o al CDS⁴³. Por lo tanto otros marcadores inespecíficos de la infección del VIH en el sistema nervioso se utilizaban para su asociación.

En nuestro laboratorio en Harvard University el grupo del Dr. Essex han observado 2 tipos de anticuerpos que se unen a la envoltura gp120 del VIH-1⁴⁴. Un tipo de anticuerpo es el no-reducido, es decir es directo a los epítopes antigénicos y requiere la presencia de uniones disulfato para su conformación. En otras palabras, es la manera como la inmunidad humoral (anticuerpos) reconoce al VIH-1. El otro tipo de anticuerpo se refiere al gp120 reducido, es decir su epítipo es lineal o continuo. Los detergentes que se utilizan para las pruebas del Western blot (WB) reducen o cambian la envoltura del gp120 y la inmunidad humoral (anticuerpos anti-VIH-1 gp120 de los pacientes con SIDA) lo reconocerá en forma modificada o simplemente no se detectarán anticuerpos en el WB. Esta es una de las razones principales por la cual no se había establecido ninguna asociación entre los anticuerpos intratecales y el CDS. Por lo tanto el próximo paso fue observar si la producción intratecal de anticuerpos anti-VIH-1 gp120 podría ser un marcador de asociación del CDS. Analizamos la frecuencia de anticuerpos de la envoltura anti-VIH-1 en el LCR y el suero de los pacientes con o sin CDS, utilizando WB reducidos y no-reducidos y el análisis de radioinmunoprecipitación (RIP). Utilizando WB no reducidos detectamos en más del 30% de los pacientes con el CDS la presencia de anticuerpos gp120 en el LCR. Por lo contrario, cuando utilizamos WB reducidos no se detectaron anticuerpos en el LCR de los pacientes con el CDS. Los estudios de RIP sirven principalmente para detectar anticuer-

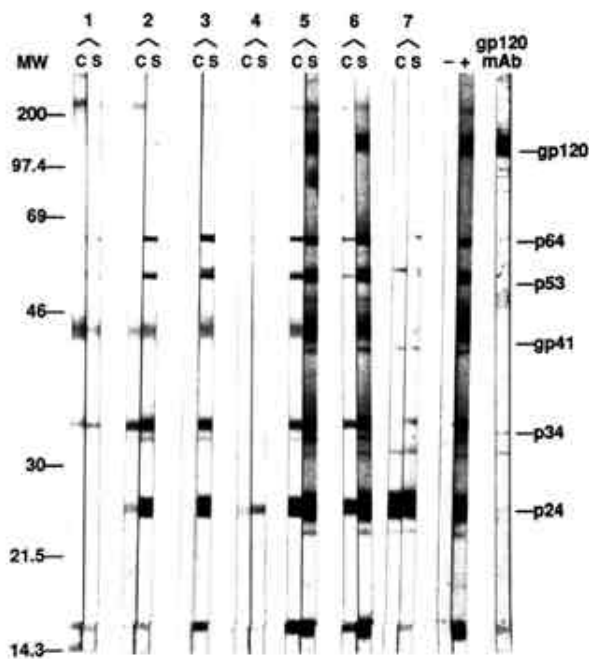


Figura 1. Western Blot (WB) análisis del LCR [C] y el suero [S] en pacientes con y sin el CDS. En estos estudios de WB se ilustra la baja sensibilidad de detección de anticuerpos anti-gp120 en el LCR de pacientes infectados con el VIH-1.

pos en su forma natural o de conformación. En este estudio demostramos que los anticuerpos de la envoltura del VIH-1 en el LCR son más prevalentes en pacientes con el CDS. En 12 de 21 pacientes con el ADC severo se presentaron altos niveles de anticuerpos en su LCR en comparación con su suero⁴³. Estos resultados sugieren que los niveles elevados de anticuerpos anti-gp120 del VIH pueden ser utilizados como marcadores inmunológicos de la progresión del CDS. En la **Figura # 1** podemos observar la detección de anticuerpos anti-VIH-1 en el LCR [C] y el suero [S] de 7 pacientes con y sin el CDS. En estos estudios de WB se puede ilustrar la baja detección de anticuerpos anti-gp120 en el LCR. En la **Figura # 2** se aprecia la detección de anticuerpos anti-VIH-1 en el LCR [C] y el suero [S] de 7 pacientes con y sin el CDS por el análisis de RIP. Con la prueba de RIP generalmente se detectan niveles más elevados de anticuerpos anti-gp120 y de su precursor anti-gp160 del VIH-1 con SIDA que en el análisis de WB. Estos hallazgos sugieren que los anticuerpos de los pacientes con CDS son directos a epítopos conformacionales, con el reconocimiento específico de la respuesta natural del sistema humoral ante la presencia del antígeno inductor, VIH-1, en el sistema nervioso. Por ejemplo, el pa-

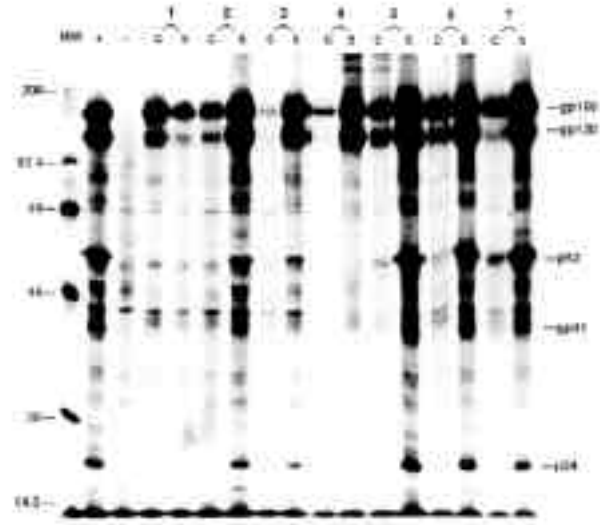


Figura 2. Radioinmunoprecipitación (RIP) análisis en el LCR [C] y el suero [S] de pacientes con y sin el CDS. Estos estudios demuestran la detección alta de anticuerpos anti-gp120 y anti-gp160 del VIH-1. El paciente número 1, presenta un CDS primario con una evolución rápida y severa, la cual muestra una inmunoreactividad más alta de anticuerpos anti-gp120 y anti-gp160 en su LCR que en su suero. Estos hallazgos sugieren la presencia de formación de anticuerpos directos a epítopos conformacionales.

ciente número 1 de la **Figura # 2** es un paciente con CDS muy severo la cual muestra una inmunoreactividad más alta de anticuerpos anti-gp120 y anti-gp160 en su LCR que en su propio suero⁴³.

AUTOINMUNIDAD Y EL ROL DEL MIMETISMO MOLECULAR EN LA NEUROPTOGENESIS DEL VIH-1.

Las infecciones retrovirales pueden inducir una respuesta autoinmune por el incremento de la proliferación de las células B capaces de reaccionar con antígenos propios, o a través del sistema ant-idiotípico; por alteraciones de células infectadas que exponen o cambian sus propios antígenos; la integración retroviral puede alterar la estructura y función de los genes del huésped; además el MIMETISMO MOLECULAR puede ocurrir si existe homología o semejanza entre las proteínas de los virus y del huésped⁴⁵.

Los anticuerpos monoclonales de proteínas virales pueden unirse con los componentes celulares del huésped^{45,46}. En un estudio utilizando más de 600 anticuerpos monoclonales antivirales de 11 diferentes virus se encontró que el 3.5 % de células específicas reaccionaban con los anticuerpos de órganos de ratones no infectados⁴⁷. En otro estudio

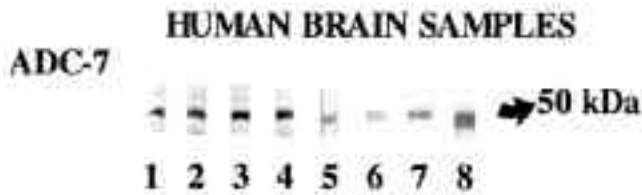


Figura 3. Estudios de WB de proteínas cerebrales provenientes de 7 muestras postmortem de individuos no infectados con el VIH-1. El LCR del paciente (ADC-7) muestra autoinmunidad con una proteína específica del SNC de 50 kilodaltones (Kda).

con un péptido de la polimerasa del virus de la hepatitis B, se encontró homología (mimetismo molecular) entre 6 aminoácidos consecutivos de este péptido con el región encefalítogena de la proteína básica de mielina en el conejo y ésta fue capaz de iniciar una enfermedad autoinmune⁴⁸.

Se han encontrado que las secuencias de los retrovirus endógenos se asemejan a las secuencias del ADN de todos los organismos eucariotes. Estas secuencias son importantes en la biología relacionada con retrovirus exógenos y quizás también jueguen un rol en la función celular. En un estudio⁴⁹ encontraron secuencias (péptidos) endógenas humanas que fueron similares a las secuencias de la proteasa del VIH-1 y de las proteínas Rev y de la glicoproteína 41. Además, se han descrito que los retrovirus presentan mimetismo molecular con las neurotoxinas⁵⁰⁻⁵³. Por ejemplo, la proteína Nef de los lentivirus de los primates y secuencias de la envoltura del VIH-1 son similares a las neurotoxinas del escorpión⁵². En las secuencias de la proteína Tat de varios lentivirus (primates) se encontró que existe mimetismo molecular con el veneno de las víboras⁵¹.

Los mecanismos autoinmunes tienen un papel importante en la patogénesis del SIDA⁵⁴⁻⁵⁶ y en las enfermedades neurológicas relacionadas con el SIDA⁵⁷⁻⁶⁰. En nuestros estudios de autoinmunidad a proteínas normales del sistema nervioso, encontramos que el 10 al 30% de los pacientes con el CDS presentaron autoanticuerpos cerebrales. Por ejemplo la **figura # 3** es un estudio de WB en la cual un paciente con el CDS reconoce una proteína cerebral normal de 50 kilodaltones (Kda). Esta proteína es específica del SNC. Estudios posteriores serán necesarios para determinar la naturaleza de esta proteína cerebral endógena y conocer el papel que tiene en el proceso de autoinmunidad en el CDS⁶⁰.

Se ha encontrado que los anticuerpos monoclonales anti-gp 41 (péptidos sintéticos) del VIH-1 tienen una reactividad cruzada con los astrocitos hu-

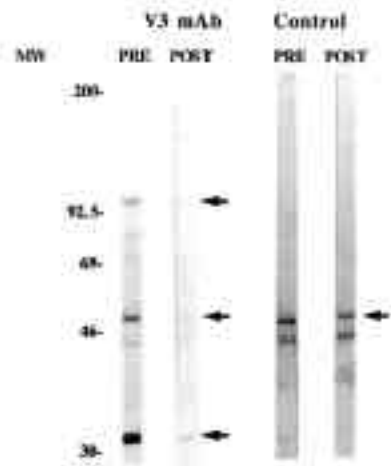


Figura 4. Estudio de WB de proteínas cerebrales humanas. En esta prueba de absorción, los anticuerpos anti-V3 se unen a la superficie de los linfocitos CD4-positivos, las cuales presentan en su membrana celular antígenos gp120. La desaparición de las proteínas 35, 55 y 110 kDa en este análisis de WB [ver POST] indica la especificidad y la existencia de mimetismo molecular entre el VIH-1 gp120 V3 y las proteínas cerebrales. Se incluye un control negativo.

manos y de los ratones⁶¹. En este mismo estudio, mostraron que los anticuerpos de pacientes con CDS también reaccionan con los astrocitos. Otros investigadores han observado resultados muy parecidos utilizando astrocitos primarios y líneas celulares de astrocitos (astrocitomas)⁶².

Como mencionamos previamente, observamos que pacientes que desarrollan el CDS más severo, presentan niveles más altos de anticuerpos de la envoltura gp120 del VIH en sus CSF que en el suero⁴³. Irónicamente, estos pacientes no presentaban una carga viral productiva de VIH-1 o la detección de la gp120. Por lo tanto investigamos si la presencia de estos altos niveles de anticuerpos gp120 podrían tener un efecto patológico a través de mecanismos como es el mimetismo molecular. Utilizando proteínas de cerebros humanos no infectados con el VIH-1 estudiamos si se presentaba una reacción cruzada con los anticuerpos de la gp120. Interesantemente encontramos que la región de la envoltura gp120 del VIH-1, denominada V3, presentaba mimetismo molecular con 3 proteínas humanas cerebrales de un peso molecular de aproximadamente 35, 55, y 110 kDa⁶³. Utilizando pruebas de bloqueo con proteína recombinante de gp120, demostramos que las 3 proteínas cerebrales eran específicas a la secuencia o péptido de la región V3 de la gp120 del VIH-1. En la **figura # 4** se observa un estudio de WB de proteínas cerebrales humanas. En esta prueba de absorción, los anticuerpos anti-V3 se unen a la superficie de las células linfocitarias CD4 infectadas por el VIH-1 (las células infectadas presentan en su superficie la gp120 del

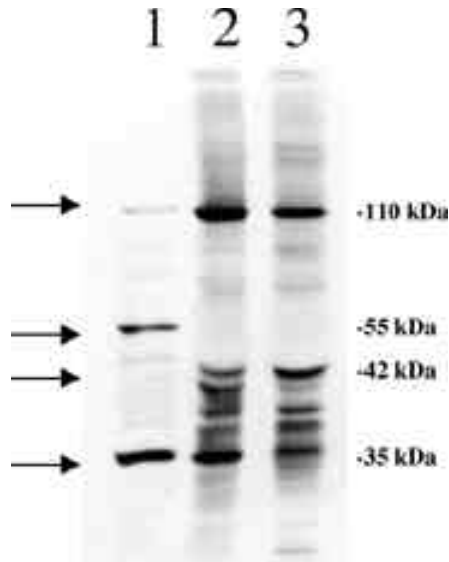


Figura 5. Estudio de mimetismo molecular usando WB de proteínas cerebrales humanas y anticuerpos anti-V3 de la gp120 del VIH-1. Se observa la inmunoreactividad de las proteínas del cerebro normal [1], las proteínas del neuroblastoma SK-N-MC [2] y las proteínas derivadas del retinoblastoma Y-79 [3]. Las flechas indican las proteínas cerebrales semejantes a la región V3 del VIH-1 con peso molecular de 35, 55 y 110 kDa. Los tumores neuroblastoma y retinoblastoma presentan una proteína específica de aproximadamente 40-42 kDa que no se encuentra en el cerebro normal.

VIH-1). La desaparición de las proteínas 35, 55 y 110 kDa en este análisis de WB [ver POST] muestra por una parte la especificidad del anticuerpo monoclonal anti-V3. Por otra parte indica la existencia de mimetismo molecular entre el VIH-1 gp120 V3 y las proteínas cerebrales. Los estudios de control en la **figura # 4** muestran la prueba de absorción negativa, como lo indica la presencia de la proteína de 50 kDa en PRE y POST absorción.

Para determinar la distribución de proteínas que reaccionan con el anticuerpo monoclonal anti-V3 varias líneas celulares permanentes o tumorales del SNC y otros órganos fueron analizadas por medio del WB⁶³. En la **figura # 5** se observan las proteínas del cerebro normal [1], las proteínas del neuroblastoma SK-N-MC [2] y las proteínas derivadas del retinoblastoma Y-79 [3]. Las flechas indican las proteínas cerebrales de 35, 55 y 110 kDa. Interesantemente el neuroblastoma y el retinoblastoma presentan una proteína de 40-42 kDa que no se encuentra en el cerebro normal.

Posteriormente utilizando pruebas inmunológicas en secciones de tejidos en parafina del SNC humano (no infectados con el VIH-1), encontramos que las neuronas expresan más comúnmente la proteína similar a la región V3 de la gp120⁶⁴. Para determinar la distribución anatómica de las células

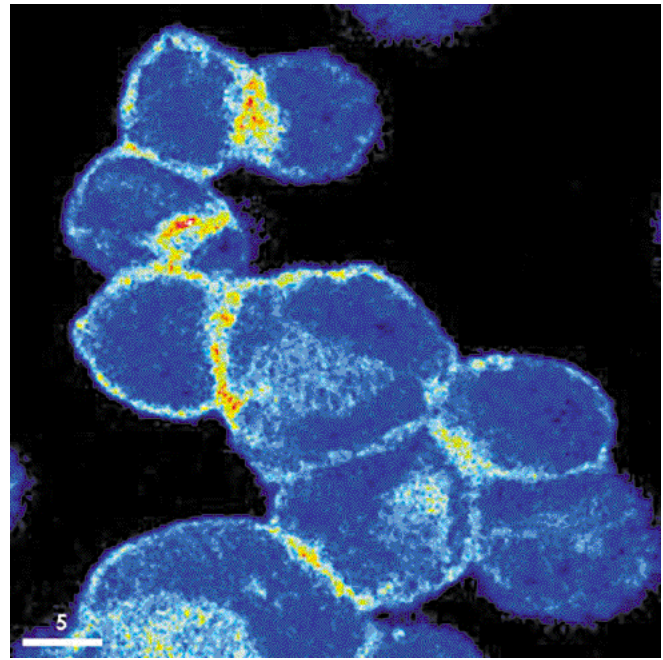


Figura 6. inmunotinción de células derivadas del retinoblastoma Y-79 con anticuerpos anti-V3 de la gp120 del VIH-1. Estos estudios de microscopía digital a base de rayos laser muestran la presencia de fluoresceína (V3) en la superficie de las células del retinoblastoma Y-79. Estos hallazgos sugieren la presencia de mimetismo molecular con la células V3 del VIH-1. Bar: 5µm.

neuronales, se realizaron pruebas de inmunotinción en las células del retinoblastoma Y-79. con anticuerpos con fluoresceína anti-V3. Estos estudios fueron analizados a través de la microscopía digital a base de rayos laser. En la **figura # 6** las células derivadas del retinoblastoma Y-79, presentan epítipes de superficie celular parecidos a la región V3 de la gp120 del VIH-1.

Además, observamos que los pacientes con demencia severa (n=7/21) presentaron anticuerpos en su LCR que reaccionaban con las mismas proteínas endógenas cerebrales⁶⁴. La reactividad cruzada de anticuerpos específicos del VIH-1 con proteínas celulares sugieren la participación de autoinmunidad en el CDS. De acuerdo con estos hallazgos de mimetismo molecular sugerimos una teoría autoinmune en la cual los anticuerpos anti-V3 pueden ocasionar daño a las células del sistema nervioso central que presentan epítipes parecidos a la región V3 y contribuir en la neuropatogénesis del CDS.

Posteriormente, observamos en los estudios de WB que otras células humanas no infectadas con el VIH-1 incluyendo los linfocitos CD4-positivos presentaban inmunoreactividad con los anticuerpos anti-V3. Por lo tanto, utilizando experimentos similares a los del sistema nervioso observamos la existencia del mimetismo molecular entre la re-

gión V3 de la gp 120 del VIH-1 y los linfocitos CD4-positivos activados⁶⁵. Además los estudios de complemento demuestran que la presencia del anticuerpo anti-V3 en la superficie de los linfocitos induce muerte celular. Estos hallazgos de mimetismo molecular con los linfocitos CD4-positivos, pueden explicar en parte la muerte indirecta de los linfocitos CD4-positivos en los pacientes con SIDA.

Quizás el hallazgo final más importante en la patogénesis de la demencia asociada al VIH es la pérdida de las neuronas a través del mecanismo de APOPTOSIS. Los mecanismos por los cuales se induce la muerte neuronal y/o la apoptosis se desconocen. Basándonos en nuestros hallazgos de mimetismo molecular entre las neuronas y la región V3 de la gp120 del VIH-1, exploramos si la presencia de anticuerpos anti-V3 puede inducir daño a la membrana neuronal. Utilizando estudios de apoptosis en las neuronas *in vitro* encontramos que los anticuerpos anti-V3 inducen apoptosis⁶⁶. Estos cambios apoptóticos ocurren minutos después de la presentación de anticuerpos en el medio de las neuronas.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En conclusión, nuestros estudios sugieren la existencia de MIMETISMO MOLECULAR entre la región V3 de la gp120 del VIH y las proteínas en la superficie de las células neuronales. La respuesta inmune hacia la región V3 de la gp120 del VIH-1 que genera anticuerpos pudiera provocar una reacción cruzada con las proteínas de las

neuronas, mecanismo autoinmune por el cual el HIV-1 podría indirectamente provocar muerte neuronal vía apoptosis. Estudios a futuro serán esenciales para descubrir la naturaleza de las proteínas similares a la región V3 y conocer los mecanismos enteros específicos que inducen la apoptosis.

Por otra parte, la observación experimental de provocar la muerte de células tumorales con anticuerpos monoclonales pudiera ser un abordaje efectivo para la inmunoterapia de tumores derivados del sistema nervioso. Esta hipótesis está apoyada en parte por estudios epidemiológicos preliminares (datos no publicados) en los cuales los pacientes infectados con el VIH-1 positivo y con el CDS tienen menos tumores derivados del SNC en comparación con la población no infectada con el VIH o sero-positiva con VIH-1 pero sin el CDS. Esto sugiere que la presencia de anticuerpos circulantes anti-gp120 (región V3) dentro del sistema nervioso de los pacientes con el CDS sirven como marcadores protectores para el desarrollo de tumores. Hipotéticamente esto se debe a que la superficie de las células tumorales presenta epítopes similares a los de la región V3 del VIH-1, y la unión de los anticuerpos anti-V3 inducen apoptosis o muerte celular programada. Este modelo de mimetismo molecular nos invita a explorar nuevos horizontes o modalidades como es el uso de la inmunoterapia para el tratamiento de tumores cerebrales que hasta la fecha son intratables y con un pronóstico fatal.

REFERENCES

1. Piot P, Bartos M, Ghys PD, Walker N, Schwartzlander B. The global impact of HIV/AIDS. *Nature*: 2001, 401:968-973.
2. Rivera-Morales LG, Novitsky VA, Trujillo JR, Lavalle C, Cano C, Ramos Jimenez E, Flores L, Lopez P, Vannberg F, Tamez R, Rodríguez C, Essex M. HIV-1 Subtype B is a predominant AIDS virus in México. *AIDS Res Hum Retrovirus*: 2001. 17:87-92
3. Navia BA, Jordan BD, Price RW. The AIDS dementia complex, I clinical features. *Ann Neurol*: 1986;19:517-24
4. Navia BA, Cho ES, Petito CK, Price RW. The AIDS dementia complex II. Neuropathology. *Ann Neurol*: 1986;19:525-35
5. Ho DD, Bredesen DE, Vinters HV and Daar ES. AIDS Dementia Complex *Ann Int Med*: 1989, 111:5:400-410
6. Trujillo JR, Garcia -Ramos G, Novak IS, Rivera VM, Huerta E, Essex M. Neurological Manifestations of AIDS: A comparative study of two Populations from México and the US. *J AIDS and Hum Retrov*: 1995, 8:23-29.
7. Gildenberg PL, Langford L. Kim JH, Trujillo JR. Stereotactic Biopsy in Cerebral Lesions of AIDS. *Acta Neurochirurgica [Suppl]*: 1993, 58; 68-70
8. Janssen RS, Nwanyanwu OC, Silik RM, Stehr-Green JK. Epidemiology of HIV-1 Encephalopathy in the United States. *Neurology*: 1992, 42:1472-1476
9. Price RW, Sidtis JJ, Navia BA, Pumarola S, Ornitz DB. The AIDS Dementia Complex. In: Rosenblum ML, Levy RM, Bredesen DE, eds. *AIDS and the Nervous System*. Raven Press, New York, 1988, chapter 10.
10. Richman DD. HIV chemotherapy. *Nature*: 2001, 401:995-1001.
11. Jay A. Levy. *HIV and the Pathogenesis of AIDS*. ASM Press Washington, D.C. 2th Edition, 1998.
12. Allan JS, Coligan JE, Barin F, McLane MF, Sodroski JG, Rosen CA, Haseltine WA, Lee TH, Essex M. Major Glycoprotein antigens that induced antibodies in AIDS patients are encoded by HTLV-III. *Science*: 1985, 228:1091-1094.
13. Robey WG, Satai B, Oroszian S, Arthur LO, Onda MA, Gallo RC, Fischinger PJ. Characterization of envelope and core structural gene products of HTLV-III with sera from AIDS patients. *Science*: 1985, 228:593-595.
14. Willey RL, Rutledge RA, Dias S, Folks T, Theodore TS, Martin MA. Functional interaction of constant and variable domains of human immunodeficiency virus type 1 gp120. *J Virol*: 1989, 83:3595-3600.
15. Modrow S, Hahn BE, Shaw GM, Gallo RC, Wong-Staal F, Wolf H. Computer-assistance analysis of envelope protein sequences of seven human immunodeficiency virus isolates: Prediction of antigen epitopes in conserved and variable regions. *J Virol*: 1987, 61:570-578.
16. Leonard CK, Spellman MW, Riddle L, Hartris RJ, Thomas JN, Gregory TJ. Assignment of intrachain disulfide bonds and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant human immunodeficiency virus envelope glycoprotein (gp120) expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem*: 1990, 265:10373-10382.
17. LaRosa G.J., J.P. Davide, K. Weinhold, J.A. Waterbury, A.T. Profy, J.A. Lewis, A.J. Langlois, G.R. Dreesman, R.N. Boswell, and P. Shadduck. 1990. Conserved sequences and structural

- elements in the HIV principal neutralizing determinant. *Science*: 1990 249:932-5.
18. Foley B., and Korber B., in *Human Retroviruses and AIDS 1995*, G. Myers, B.H. Hahn, J. W. Mellors, L.E. Henderson, B. Korber, K.T. Jeang, F.E. McCutchan, G.N. Pavlakis. eds. (Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New México) p. III77-150.
 19. Freed E.O., D.S. Myers, R. Risser. 1992. Identification of the principal neutralizing determinant of human immunodeficiency virus type 1 as a fusion domain. *J Virol.*: 65, 190-194.
 20. Skinner M.A., A.J. Langlois, C.B. McDanal, J.S. McDougal, D.P. Bolognesi, and T.J. Matthews. 1988. Neutralizing antibodies to an immunodominant envelope sequence do not prevent gp120 binding to CD4. *J. Virol.*: 62, 4195-4200.
 21. Emini E. A., W.A. Schleif, J.H. Nunberg, A.J. Conley, Y. Eda, S. Tokiyoshi, S.D. Putney, S. Matsushita, K.E. Cobb, C.M. Jett, J.W. Eichberg, and K.K. Murphy. 1992. Prevention of HIV-1 infection in chimpanzees by gp120 V3 domain-specific monoclonal antibody. *Nature*: 355, 728-730.
 22. Trujillo JR, Wang WK, Essex M, Lee TH. Identification of Envelope V3 loop as a determinant of CD4-negative Neuronal Cell Tropism for HIV-1. *Virology*, 1996, 217:613-617
 23. Klatzmann D., Champagne D., Chamaret S., Gruet J., Guedard D., Hercend T., Gluckman J., and Montagnier L. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature*: 1984; 312, 767-768.
 24. Maddon P., Dalgleish A., McDougal J., Clapham P., Weiss R. and Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell*: 1986; 47, 333-348.
 25. Feng Y., Broder C., Kennedy P. and Berger E. HIV-1 entry cofactor: Functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-couple receptor. *Science*: 1996; 272, 872-877.
 26. Alkhatib G., Combadiere C., Broder C., Feng Y., Kennedy P., Murphy P. and Berger E. CC CK5: A Rantes, MIP-1a, MIP-1b receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science*: 1996; 272, 1955-1958.
 27. Choe H., Farzan M., Sun Y., Sullivan N., Rollins R., Ponath P., Wu L., Mackay C., LaRosa G., Newman W., Gerard N., Gerard C. and Sodroski J. The b-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell*: 1996; 85, 1135-1148.
 28. Deng H., Liu R., Ellmeir W., Choe S., Unutmaz D., Burkhardt M., Di Marzio P., Marmon S., Hill C., Davis C., Peiper C., Schall T., Littman D. and Landau N. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*: 1996; 381, 661-666.
 29. Doranz B., Rucker J., Smyth J., Samson M., Peiper S., Parmetier M., Collman and Doms R. A dual-tropic HIV-1 isolate that uses fusin and the b-chemokine receptors CKR-5, CKR-3 and CKR-2b as fusion factors. *Cell*: 1996; 85, 1149-1158.
 30. Dragic T., Litwin V., Allaway G., Martin S., Huang Y., Nagashima K., Cayanan C., Maddon P., Koup R., Moore J. and Paxton W. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by a chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature*: 1996; 381, 667-673.
 31. He J., Chen Y., Farzan M., Choe H., Ohagen A., Gartner S., Busciglio J., Yang X., Hofmann W., Newman W., Mackay C., Sodroski J. and Gabuzda D. CCR3 and CCR5 are co-receptors for HIV-1 Infection of Microglia. *Nature*: 1997; 385, 645-649.
 32. Cheng-Mayer C., Rutka J., Rosenblum M., McHugh T., Stites D. and Levy J. HIV can productively infect cultured human glial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*: 1987; 84:3526-30.
 33. Harouse J., Kunsch C., Hartle H., Laughlin M., Hoxie J., Wigdahl B. and Gonzalez-Scarano F. CD4-independent infection of human neural cells by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*: 1989; 63, 2527-2533.
 34. Li X., Moudgil T., Vinters H. and Ho D. CD-4 independent, productive infection of a Neural Cell Line by HIV-1. *J Virol*: 1990; 64, 1383-1387.
 35. Tateno M., Gonzalez-Scarano F. and Levy J. The human immunodeficiency virus can infect CD-negative human fibroblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA*: 1989; 86:4287-4290.
 36. Clapham P., Wenek J., Whitby D., McIntosh K., Dalgleish A., Maddon P., Deen K., Sweet R. and Weiss R. Soluble CD4 blocks the infectivity of diverse strains of HIV-1 and SIV for T cells and monocytes but not for brain and muscle cells. *Nature*: 1989; 337, 368-370.
 37. Zachar V., Spire B., Hirsch I., Chermann J. and Ebbesen P. Human transformed trophoblast-derived cells lacking CD4 receptor exhibit restricted permissiveness for human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*: 1991; 65, 2102-2107.
 38. Stahmer I., Zimmer J., Ernst M., Fenner T., Finnern R., Schmitz H., Flad H. and Gerdes J. (). Isolation of normal human follicular dendritic cells and CD4-independent in vitro infection by human immunodeficiency virus (HIV-1). *Eur J Immunol*: 1991; 21:1873-1878.
 39. Yahi N., Baghdiguan S., Morea H. and Fantini J. Galactosyl Ceramide (or a Closely related Molecule) Is the Receptor for Human Immunodeficiency virus Type 1 on Human Colon Epithelial HT29 Cells. *J Virol*: 1992; 66, 4848-4854.
 40. Barboza A., Castro B., Whalen M., Moore C., Parkin J., Miller W., Gonzalez-Scarano F. and Levy J. Infection of cultured human adrenal cells by different strains of HIV-1. *AIDS*: 1992; 12, 1437-1443.
 41. Cao Y., Friedman-Kien A., Huang Y., Li X., Mirabile M., Moudgil T., Zucker-Franklin D. and Ho D. CD4 independent, productive human immunodeficiency virus type 1 infection of hepatoma cell lines in vitro. *J Virol*: 1990; 64, 2553-2559.
 42. Trujillo JR, Goletiani NV, Bosch I, Kendrick C, Rogers R, Trujillo EB, Essex M, Brain JD. The T-Tropic Sequence of the V3 loop is Critical for HIV-1 infection of CXCR4-Positive Colonic HT-29 Epithelial Cells. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*: 2000, 25:1-10.
 43. Trujillo JR, Navia BA, McLane MF, Worth J, Lucey DR, Lee TH, Essex M. Higher levels of anti-HIV-1 envelope antibodies in Cerebrospinal Fluid of patients with AIDS Dementia Complex. *JAIDS and Hum Retrov*: 1996, 12:19-25.
 44. Chou MJ, Lee TH, Hatzakais A, Mandalaki T, McLane MF, Essex M. Antibody responses in Early HIV-1 Infection in Hemophiliacs. *J. Infect Dis*: 1988; 157:805-11.
 45. Fujinami R.S., and M.B.A. Oldstone. Molecular mimicry as a mechanism for virus-induced autoimmunity. *Immunol. Res.*: 1989 8:3-15.
 46. Dales, S., R. S. Fujinami, M. B. A. Oldstone. Infection with vaccinia favors the selection of hybridomas synthesizing autoantibodies against intermediate filaments, one of them cross-reacting with the virus hemagglutinin. *J. Immunol*: 1983 131:1546-1553.
 47. Srinivasappa J., J. Saegusa, B.S. Prabhakar, M.K. Gentry, M.J. Buchmeier, T.J. Wiktor, H. Koprowski, M.B. Oldstone, and A.L. Notkins. Molecular mimicry: frequency of reactivity of monoclonal antiviral antibodies with normal tissues. *J. Virol*: 1986 57: 397-401.
 48. Fujinami R.S., and M.B.A. Oldstone. Amino acid homology between the encephalitogenic site of myelin basic protein and virus: mechanism for autoimmunity. *Science*: 1985 230:1043-45.
 49. Horwitz M.S., M.T. Boyce-Jacino, and A.J. Faras. Novel human endogenous sequences related to human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol*: 1992 66:2170-2179.
 50. Garry R.F., J.J. Kort, F. Koch-Nolte, and G. Koch. Similarities of viral protein to toxins that interact with monovalent cation channels. *AIDS*: 1991 5:1381-1384.
 51. Garry R.F., and G. Koch. Tat contains a sequence related to snake neurotoxins. *AIDS*: 1992 6:1541-1560.
 52. Tran M.K.G., G. Fredj, and G. Maurisson. Molecular mimicry between HIV-1 gp120 third variable loop V3 and arthropod (scorpion and spider) neurotoxins, whose receptor is a sodium channel [abstract]. Presented at the 4th International Workshop on Therapeutic Trials in Cancer and AIDS. Paris, September 1991.

53. Werner T., Ferroni S., Saermark T., R. Brack-Werner, R.B. Banati, R. Mager, L. Steinaa, G.W. Krueutzberg, and V. Erfle. HIV-1 Nef protein exhibits structural and functional similarity to scorpion peptides interacting with K⁺ channels. *AIDS*: 1991 5:1301-1308.
54. Hoffmann G.W., T.A. Kion, and M.D. Grant. An idiotypic network model of AIDS immunopathogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*: 1991 88:3060-64.
55. Kion T.A., and G.W. Hoffmann. Anti-HIV and anti-anti-MHC antibodies in alloimmune and autoimmune mice. *Science*: 1991 253:1138-1140.
56. Matsiota P., S. Chamaret, L. Montagnier, and S. Avrameas. Detection of natural autoantibodies in the serum of anti-HIV-positive individuals. *Ann. Inst. Pasteur Immunol*: 1987 138:223-233.
57. Kumar M., L. Resnick, D.A. Loewenstein, J. Berger, and C. Eisdorfer. Brain-reactive antibodies and the AIDS dementia complex. *JAIDS*: 1989 2:469-471.
58. Price R.W., B. Brew, J. Sidtis, M. Rosenblum, A.C. Scheck, and P. Cleary. 1988. The brain in AIDS: central nervous system HIV-1 infection and AIDS dementia complex. *Science*: 1988 239:586-592.
59. Silverman M.S., A. Nath, and I. MacLean. Autoantibodies to neural antigens in CSF of patients with HIV infection [Abstract 405P]. *Neurology*: 1992 42 (suppl 3):255.
60. Trujillo J.R., B. Navía, L. Benowitz, M.F. McLane, J. Worth, T.H. Lee, and Essex M. Evaluation of Autoantibodies to human brain proteins in patients with AIDS dementia complex. *JAIDS*: 1994, 7:103-108.
61. Yamada M., A. Zurbriggen, M.B.A. Oldstone, and R.S. Fujinami. 1991. Common immunologic determinant between human immunodeficiency virus type 1 gp41 and astrocytes. *J. Virol*: 65:1370-1376.
62. Spehar T, Strand M. Cross-Reactivity of Anti-Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp41 Antibodies with Human Astrocytes and Astrocytoma Cell Lines. *J Virol*: 1994, 68:6262-6269.
63. Trujillo JR, McLane MF, Lee TH, Essex M. Molecular Mimicry Between Human Immunodeficiency virus Type 1 gp120 V3 loop and Human brain proteins. *J Virol*: 1993, 67: 7711-7715.
64. Trujillo, J.R., McLane M.F., delaMonte S., Navía B., Brain J.D., Essex, M. Molecular Mimicry in HIV-1 Neuropathogenesis: Human antibodies that bind to gp120 V3 loop and Human Brain Proteins. *J Neurovirology*: 1996, 2:21.
65. Trujillo JR, Rogers RA, Brain JD. . Share Antigenic epitopes on the V3 loop of HIV-1 gp120 and Proteins on Activated Human T-Cells. *Virology*: 1998 246:53-62.
66. Trujillo JR, Essex M, Brain JD. HIV-1 Molecular Mimicry and Neuronal Apoptosis. *J Neurovirology*: 2000, 6:257.

