

# Reservorios del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1): mecanismos de latencia y estrategias terapéuticas

Eliuth David Arcia Anaya<sup>1</sup>, Carlos Julio Montoya Guarín<sup>2</sup>, María Teresa Rugeles López<sup>3</sup>

## RESUMEN

El VIH-1 puede establecer una infección latente en varios tipos de células que constituyen sus reservorios y permiten su mantenimiento en el hospedero indefinidamente. Los principales reservorios del VIH-1 son los linfocitos T CD4 en reposo, aunque también pueden serlo los monocitos/macrófagos, las células dendríticas y otras células. Varios mecanismos contribuyen al establecimiento y mantenimiento de la latencia en estas células, entre ellos la interferencia transcripcional, la baja disponibilidad de factores de transcripción, la condensación de la cromatina y algunos microARN que bloquean la traducción viral. El conocimiento de estos mecanismos es crucial para el desarrollo de nuevas terapias que puedan eliminar el virus del cuerpo y llegar a una posible cura de esta infección.

## PALABRAS CLAVE

*Células Dendríticas; Latencia; Linfocitos T CD4; Macrófagos; Monocitos; Reservorio; VIH-1*

## SUMMARY

### **Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reservoirs: mechanisms of latency and therapeutic strategies**

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) can establish a latent infection in different kinds of cells, which constitute the reservoirs for the virus and allow its maintenance in the body indefinitely. The main reservoirs of HIV-1 are resting CD4+ T cells, although other cells, among them monocytes/macrophages, and dendritic cells may also act as such. Different mechanisms contribute to the establishment and maintenance of latency in those cells, among them: transcriptional interference, low availability of transcription factors, chromatin condensation, and some microRNA that block viral translation. Knowledge of these mechanisms is crucial for the development of new drugs that may eliminate the virus from the body and lead to a cure.

---

<sup>1</sup> Joven investigador, Colciencias. Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Médico y Cirujano, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Bacterióloga, Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: María Teresa Rugeles; [mtrugel@catios.udea.edu.co](mailto:mtrugel@catios.udea.edu.co)

Recibido: julio 06 de 2013

Aceptado: diciembre 04 de 2013

## KEY WORDS

*CD4 T Cells; Dendritic Cells; HIV-1; Latency; Macrophages; Monocytes; Reservoir*

## INTRODUCCIÓN

En el año 2011 se reportó un número aproximado de 34 millones de individuos infectados con el VIH-1 a nivel global, con una incidencia de 2,5 millones y una mortalidad de 1,7 millones de casos ese año; tales cifras indican que la infección por este virus continúa siendo un problema de salud pública (1). El VIH-1 entra generalmente por las mucosas durante las relaciones sexuales, aunque existen otras formas de adquirir la infección (2). Una vez establecida la infección, el principal blanco celular del VIH-1 son los linfocitos T CD4 de memoria efectora presentes en el tejido linfoide asociado al tracto gastrointestinal (GALT); sin embargo, los macrófagos y células dendríticas (DC) también pueden ser blanco del virus (2-5). En el comienzo de la fase crónica de la infección se observa una disminución de la replicación viral; sin embargo, a medida que la infección progresa hay un agotamiento y un colapso inmunológicos, caracterizados por la disminución gradual y progresiva de los linfocitos T CD4, con lo cual se pierde el control de la replicación del virus, lo que posteriormente lleva al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) (2,6). La terapia antirretroviral permite en la actualidad controlar efectivamente la replicación viral, con el objetivo de llevar la carga viral a niveles indetectables en sangre periférica (3). Sin embargo, dicha terapia solamente ejerce control de la replicación viral y no tiene impacto en las células que sirven como reservorios para el virus, es decir, células en las que no se desarrolla completamente el ciclo replicativo o en donde el virus se encuentra de forma latente (7). Los principales reservorios del VIH-1 son los linfocitos T CD4 en reposo ( $T_{Res}$ ) (8), aunque también se ha planteado que los monocitos/macrófagos, las DC y otras células pueden servir como reservorios del virus (3,6). Son varios los mecanismos implicados en el establecimiento y mantenimiento de la latencia, entre ellos la baja expresión de factores de transcripción necesarios para el virus y el estado de hipercondensación de la cromatina (7). El conocimiento de estos mecanismos por los que se establece y mantiene la latencia en los reservorios celulares del VIH-1 es fundamental para el desarrollo

de nuevas terapias que tengan la capacidad de reactivar la replicación del virus en estas células, permitiendo así la eliminación total de las células infectadas y del virus en el organismo por el bloqueo de nuevas infecciones por la terapia antirretroviral (9).

## RESERVORIOS CELULARES Y LATENCIA

Teniendo en cuenta que en la fase crónica de la infección por el VIH-1 pueden existir niveles detectables de ARN viral circulante, a pesar de la acción de la terapia antirretroviral altamente activa (TARGA) (10), es factible suponer que existen células en las cuales hay una producción viral limitada. Estas células constituyen los reservorios del VIH-1 y se definen como aquellas que pueden albergar virus con capacidad replicativa, pero que se encuentran en estado de latencia, permitiendo la persistencia del virus en el hospedero por varios años (11,12). El virus latente se encuentra integrado al genoma de la célula en forma de provirus, no expresa sus genes constantemente y produce una baja cantidad de proteínas virales, debido a que su transcripción se encuentra silenciada o disminuida por diversos factores celulares que varían dependiendo del tipo de célula que esté sirviendo como reservorio (6,7,11). Las principales células que actúan como tales son: (1) los linfocitos T CD4 en reposo ( $T_{Res}$ ), porque tienen una vida media muy larga (aproximadamente 44 meses) (8,13); (2) los monocitos/macrófagos, aunque su función como reservorio es objeto de debate por su corta vida media (8), y (3) las DC (6).

### Linfocitos T CD4 en reposo ( $T_{Res}$ )

Estas células en reposo pueden ser de dos tipos: linfocitos T CD4 vírgenes ( $T_V$ ) y linfocitos T CD4 de memoria central ( $T_{MC}$ ) (14). Tanto los  $T_{MC}$  como los  $T_V$  comparten ciertas características fenotípicas: son células más pequeñas y con cromatina más condensada que los linfocitos T efectores, poseen bajos niveles de ARN mensajero (ARNm) y carecen de marcadores de activación, como CD69, CD25 y HLA-DR (13-15). Sin embargo, la expresión de las isoformas de CD45 puede diferenciar ambos grupos celulares, pues en los  $T_V$  predomina la isoforma CD45RA, y en los  $T_{MC}$  la isoforma CD45RO (16). Varios estudios han demostrado que el VIH-1 infecta preferencialmente a los linfocitos T efectores, en comparación con los  $T_V$  y los  $T_{MC}$ ; esas

células efectoras pueden sufrir una regresión a  $T_{MC}$ , estableciendo así el reservorio (7,8,15). La evidencia relacionada con el establecimiento de latencia en los  $T_V$  y los  $T_{MC}$  es controversial. Se ha observado *in vitro* que en los  $T_{MC}$  existe una mayor integración del ADN proviral en el genoma de la célula, con 4 a 10 veces más copias de ADN proviral en comparación con los  $T_V$  (17). Esta aparente preferencia del VIH-1 por infectar a los  $T_{MC}$  puede estar relacionada con la baja expresión de CCR5 en los  $T_V$ . Lo que puede dificultar la entrada del virus a este grupo de células (18). A continuación se describirán los principales mecanismos involucrados en la infección latente en estas células.

### **MicroARN (miR)**

Los miR pueden contribuir al silenciamiento de la expresión viral inhibiendo la producción de proteínas virales o la de factores de transcripción vitales para que se pueda dar la expresión de dichas proteínas (19). Huang y colaboradores identificaron 5 miR (miR-28, miR-125b, miR-150, miR-223, miR-382) que son altamente expresados en los  $T_{Res}$ , que se unen al extremo 3' LTR del ARN viral y que tienen un papel clave en la expresión de proteínas virales en estas células (20). Otro estudio demostró que el miR-29a es capaz de unirse al ARNm que codifica para la proteína viral Nef e inhibe su traducción (21). Entre los miR que inhiben la producción de proteínas celulares importantes para la transcripción del ARNm del virus se encuentran miR-27b, 29b, 223 y 150, que inhiben la expresión de la ciclina T1 (CycT1), que junto con CDK9 forman el P-TEFb (22) el cual permite la elongación de la ARN polimerasa mediante el provirus (23). Otros miR que tienen acción contra proteínas celulares son miR-17-5-p y -20<sup>a</sup> (24), que inhiben la producción de PCAF (*P300/CBP-associated factor*), enzima que acetila el residuo Lys-28 de Tat y refuerza la unión Tat-P-TEFb (25).

### **Interferencia transcripcional**

La interferencia transcripcional, entendida como el bloqueo de la transcripción de un gen, en este caso del provirus, es otro mecanismo de latencia que ha sido ampliamente estudiado. El ADN proviral se inserta en el ADN genómico mediante la enzima integrasa (26), con ayuda del coactivador celular LEDGF/p75 (*lens epithelium derived growth factor*), que le

permite al provirus integrarse en regiones de genes celulares altamente expresados (27). No obstante, esta integración puede darse en el mismo sentido del gen, o en sentido opuesto a este (26). No está suficientemente claro si la orientación del virus con respecto al gen es o no un factor determinante en la interferencia transcripcional (7); sin embargo, un mayor número de estudios sugiere que la mayor eficiencia en la replicación viral se da cuando el provirus se inserta en la misma dirección del gen (28,29). Varios autores plantean que cuando el provirus se encuentra insertado en sentido opuesto al gen, al activarse la transcripción del gen y el provirus ambos complejos de elongación chocan, se desprenden las polimerasas y se inhibe así la producción de proteínas virales (7). Sin embargo, esos mismos autores también plantean la posibilidad de que al estar el provirus en el mismo sentido, el complejo de elongación del gen podría desprender los factores de transcripción reclutados en el promotor proviral, inhibiéndose así su transcripción (7). En un estudio en células masculinas HCT116, se insertó el provirus tanto en el mismo sentido como en sentido opuesto al gen constitutivo HPRT; se demostró que si el virus se encontraba en sentido opuesto al gen, la expresión de este disminuía (28). En contraste, cuando el virus se insertó en la misma orientación del gen su expresión aumentó cuatro veces al comparar con células control (28). En otro estudio efectuado en células J-Lat, el virus se insertó en la misma orientación del gen constitutivo UBDX8, y se observó que al activar la transcripción del gen se obtenían también fragmentos de ARN viral que no eran eliminados por *splicing*, lo cual indica que al activarse la transcripción del gen también se activaba la del provirus (29). En conjunto, estos resultados sugieren que para poder generar una mayor interferencia transcripcional el provirus debe estar orientado en sentido opuesto con respecto al gen.

### **Otros mecanismos epigenéticos**

La metilación de las islas CpG en la región promotora viral es otro mecanismo implicado en el establecimiento de latencia, al impedir el reclutamiento de factores de transcripción (30). En células J-Lat se ha observado que el promotor del VIH-1 se encuentra entre dos islas CpG altamente metiladas, lo cual impide la transcripción del virus, y que esta metilación

está mediada por las ADN-metil-transferasas (DNMT) (30,31). Además, también se ha demostrado que en  $T_{MC}$  de pacientes infectados con VIH-1 los niveles de metilación de CpG son aproximadamente del 67%, indicando que este mecanismo es importante para el establecimiento de latencia en estas células (31). La fracción p50 del NF- $\kappa$ B es otra proteína con capacidad para bloquear la transcripción, porque cuando se forman homodímeros p50/p50 se ligan a los sitios de unión del NF- $\kappa$ B en el gen, bloqueando la transcripción (32). Además, las histonas deacetilasas (HDAC) también se han asociado con la represión en la transcripción proviral, ya que inhiben la acetilación de las histonas, manteniendo el estado de condensación de la cromatina en los  $T_{Res}$  e impidiendo así la entrada de los factores de transcripción al promotor viral (7,32). Un estudio demostró que en  $T_{Res}$  en la región 5' LTR del provirus se encontraban homodímeros de la fracción p50 del NF- $\kappa$ B, y que estos se asociaban con la HDAC1, además de una baja cantidad de ARN polimerasa II (32). En un estudio con un modelo nuevo de  $T_{Res}$  también se observaron bajos niveles de ARN polimerasa II en el 5' LTR proviral junto con altos niveles de HDAC1, además de bajos niveles nucleares de Cyt1 y de CDK9 (33). En conjunto, estos resultados destacan la importancia de la condensación de la cromatina y el poco acceso a la región promotora viral por parte de los factores de transcripción para el mantenimiento de la latencia.

## Monocitos/Macrófagos

Aunque la vida media de estas células es considerablemente menor que la de los  $T_{Res}$ , se ha planteado que pueden servir como reservorios para el virus, porque se ha demostrado la presencia de ADN proviral en monocitos de pacientes en TARGA (34-37).

## Factores virales y celulares

Se ha observado que los monocitos son más resistentes que los macrófagos a la infección productiva por el VIH-1 (37); esta restricción de la replicación viral se puede deber a factores celulares que actúen limitándola en diferentes etapas, como la citidina deaminasa APOBEC3G (38). Varios estudios han demostrado que la transcripción reversa viral es ineficiente en los monocitos, lo que da lugar a la generación de transcritos incompletos de ADN proviral; sin embargo, al

inducir la diferenciación de estas células a macrófagos, la transcripción reversa y la integración retornaban a la normalidad (39,40). El hecho de que la replicación viral sea más eficiente en los macrófagos que en los monocitos se puede deber a que en estos últimos hay baja expresión de la proteína quinasa C-delta (PKC- $\delta$ ), indispensable en la replicación viral porque activa factores de transcripción importantes para el provirus, como NF- $\kappa$ B, AP-1 y NFAT (41). Además, se ha observado que los niveles de Cyt1 son muy bajos en los monocitos y que aumentan a medida que estos se diferencian a macrófagos (37,42). También se ha observado que los niveles de CDK9 son similares entre los monocitos y los macrófagos (42); sin embargo, estos últimos poseen mayor expresión de CDK9 fosforilada, que es importante para la activación del P-TEFb (37).

## miR

Se ha encontrado que en los monocitos infectados hay una alta expresión de los miR-28, 150, 223 y 382 (43), que han sido previamente descritos en el establecimiento de latencia en los  $T_{Res}$  (20). Otro miR involucrado en la represión de la traducción viral es miR-198, que se expresa altamente en los monocitos y decae a medida que las células se diferencian a macrófagos (44). Este miR se une al extremo 3' UTR del ARNm de Cyt1, inhibiendo así su expresión (44).

## Subpoblaciones de monocitos y macrófagos

Todas las características mencionadas anteriormente indican que los monocitos son más resistentes a la infección por el VIH-1, y que la replicación se reactiva a medida que estas células se diferencian a macrófagos. No obstante, no todos los monocitos son resistentes a la infección, ni todos los macrófagos permiten una replicación viral normal. Existe una pequeña población de monocitos caracterizada por expresar el receptor de baja afinidad para la IgG denominado CD16 (monocitos CD16<sup>+</sup>), y que son más susceptibles a la infección por el VIH-1 (45). Se ha demostrado que en estos monocitos hay mayor cantidad de ADN proviral integrado y mayor expresión de CD4 y CCR5 en comparación con los monocitos CD16<sup>-</sup> (45). Además, en los monocitos CD16<sup>+</sup> se encontró una forma de alto peso molecular, inactiva, de APOBEC3G (45). La polarización de los macrófagos hacia los patrones M1 o M2a también puede alterar la producción viral

en estas células (46). Un estudio demostró que la replicación viral es menos eficaz en los M1 y M2a en comparación con los macrófagos no polarizados, lo cual puede estar relacionado con la disminución en la expresión de CD4 y CXCR4 en los macrófagos polarizados y con la producción de quimiocinas que se unen a CCR5 e impiden la entrada del virus (MIP1 $\alpha$ , MIP1 $\beta$ , RANTES) (46).

## Células dendríticas (DC)

Estas células se pueden clasificar, según su origen y fenotipo, en plasmacitoides o linfoides (pDC), que son las principales productoras de IFN tipo I, y mieloides (mDC), grandes productoras de IL-12 (47). Existen además otras DC denominadas foliculares (fDC) que se localizan principalmente en tejidos linfoides secundarios y se caracterizan por retener los antígenos en su superficie en forma de inmunocomplejos antígeno-anticuerpo mediante el CD23 (Fc $\gamma$ RIIB) o mediante receptores del complemento (CR1/CR2, CD35/CD21) (48). Se ha propuesto que las fDC pueden albergar el VIH-1 que esté formando inmunocomplejos y "protegerlo" de los efectos citotóxicos, con lo que se genera un reservorio (49). Smith y colaboradores encontraron en un modelo murino partículas virales infecciosas retenidas en inmunocomplejos en las fDC de los ratones, las cuales tenían una vida media de dos meses en estas células (50). Además, varios estudios han demostrado la presencia de partículas virales en ganglios linfáticos de pacientes infectados con el VIH-1, las cuales están estrechamente relacionadas con las fDC (50-52). En resumen, las fDC pueden servir como reservorios importantes para el VIH-1, pero se necesitan más estudios para determinar su impacto en el curso de la infección.

## Otros reservorios celulares

Además de las ya mencionadas, se ha planteado que otras células de vida media prolongada pueden servir como reservorios del VIH-1, entre ellas las células madre hematopoyéticas (HSC), cuya susceptibilidad a la infección por el VIH-1 se ha demostrado (53). Por su capacidad de autorrenovación, las HSC pueden permanecer de por vida en la médula ósea (54), lo cual es una característica importante en su papel como reservorio del virus. En un modelo celular, Carter y

colaboradores demostraron que el VIH-1 tiene la capacidad de infectar las HSC, las cuales mueren por la acción citotóxica del virus; sin embargo, algunas pueden albergar el provirus de forma latente. Además, hallaron ADN proviral en HSC de pacientes con VIH-1, las cuales producían viriones al ser activadas con TNF- $\alpha$ , señalando así el papel que estas células tienen como reservorios del VIH-1 (53). Otro estudio llevado a cabo con un modelo de HSC demostró que los niveles de NF- $\kappa$ B eran muy bajos en las células con el provirus integrado, lo cual indica que la poca cantidad de este factor de transcripción puede ser determinante en el establecimiento de la infección latente en las HSC (55). A pesar de la gran cantidad de estudios que respaldan el papel de las HSC como reservorios del VIH-1, en algunos no se ha podido demostrar la presencia de ADN proviral integrado en HSC de pacientes infectados con el VIH-1 (56,57), por lo que la función de estas células como reservorios ha sido discutida y se requieren más investigaciones para verificar esta función y los posibles mecanismos que favorecen el establecimiento en ellas de la infección latente.

Los mastocitos son células que se han considerado como posibles reservorios del VIH-1, debido a que tienen una vida media de aproximadamente 10 meses en los tejidos (58). Varios estudios han demostrado la presencia de ADN proviral en los mastocitos (58,59); sin embargo, también hay estudios que han demostrado que el VIH-1 es incapaz de infectar directamente estas células (58,59). En un modelo celular, Bannert y colaboradores demostraron que la presencia de ADN proviral en los mastocitos se debe a que el VIH-1 es capaz de infectar sus precursores, que son células derivadas de las HSC y que permanecen poco tiempo en la circulación antes de migrar a los tejidos y madurar a mastocitos (59). Sin embargo, un estudio por inmunohistoquímica en biopsias de ganglios linfáticos, cérvix, tracto gastrointestinal, parótidas y nasofaringe no encontró asociación entre los mastocitos y el VIH-1 (60); se requieren más estudios para comprobar si los mastocitos pueden verdaderamente servir como reservorios del VIH-1.

## ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

El estudio de los reservorios del VIH-1 y de los mecanismos de latencia plantea nuevas opciones en el desarrollo de fármacos novedosos con capacidad de

reactivar el virus en estas células, para que sean eliminadas por las células citotóxicas mientras las nuevas infecciones son bloqueadas por la acción de la terapia antirretroviral. Esto permite pensar en una posible curación, esterilizante o funcional, como se ha planteado en estudios recientes (61).

Entre las estrategias contra la latencia está el tratamiento con IL-2 o IL-7, citocinas que tienen la capacidad de reactivar los  $T_{Res}$ ; sin embargo, esta estrategia no ha sido exitosa, pues se ha visto que al reactivar los  $T_{Res}$  se crea un ambiente óptimo para que el VIH-1 se replique e infecte nuevas células (9). Actualmente se está estudiando el efecto de varios agonistas de los TLR, que tienen la capacidad de promover la replicación viral activando el NF- $\kappa$ B. Entre estos se encuentran los oligodesoxinucleótidos con motivos CpG que son reconocidos por el TLR9 (62); la flagelina que es reconocida por el TLR5 (63) y el R-848 que es reconocido por el TLR8 (64); todos ellos tienen la capacidad de reactivar el virus latente sin activar las células (62-64).

Debido a que las HDAC juegan un papel fundamental en el mantenimiento de la latencia, al promover un estado de hipercondensación de la cromatina (32), se ha estudiado el efecto de varios inhibidores de HDAC (HDACi) en la reactivación del VIH-1. Los dos HDACi más estudiados son el ácido valproico (VAC) y el vorinostat (ácido hidroxámico-suberoilánilida) (9). El VAC es un anticonvulsivante que también tiene efecto como HDACi (65,66); no obstante, varios estudios han demostrado que no es muy eficiente en la reactivación del virus latente en  $T_{Res}$  de pacientes infectados con VIH-1 (66-68). El vorinostat tiene mayor capacidad de reactivación viral que el VAC *in vitro*, incluso a concentraciones muy bajas (66,69-71); sin embargo, varios autores cuestionan su potencial benéfico porque no han encontrado efecto en la reactivación del virus latente en  $T_{Res}$  de pacientes infectados con VIH-1 (72). Actualmente se están desarrollando nuevos HDACi que tienen mayor capacidad que el vorinostat; entre estos se encuentra el NCH-51, un derivado del vorinostat, diseñado para tener mejor farmacocinética y menor toxicidad (73). El givinostat (ITF2357) es un fármaco antiinflamatorio y antitumoral que también tiene acción HDACi (74). Matalon y colaboradores demostraron que el givinostat tiene la capacidad de reactivar el VIH-1 en líneas celulares; además, también disminuye los niveles de CCR5 y CXCR4 en monocitos

y linfocitos T CD4 (74). Por último, se ha estudiado el efecto del panobinostat (LBH589), un medicamento experimental para el tratamiento de varios tipos de cáncer, en la reactivación del VIH-1. Un estudio en líneas celulares demostró que el panobinostat reactiva el VIH-1 en mayor proporción que el VAC, el vorinostat y el givinostat; también se demostró que disminuye la expresión de CCR5 en monocitos y de CXCR4 en linfocitos (75). En conjunto, estos resultados destacan la importancia que tienen los HDACi como reactivadores del virus latente; no obstante, se requieren más estudios y ensayos clínicos para confirmar su utilidad *in vivo*.

Por último, también se ha estudiado el efecto de los activadores de la proteína quinasa C (PKC), la cual induce la replicación viral activando el NF- $\kappa$ B (9). El activador de la PKC más estudiado es la prostratina (12-desoxiforbol-13-acetato) aunque se ha demostrado que tiene la capacidad de inducir la transcripción del virus latente, es una droga muy citotóxica, por lo que su uso terapéutico es limitado (9). La briostatina 1 (NSC 339555) (Br1) es otro activador de la PKC; Mehla y colaboradores demostraron que la Br1 es capaz de bloquear la infección por el VIH-1 en un modelo celular, posiblemente por disminución de la expresión de CXCR4 y CCR5; además, demostraron que la capacidad de Br1 para reactivar el virus es mil veces mayor que la del vorinostat y el VAC (76), resultados que resaltan la importancia que tiene este fármaco en la reactivación del VIH-1 latente.

## CONCLUSIÓN

Los reservorios celulares del VIH-1 presentan el mayor obstáculo en la eliminación del virus en el hospedero. A pesar de lo complejo del estudio de los mecanismos de latencia en los reservorios celulares, llegar a comprenderlos es fundamental para desarrollar fármacos que puedan llevar a una posible curación, lo cual sería un beneficio enorme para los cerca de 34 millones de personas con la infección por VIH-1.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. UNAIDS. World AIDS Day Report : results. Geneva: UNAIDS; 2012.
2. GirardMPOsmanovS,AssossouOM,KienyM-PHuman immunodeficiency virus (HIV) immunopathogenesis

- and vaccine development: a review. *Vaccine*. 2011; 29(37):6191–218.
3. Koppensteiner H, Brack-Werner R, Schindler M. Macrophages and their relevance in Human Immunodeficiency Virus Type I infection. *Retrovirology*. 2012;9:82.
  4. Wu L. Biology of HIV mucosal transmission. *Curr Opin HIV AIDS*. 2008;3(5):534–40.
  5. Duncan CJA, Sattentau QJ. Viral determinants of HIV-1 macrophage tropism. *Viruses*. 2011;3(11):2255–79.
  6. Coleman CM, Wu L. HIV interactions with monocytes and dendritic cells: viral latency and reservoirs. *Retrovirology*. 2009;6:51.
  7. Siliciano RF, Greene WC. HIV latency. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011;1(1):a007096.
  8. Pace MJ, Agosto L, Graf EH, O'Doherty U. HIV reservoirs and latency models. *Virology*. 2011;411(2):344–54.
  9. Rasmussen TA, Tolstrup M, Winckelmann A, Østergaard L, Søggaard OS. Eliminating the latent HIV reservoir by reactivation strategies: advancing to clinical trials. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(4):790–9.
  10. Dinoso JB, Kim SY, Wiegand AM, Palmer SE, Gange SJ, Cranmer L, et al. Treatment intensification does not reduce residual HIV-1 viremia in patients on highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(23):9403–8.
  11. Shen L, Siliciano RF. Viral reservoirs, residual viremia, and the potential of highly active antiretroviral therapy to eradicate HIV infection. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;122(1):22–8.
  12. Eisele E, Siliciano RF. Redefining the viral reservoirs that prevent HIV-1 eradication. *Immunity*. 2012;37(3):377–88.
  13. Sahu GK, Lee K, Ji J, Braciale V, Baron S, Cloyd MW. A novel in vitro system to generate and study latently HIV-infected long-lived normal CD4+ T-lymphocytes. *Virology*. 2006;355(2):127–37.
  14. Donahue DA, Wainberg MA. Cellular and molecular mechanisms involved in the establishment of HIV-1 latency. *Retrovirology*. 2013;10:11.
  15. Choudhary SK, Archin NM, Cheema M, Dahl NP, Garcia JV, Margolis DM. Latent HIV-1 infection of resting CD4+ T cells in the humanized Rag2<sup>-/-</sup> γc<sup>-/-</sup> mouse. *J Virol*. 2012;86(1):114–20.
  16. Arlettaz L, Barbey C, Dumont-Girard F, Helg C, Chapuis B, Roux E, et al. CD45 isoform phenotypes of human T cells: CD4(+)CD45RA(-)RO(+) memory T cells re-acquire CD45RA without losing CD45RO. *Eur J Immunol*. 1999;29(12):3987–94.
  17. Schnittman SM, Lane HC, Greenhouse J, Justement JS, Baseler M, Fauci AS. Preferential infection of CD4+ memory T cells by human immunodeficiency virus type 1: evidence for a role in the selective T-cell functional defects observed in infected individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(16):6058–62.
  18. Bleul CC, Wu L, Hoxie JA, Springer TA, Mackay CR. The HIV coreceptors CXCR4 and CCR5 are differentially expressed and regulated on human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(5):1925–30.
  19. Klase Z, Houzet L, Jeang K-T. MicroRNAs and HIV-1: complex interactions. *J Biol Chem*. 2012;287(49):40884–90.
  20. Huang J, Wang F, Argyris E, Chen K, Liang Z, Tian H, et al. Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nat Med*. 2007;13(10):1241–7.
  21. Ahluwalia JK, Khan SZ, Soni K, Rawat P, Gupta A, Hariharan M, et al. Human cellular microRNA hsa-miR-29a interferes with viral nef protein expression and HIV-1 replication. *Retrovirology*. 2008;5:117.
  22. Chiang K, Sung T-L, Rice AP. Regulation of cyclin T1 and HIV-1 Replication by microRNAs in resting CD4+ T lymphocytes. *J Virol*. 2012 ;86(6):3244–52.
  23. Karn J, Stoltzfus CM. Transcriptional and posttranscriptional regulation of HIV-1 gene expression. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(2):a006916.
  24. Triboulet R, Mari B, Lin Y-L, Chable-Bessia C, Bennisser Y, Lebrigand K, et al. Suppression of microRNA-silencing pathway by HIV-1 during virus replication. *Science*. 2007;315(5818):1579–82.
  25. D'Orso I, Frankel AD. Tat acetylation modulates assembly of a viral-host RNA-protein transcription complex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(9):3101–6.
  26. Craigie R, Bushman FD. HIV DNA integration. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(7):a006890.
  27. Llano M, Saenz DT, Meehan A, Wongthida P, Peretz M, Walker WH, et al. An essential role for LEDGF/p75 in HIV integration. *Science*. 2006;314(5798):461–4.

28. Han Y, Lin YB, An W, Xu J, Yang H-C, O'Connell K, et al. Orientation-dependent regulation of integrated HIV-1 expression by host gene transcriptional readthrough. *Cell Host Microbe*. 2008;4(2):134–46.
29. Gallastegui E, Millán-Zambrano G, Terme J-M, Chávez S, Jordan A. Chromatin reassembly factors are involved in transcriptional interference promoting HIV latency. *J Virol*. 2011;85(7):3187–202.
30. Blazkova J, Trejbalova K, Gondois-Rey F, Halfon P, Philibert P, Guiguen A, et al. CpG methylation controls reactivation of HIV from latency. *PLoS Pathog*. 2009;5(8):e1000554.
31. Kauder SE, Bosque A, Lindqvist A, Planelles V, Verdin E. Epigenetic regulation of HIV-1 latency by cytosine methylation. *PLoS Pathog*. 2009;5(6):e1000495.
32. Williams SA, Chen L-F, Kwon H, Ruiz-Jarabo CM, Verdin E, Greene WC. NF-kappaB p50 promotes HIV latency through HDAC recruitment and repression of transcriptional initiation. *EMBO J*. 2006;25(1):139–49.
33. Tyagi M, Pearson RJ, Karn J. Establishment of HIV latency in primary CD4+ cells is due to epigenetic transcriptional silencing and P-TEFb restriction. *J Virol*. 2010;84(13):6425–37.
34. Mikovits JA, Lohrey NC, Schulof R, Courtless J, Russett FW. Activation of infectious virus from latent human immunodeficiency virus infection of monocytes in vivo. *J Clin Invest*. 1992;90(4):1486–91.
35. Lambotte O, Taoufik Y, de Goër MG, Wallon C, Goujard C, Delfraissy JF. Detection of infectious HIV in circulating monocytes from patients on prolonged highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000;23(2):114–9.
36. McElrath MJ, Steinman RM, Cohn ZA. Latent HIV-1 infection in enriched populations of blood monocytes and T cells from seropositive patients. *J Clin Invest*. 1991;87(1):27–30.
37. Dong C, Kwas C, Wu L. Transcriptional restriction of human immunodeficiency virus type 1 gene expression in undifferentiated primary monocytes. *J Virol*. 2009;83(8):3518–27.
38. Armitage AE, Deforche K, Chang C-H, Wee E, Kramer B, Welch JJ, et al. APOBEC3G-induced hypermutation of human immunodeficiency virus type-1 is typically a discrete “all or nothing” phenomenon. *PLoS Genet*. 2012;8(3):e1002550.
39. Triques K, Stevenson M. Characterization of restrictions to human immunodeficiency virus type 1 infection of monocytes. *J Virol*. 2004;78(10):5523–7.
40. Sonza S, Maerz A, Deacon N, Meanger J, Mills J, Crowe S. Human immunodeficiency virus type 1 replication is blocked prior to reverse transcription and integration in freshly isolated peripheral blood monocytes. *J Virol*. 1996;70(6):3863–9.
41. Contreras X, Mzoughi O, Gaston F, Peterlin MB, Bahraoui E. Protein kinase C-delta regulates HIV-1 replication at an early post-entry step in macrophages. *Retrovirology*. 2012;9:37.
42. Liou L-Y, Herrmann CH, Rice AP. Human immunodeficiency virus type 1 infection induces cyclin T1 expression in macrophages. *J Virol*. 2004;78(15):8114–9.
43. Wang X, Ye L, Hou W, Zhou Y, Wang Y-J, Metzger DS, et al. Cellular microRNA expression correlates with susceptibility of monocytes/macrophages to HIV-1 infection. *Blood*. 2009;113(3):671–4.
44. Sung T-L, Rice AP. miR-198 inhibits HIV-1 gene expression and replication in monocytes and its mechanism of action appears to involve repression of cyclin T1. *PLoS Pathog*. 2009;5(1):e1000263.
45. Ellery PJ, Tippett E, Chiu Y-L, Paukovics G, Cameron PU, Solomon A, et al. The CD16+ monocyte subset is more permissive to infection and preferentially harbors HIV-1 in vivo. *J Immunol*. 2007;178(10):6581–9.
46. Cassol E, Cassetta L, Rizzi C, Alfano M, Poli G. M1 and M2a polarization of human monocyte-derived macrophages inhibits HIV-1 replication by distinct mechanisms. *J Immunol*. 2009;182(10):6237–46.
47. Wu L, KewalRamani VN. Dendritic-cell interactions with HIV: infection and viral dissemination. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(11):859–68.
48. El Shikh MEM, Pitzalis C. Follicular dendritic cells in health and disease. *Front Immunol*. 2012;3:292.
49. Burton GF, Keele BF, Estes JD, Thacker TC, Gartner S. Follicular dendritic cell contributions to HIV pathogenesis. *Semin Immunol*. 2002;14(4):275–84.
50. Smith BA, Gartner S, Liu Y, Perelson AS, Stilianakis NI, Keele BF, et al. Persistence of infectious HIV on follicular dendritic cells. *J Immunol*. 2001;166(1):690–6.
51. Herbst H, Niedobitek G, Foss HD, Stein H. Follicular dendritic cells are a major reservoir for human immunodeficiency virus type 1 in lymphoid tissues



- facilitating infection of CD4+ T-helper cells. *Am J Pathol.* 1992;140(1):15–22.
52. Keele BF, Tazi L, Gartner S, Liu Y, Burgon TB, Estes JD, et al. Characterization of the follicular dendritic cell reservoir of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol.* 2008;82(11):5548–61.
  53. Carter CC, Onafuwa-Nuga A, McNamara LA, Riddell J, Bixby D, Savona MR, et al. HIV-1 infects multipotent progenitor cells causing cell death and establishing latent cellular reservoirs. *Nat Med.* 2010;16(4):446–51.
  54. McNamara LA, Collins KL. Hematopoietic stem/precursor cells as HIV reservoirs. *Curr Opin HIV AIDS.* 2011;6(1):43–8.
  55. McNamara LA, Ganesh JA, Collins KL. Latent HIV-1 infection occurs in multiple subsets of hematopoietic progenitor cells and is reversed by NF- $\kappa$ B activation. *J Virol.* 2012;86(17):9337–50.
  56. Durand CM, Ghiur G, Siliciano JD, Rabi SA, Eisele EE, Salgado M, et al. HIV-1 DNA is detected in bone marrow populations containing CD4+ T cells but is not found in purified CD34+ hematopoietic progenitor cells in most patients on antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2012;205(6):1014–8.
  57. Josefsson L, Eriksson S, Sinclair E, Ho T, Killian M, Epling L, et al. Hematopoietic precursor cells isolated from patients on long-term suppressive HIV therapy did not contain HIV-1 DNA. *J Infect Dis.* 2012;206(1):28–34.
  58. Sundstrom JB, Ellis JE, Hair GA, Kirshenbaum AS, Metcalfe DD, Yi H, et al. Human tissue mast cells are an inducible reservoir of persistent HIV infection. *Blood.* 2007;109(12):5293–300.
  59. Bannert N, Farzan M, Friend DS, Ochi H, Price KS, Sodroski J, et al. Human Mast cell progenitors can be infected by macrophagetropic human immunodeficiency virus type 1 and retain virus with maturation in vitro. *J Virol.* 2001;75(22):10808–14.
  60. Nelson AM, Auerbach A, Man Y. Failure to detect active virus replication in mast cells at various tissue sites of HIV patients by immunohistochemistry. *Int J Biol Sci.* 2009;5(6):603–10.
  61. Hansen SG, Piatak M, Ventura AB, Hughes CM, Gilbride RM, Ford JC, et al. Immune clearance of highly pathogenic SIV infection. *Nature.* 2013;502(7469):100–4.
  62. Scheller C, Ullrich A, McPherson K, Hefele B, Knöferle J, Lamla S, et al. CpG oligodeoxynucleotides activate HIV replication in latently infected human T cells. *J Biol Chem.* 2004;279(21):21897–902.
  63. Thibault S, Imbeault M, Tardif MR, Tremblay MJ. TLR5 stimulation is sufficient to trigger reactivation of latent HIV-1 provirus in T lymphoid cells and activate virus gene expression in central memory CD4+ T cells. *Virology.* 2009;389(1-2):20–5.
  64. Schlaepfer E, Speck RF. TLR8 activates HIV from latently infected cells of myeloid-monocytic origin directly via the MAPK pathway and from latently infected CD4+ T cells indirectly via TNF- $\alpha$ . *J Immunol.* 2011;186(7):4314–24.
  65. Lehrman G, Hogue IB, Palmer S, Jennings C, Spina CA, Wiegand A, et al. Depletion of latent HIV-1 infection in vivo: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2005;366(9485):549–55.
  66. Siliciano JD, Lai J, Callender M, Pitt E, Zhang H, Margolick JB, et al. Stability of the latent reservoir for HIV-1 in patients receiving valproic acid. *J Infect Dis.* 2007;195(6):833–6.
  67. Archin NM, Cheema M, Parker D, Wiegand A, Bosch RJ, Coffin JM, et al. Antiretroviral intensification and valproic acid lack sustained effect on residual HIV-1 viremia or resting CD4+ cell infection. *PLoS One.* 2010;5(2):e9390.
  68. Archin NM, Eron JJ, Palmer S, Hartmann-Duff A, Martinson JA, Wiegand A, et al. Valproic acid without intensified antiviral therapy has limited impact on persistent HIV infection of resting CD4+ T cells. *AIDS.* 2008;22(10):1131–5.
  69. Archin NM, Espeseth A, Parker D, Cheema M, Hazuda D, Margolis DM. Expression of latent HIV induced by the potent HDAC inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2009;25(2):207–12.
  70. Archin NM, Liberty AL, Kashuba AD, Choudhary SK, Kuruc JD, Crooks AM, et al. Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on antiretroviral therapy. *Nature.* 2012;487(7408):482–5.
  71. Contreras X, Schwenecker M, Chen C-S, McCune JM, Deeks SG, Martin J, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid reactivates HIV from latently infected cells. *J Biol Chem.* 2009;284(11):6782–9.

72. Blazkova J, Chun T-W, Belay BW, Murray D, Justement JS, Funk EK, et al. Effect of histone deacetylase inhibitors on HIV production in latently infected, resting CD4(+) T cells from infected individuals receiving effective antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2012;206(5):765–9.
73. Victoriano AFB, Imai K, Togami H, Ueno T, Asamitsu K, Suzuki T, et al. Novel histone deacetylase inhibitor NCH-51 activates latent HIV-1 gene expression. *FEBS Lett.* 2011;585(7):1103–11.
74. Matalon S, Palmer BE, Nold MF, Furlan A, Kassu A, Fossati G, et al. The histone deacetylase inhibitor ITF2357 decreases surface CXCR4 and CCR5 expression on CD4(+) T-cells and monocytes and is superior to valproic acid for latent HIV-1 expression in vitro. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010;54(1):1–9.
75. Rasmussen T, Sogaard O, Melchjorsen J, Brinkmann C, Østergaard L, Dinarello C, et al. The Histone Deacetylase Inhibitor (HDACi) panobinostat (LBH589) Stimulates HIV-1 Expression More Potently than Other HDACi in Clinical Use and Disrupts HIV Latency at Clinically Achievable Concentrations. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Seattle, 2012
76. Mehla R, Bivalkar-Mehla S, Zhang R, Handy I, Albrecht H, Giri S, et al. Bryostatins modulates latent HIV-1 infection via PKC and AMPK signaling but inhibits acute infection in a receptor independent manner. *PLoS One.* 2010;5(6):e11160.

