

Factores solubles con actividad antiviral: en búsqueda de nuevos blancos terapéuticos para la infección por el VIH-1

Susana Urquijo Sánchez^{1*}, Natalia Andrea Taborda Vanegas^{1*}, María Teresa Rugeles López¹

RESUMEN

Los mecanismos innatos antivirales han resultado de gran interés debido a su uso potencial para la prevención y tratamiento de la infección por el VIH. En particular, los factores solubles antivirales han sido objeto de múltiples investigaciones por su capacidad de inhibir diferentes pasos del ciclo replicativo viral y de potenciar la respuesta inmune del hospedero. Entre estos factores solubles se destacan TRIM-5 α , APOBEC3G, SAMHD1, ELAFIN, SERPINA1 y SLPI, que actúan directamente sobre la partícula viral o la célula, o promueven la producción de moléculas involucradas en la respuesta inmune contra el virus. Algunos de ellos se han correlacionado con un bajo riesgo de adquirir la infección por el VIH o con una lenta progresión a sida. La exploración de los mecanismos antivirales de estas proteínas es requisito para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas.

PALABRAS CLAVE

Antivirales; Inmunidad; Proteínas Virales; Replicación Viral; Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida; VIH

SUMMARY

Soluble factors with antiviral activity: searching for new therapeutic targets to HIV-1 infection

Antiviral innate mechanisms have a potential use in developing preventive and therapeutic strategies against HIV. Specifically, antiviral soluble factors have been evaluated in multiple investigations, based on their capacity to inhibit different steps of the viral cycle, and to increase the host immune response. Among these factors, TRIM-5 α , APOBEC3G, SAMHD1, ELAFIN, SERPINA1 and SLPI are of particular interest, as they can act directly on the viral particle or the cell, or promote the production of molecules related to the viral immune response. Some of these factors have been associated with a low risk of HIV infection or slow progression to AIDS. Evaluation of mechanisms exhibited by antiviral proteins is a requirement for developing new therapeutic alternatives.

¹ Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

* Las autoras Susana Urquijo y Natalia Taborda contribuyeron por igual a este trabajo.

Correspondencia: María Teresa Rugeles López; maria.rugeles@udea.edu.co

Recibido: diciembre 29 de 2013

Aceptado: mayo 06 de 2014

KEY WORDS

Acquired Immunodeficiency Syndrome; Antivirals; HIV; Immunity; Viral Replication; Viral Proteins

RESUMO

Fatores solúveis com atividade antiviral: em busca de novos alvos terapêuticos para a infecção pelo HIV-1

Os mecanismos inatos antivirais resultaram de grande interesse devido a seu uso potencial para a prevenção e tratamento da infecção pelo HIV. Em particular, os fatores solúveis antivirais foram objeto de múltiplas pesquisas por sua capacidade de inibir diferentes passos do ciclo replicativo viral e de potenciar a resposta imune do hospedeiro. Entre estes fatores solúveis se destacam TRIM-5 α , APOBEC3G, SAMHD1, ELAFIN, SERPINA1 e SLPI, que atuam diretamente sobre a partícula viral ou a célula, ou promovem a produção de moléculas envolvidas na resposta imune contra o vírus. Alguns deles se correlacionaram com um baixo risco de adquirir a infecção pelo HIV ou com uma lenta progressão a aids. A exploração dos mecanismos antivirais destas proteínas é requisito para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas.

PALAVRAS CHAVE

Antivirais; Imunidade; Proteínas Virais; Replicação Viral; Síndrome de Imunodeficiência Adquirida; HIV

INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se ha convertido en un problema mundial de salud pública, que alcanzó en 2012 cerca de 35,3 millones de individuos infectados en el mundo; en ese mismo año se reportaron cerca de 2,3 millones de nuevas infecciones y más de 1,6 millones de muertes asociadas al sida (1).

Se han descrito diferentes mecanismos de resistencia a la infección o a su avance, entre los cuales se destacan factores solubles con actividad antiviral no citotóxica, que pueden actuar en diversos blancos y en distintas etapas del ciclo replicativo, como se describirá más adelante.

Desde hace más de 25 años se vienen estudiando los factores solubles antivirales con el objetivo de establecer nuevos blancos terapéuticos que permitan el desarrollo de nuevos medicamentos para el control de esta infección. De hecho, se están llevando a cabo varios ensayos *in vivo* para evaluar la utilidad de nuevas alternativas terapéuticas desarrolladas con base en los hallazgos de la actividad antiviral *in vitro* de los factores solubles (2-4). Debido a que recientemente algunas de estas proteínas han cobrado un interés particular en la búsqueda de factores protectores contra el VIH, serán objeto de estudio en esta revisión.

EL VIH COMO HUÉSPED HUMANO

La infección se inicia con la interacción de la molécula gp120 del virus con el receptor CD4 expresado principalmente en los linfocitos T (LT), lo cual promueve la interacción del virus con los correceptores virales CCR5 o CXCR4, induce la fusión de la membrana celular con la envoltura viral y permite el ingreso de la cápside y la liberación del genoma viral al citoplasma (5,6). A partir del RNA viral se produce la transcripción inversa mediante la cual la transcriptasa reversa (TR) del virus sintetiza cDNA; se forman entonces regiones no codificantes necesarias para que la integrasa (IN) viral reconozca este cDNA citoplasmático y forme el complejo de preintegración que es transportado hasta el núcleo, donde inserta el cDNA viral al genoma celular. A partir de este momento, el virus emplea la maquinaria celular para favorecer la transcripción del DNA viral y la traducción de las proteínas virales en una cadena larga, que posteriormente es procesada por la proteasa para producir proteínas pequeñas, que son ensambladas y empaquetadas junto con dos cadenas de RNA viral; finalmente, el virión sale de la célula por gemación, e inicia una nueva ronda de replicación (7). Una vez instaurada la infección hay una tasa alta de replicación viral, particularmente en el tejido linfóide asociado a la mucosa del tracto gastrointestinal, induciendo un deterioro progresivo de esta mucosa lo que promueve la translocación de microorganismos y sus productos del intestino a la circulación sistémica; se produce una activación constante de las células del sistema inmune, apoptosis, fibrosis y atrofia de los órganos linfoides. Debido a que la mayor proporción de células que mueren durante la infección por el

VIH no están infectadas, este fenómeno de hiperactivación inmune constituye el principal mecanismo de disfunción y muerte celular que afecta a la gran mayoría de las células del sistema inmune, como linfocitos, células NK y células dendríticas, entre otras. Todos estos fenómenos potencian la pérdida del control de la replicación viral y la aparición del estado de inmunosupresión conocido como sida (8).

Dependiendo de la velocidad de progresión a sida, se han establecido diferentes patrones, que incluyen a los *progresores* rápidos, típicos y lentos (9). También existe otro grupo de individuos denominados controladores, quienes en ausencia de terapia antirretroviral mantienen cargas virales bajas e incluso indetectables (10,11). Finalmente, se han reportado individuos expuestos seronegativos (HESN), que, a pesar de haber estado expuestos de manera persistente al virus por contacto sexual o parenteral, no tienen evidencia clínica de la infección (12). La existencia de individuos que resisten la infección por el VIH ha despertado el interés científico, dado que a partir de la caracterización de los mecanismos responsables del control viral se han propuesto alternativas terapéuticas, algunas de las cuales hacen parte del esquema actual de tratamiento de algunos pacientes infectados con el VIH (13,14).

FACTORES SOLUBLES CON ACTIVIDAD ANTI-VIH

Los factores solubles con actividad anti-VIH actúan a diferentes niveles como se describe a continuación: 1) interactúan con glucanos de la envoltura viral, bloqueando la interacción con receptores celulares (15); 2) interactúan con proteínas de la membrana viral, induciendo degradación proteosomal (16); 3) inhiben diversas proteínas virales, como la transcriptasa reversa, la integrasa y la proteasa, y proteínas celulares como la proteína-cinasa C (PKC) y el complejo proteico NF- κ B, afectando los procesos en los que intervienen (17-20); 4) inducen mutación del genoma viral por deaminación de nucleótidos (21); y 5) promueven el agotamiento de los desoxinucleósido-trifosfato (dNTP) intracelulares durante la infección, inhibiendo la transcripción reversa (22).

Algunos de los factores solubles con actividad inhibidora del VIH son la MBL (lectina unidora de manosa), proteínas del complemento, β -quimiocinas como

RANTES (regulador de activación expresado y secretado en células T), CCL5, MIP1 (proteínas inflamatorias de macrófagos)- α y $-\beta$, IFN (interferón)- γ , TNF (factores de necrosis tumoral)- α y $-\gamma$, α -defensina-1, CAF (factor antiviral derivado de LT CD8), TRIM (motivo tripartito)-5 α , APOBEC (apolipoproteína B, editor enzimático de RNA y catalítico de polipéptidos)-3G, SAMHD (motivo estéril alfa, dominio histidina-aspartico)-1, SERPINA1 (alfa 1-antitripsina), SLPI (inhibidor secretorio de peptidasas leucocitarias) y ELAFIN (inhibidor específico de elastasa), entre otros. En esta revisión nos centraremos en algunos de estos que han cobrado importancia en estudios recientes, debido a su actividad antiviral y su potencial aplicabilidad en medidas farmacológicas que ayuden a contrarrestar la infección (figura 1).

TRIM5- α

TRIM5- α pertenece a la familia de proteínas TRIM, es codificada por el gen REF1 humano y se produce en respuesta al IFN- α . Presenta un anillo con unión de múltiples moléculas de zinc, una caja B, una bobina en espiral y un dominio de ciclofilina o dominio SPRY. Esta proteína se encuentra en cuerpos citoplasmáticos y asociada a microtúbulos celulares, lo que facilita la interacción con el virus en las etapas tempranas de la replicación llevadas a cabo en el citoplasma (23,24).

Distintos informes sugieren que TRIM5- α tiene potencial anti-VIH por medio de su dominio SPRY, que reconoce y se une a las proteínas de la cápside del virión en el citoplasma; posteriormente, el anillo rico en zinc actúa uniendo enzimas de ubiquitinización como la E3 ligasa, desencadenando la unión covalente entre proteínas virales y moléculas del complejo de ubiquitina (16,25). Esta señal activa el complejo del proteosoma para la degradación de las proteínas de la cápside viral, con lo que causa la exposición prematura del RNA y de las proteínas virales, promueve su degradación y afecta los procesos de transcripción inversa y de preintegración viral (26,27). Además de la disminución del número de partículas virales, este proceso potencia la respuesta inmune, ya que, como producto de la degradación de las proteínas del virus, hay una acumulación de péptidos virales que pueden ser presentados a los linfocitos T CD8+ promoviendo su activación (28). Estudios de esta proteína señalan que los niveles de mRNA de TRIM5- α fueron

significativamente mayores en los individuos expuestos al VIH que permanecieron sin infectar, comparados con los que adquirieron la infección; ello sugiere que los niveles elevados de TRIM5- α están asociados con bajo riesgo de adquirir la infección por el VIH (29).

En algunos estudios en humanos, a semejanza de lo descrito en *Macacus rhesus*, una mutación de esta proteína, que se asocia con un aumento de su actividad anti-VIH, se correlacionó con resistencia a la infección (30,31).

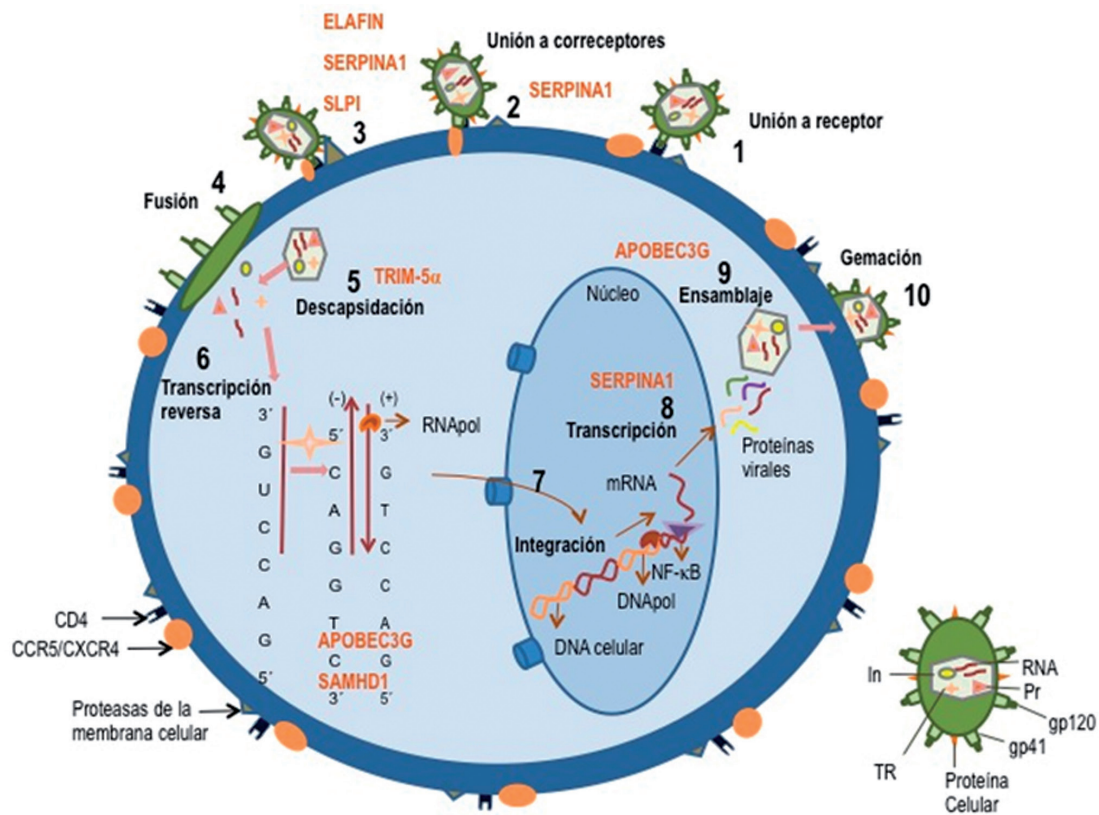


Figura 1. La interacción inicial ocurre entre la glicoproteína viral gp120 y el receptor de membrana celular CD4 (1). Posteriormente, se da la interacción con los correceptores celulares CXCR4 o CCR5 (2); este proceso puede ser inhibido por la SERPINA1 que bloquea la gp41. La interacción del virus con otras proteínas de la membrana celular permite, entre otros, el cambio conformacional del citoesqueleto (3), proceso que puede ser alterado por ELAFIN, SERPINA1 y SLPI, las cuales bloquean proteasas de la membrana de la célula importantes para la fusión, como la elastasa (4). La fusión del virus con la célula permite el ingreso de la cápside al citoplasma, donde TRIM-5 α induce la ubiquitinación y degradación proteosómica de las proteínas de la cápside (5). Durante la transcripción inversa APOBEC3G edita las secuencias de la cadena negativa de cDNA, sustituyendo C por U, mediante un proceso de deaminación, lo que provoca mutaciones que promueven la formación de viriones no infecciosos. Asimismo, SAMHD1 promueve la desfosforilación de los nucleótidos y disminuye la cantidad de dNTP por debajo de los niveles requeridos por la transcriptasa reversa (6). El cDNA viral que resulta de la transcripción inversa, es transportado hasta el núcleo donde se integra al genoma celular (7). Una vez se activa la célula, se inicia la transcripción de los genes virales (8), proceso que puede ser bloqueado por la interacción del fragmento A1-C36 derivado de su precursor SERPINA1, que se transloca al núcleo e interfiere con la actividad de NF- κ B (9). Al superar estas barreras impuestas por la acción de las proteínas antivirales, el ensamblaje de la nueva partícula viral ocurre en el citoplasma, donde APOBEC3G se incorpora junto con las proteínas del virión, lo que le permite ejercer su efecto de manera temprana en las células recién infectadas. Por último, el virus se fusiona nuevamente con la membrana celular para la posterior gemación en busca de nuevas células hospederas (10).

APOBEC3G

APOBEC3G hace parte de la familia APOBEC y es inducida por el IFN- α . Su actividad se da en el citoplasma, específicamente en los cuerpos citoplasmáticos de macrófagos, células dendríticas y linfocitos en respuesta a los retroelementos endógenos, limitando la propagación de infecciones virales como el VIH (32-34). Actúa editando secuencias de RNA y DNA extraños, deaminando citosina (C) a uracilo (U); este cambio conduce a que durante la escisión por reparación de bases se presenten cambios de G por A, acumulando múltiples codones de parada y generando un bloqueo específico en la transcripción inversa; de esta manera se suprime la síntesis de la cadena positiva de cDNA y se induce su degradación por endonucleasas antes de la integración del provirus. APOBEC3G se incorpora selectivamente en la partícula viral, junto con las proteínas virales, para generar mutaciones en el momento en que se inicie la transcripción inversa en la nueva célula hospedera (35). Sin embargo, el virus ha desarrollado mecanismos eficientes para neutralizar la acción de APOBEC3G, por medio de la proteína Vif, que facilita la unión de la ubiquitina-ligasa E3 a APOBEC3G y promueve su degradación proteosomal por medio de la formación del complejo Vif-BC-Cul5. En respuesta, la célula puede aumentar la expresión de APOBEC3G y finalmente contrarrestar el efecto de Vif, en cuyo caso se acumula la producción de mutaciones y viriones no infecciosos y disminuye la viremia (36,37). Recientemente se informó sobre dos moléculas sintéticas denominadas IMB-26 e IMB-35, que tienen la capacidad de inhibir la degradación de APOBEC3G, interrumpiendo la unión de las proteínas del complejo Vif-BC-Cul5 con APOBEC3G y deteniendo así el proceso de degradación proteosomal (38).

Cuando se evalúa el papel de APOBEC en la resistencia natural al VIH, se observa un aumento de su mRNA en HESN y en *progresores* lentos, en comparación con pacientes en fase de sida (39-41), lo que sustenta su papel protector durante la infección por el VIH.

SAMHD-1

SAMHD1 es una proteína inducida por el IFN- α . Se expresa en el núcleo y en el citoplasma de macrófagos, células dendríticas y LT CD4+ (42,43). Presenta dos dominios: SAM, asociado a su actividad exonucleasa,

y HD, asociado a sus actividades exonucleasa y trifosfohidrolasa. Su actividad trifosfohidrolasa se presenta principalmente en células en reposo, en las cuales se encuentra en estado no fosforilado y actúa hidrolizando dATP, dTTP, dCTP, dGTP e incluso dUTP en deoxinucleótido y trifosfato orgánico. En células activadas, SAMHD1 es fosforilada en el residuo 592 por la ciclina celular A2/cdk1 para aumentar los niveles de dNTP, por lo que su actividad antiviral es ineficiente (44). En células en reposo, el ciclo de replicación viral no es completo, por lo que se acumulan en el citoplasma productos de la síntesis de DNA viral y ácidos nucleicos virales, que inducen una respuesta celular que favorece el estado inflamatorio crónico característico de la infección; en este proceso se estimula la producción de IFN- α que actúa disminuyendo la fosforilación de SAMHD1 en las células vecinas activadas y reduciendo los niveles de dNTP disponibles para el virus a niveles menores que los requeridos por la TR para la síntesis del cDNA viral. Su actividad exonucleasa, descrita recientemente, permite la escisión de nucleótidos de las cadenas sencillas de RNA y DNA a partir de sus extremos 3' - 5', induciendo su degradación (45,46).

Durante la infección por el VIH-2, pero no por el VIH-1, SAMHD1 es inhibida en el núcleo por la proteína Vpx (47-49). Para contrarrestar este mecanismo, SAMHD1 presenta formas modificadas en el citoplasma celular que no logran ser degradadas por acción de Vpx, conservando la función antiviral. Además, en las células dendríticas la alta producción de IFN- α bloquea la acción de Vpx, inhibiendo la formación del complejo de degradación (50).

ELAFIN

ELAFIN se deriva del precursor TRAPPIN. Se localiza en el núcleo de neutrófilos y células epiteliales cervicales, a partir de los cuales es secretado a la mucosa vaginal en respuesta a la IL-1 β , al TNF- α y a ciertos microorganismos (51-53). ELAFIN cuenta con una región de unión de transglutaminasa y un dominio C-terminal WAP que inhibe la elastasa de la pared celular, la cual interviene en la fusión de las membranas celular y viral; esta actividad la ejerce tanto en las células que la producen como en sus vecinas, evitando la unión y la transcitosis del VIH a través del tracto vaginal (54,55). Es una molécula quimiotáctica para macrófagos y neutrófilos, disminuye la secreción de

IL-8 y de TNF- α , ayudando a controlar una proteólisis excesiva y reduciendo el proceso inflamatorio y el daño de la barrera epitelial de la mucosa, lo cual limita la propagación del virus (56-58).

Algunas hormonas como el estradiol, cuya secreción varía en las distintas fases del ciclo menstrual, regulan negativamente la producción de ELAFIN y de otros factores protectores en la mucosa vaginal, haciendo más susceptibles a las mujeres a infecciones en algunas etapas de dicho ciclo (59-61).

Se han encontrado concentraciones altas de ELAFIN en el tracto genital de las mujeres que han estado expuestas al VIH y no se han infectado, en comparación con las no expuestas o VIH positivas, lo que ha llevado a sugerir que ELAFIN es un factor innato, relacionado con la protección natural frente a la infección adquirida durante las relaciones vaginales (62,63).

SERPINA1

SERPINA1 es una glicoproteína de la familia de las proteínas inhibidoras de proteasas de la membrana celular como la elastasa y la catepsina G, con las cuales interactúa el virus durante la fusión con la célula. Se produce principalmente en el hígado en respuesta a la IL-6 y la oncostatina M, y en los neutrófilos en respuesta a la IL-1 β , el TNF- α y los lipopolisacáridos (64).

Es secretada en el fluido vaginal, la saliva, la leche y el semen; aumenta en procesos infecciosos e inflamatorios para la protección del tejido, ya que regula la respuesta inmune inhibiendo proteasas y la producción de radicales de oxígeno en los neutrófilos, induciendo la liberación de IL-10 y bloqueando o disminuyendo el TNF- α y quimiocinas como IL-8 y la proteína quimiotáctica de monocitos. Además, promueve la generación de células T reguladoras mediante la disminución de la producción de IL-6. De otro lado, limita la expansión de procesos infecciosos porque estimula la respuesta de linfocitos T citotóxicos (65-69).

En los últimos años la SERPINA1 ha adquirido gran importancia frente a la infección por el VIH, porque se ha demostrado que inhibe la replicación viral *in vivo* e *in vitro* en líneas celulares infectadas. En ausencia de SERPINA1, la gp120 viral interactúa con la elastasa de la membrana celular para la fusión con la célula. SERPINA1 forma un complejo con la elastasa, que

compite con el virus evitando así la fusión, e induciendo un cambio en la conformación de la SERPINA1 que expone dos fragmentos: una región N-terminal y una región C-terminal A1-C36 que es reconocida por receptores de membrana celular, principalmente por CD91. Este proceso lleva a la internalización del complejo hasta el citoplasma, privando a la célula de la elastasa e inhibiendo así la fusión viral; este complejo es degradado por el endosoma, liberando la región A1-C36, que se transloca al núcleo e interfiere con la actividad de NF- κ B, evitando así la transcripción de genes virales (64). SERPINA1 también interactúa directamente con el virus, mediante su región C-proximal; esta fracción se une con la proteína gp41 inhibiendo el proceso de fusión con la célula, sin alterar la expresión de los receptores y correceptores principales CD4, CCR5 y CXCR4. De hecho, en estudios *in vitro* se ha demostrado que la fracción C-proximal de SERPINA1 bloquea la replicación viral de una manera dosis-dependiente (70). En estudios en monocitos infectados con el VIH y tratados con SERPINA1, al igual que en células mononucleares de individuos infectados con el VIH, se ha observado una disminución en la producción del virus (69). Sin embargo, la infección por VIH podría traer como consecuencia la disminución en la producción de esta proteína, tal como se ha reportado en algunos estudios en los que los niveles de SERPINA1 se han encontrado significativamente más bajos en individuos infectados con VIH en comparación con los no infectados, lo que podría limitar su capacidad antiviral (71).

La concentración de SERPINA1 es regulada por las hormonas femeninas: es alta durante la fase menstrual y baja en las mujeres que toman anticonceptivos orales. Esto sugiere que la susceptibilidad de las mujeres a la infección por VIH podría variar dependiendo de la fase hormonal (72).

SLPI

SLPI, miembro de la familia Trappin, es una proteína producida por neutrófilos, macrófagos, células acinares de las glándulas parótidas, submandibulares y submucosas, células epiteliales de las mucosas de los tractos respiratorio y gastrointestinal y queratinocitos orales. Es secretada principalmente en la saliva, aunque también en el fluido seminal, el moco cervical y la leche materna. Se ha sugerido que la interacción

gp120/CD4 induce la producción de SLPI, incluso a bajas concentraciones virales (73). Mediante su dominio C-terminal inhibe proteasas de membrana como la elastasa y la catepsina G, utilizadas por el virus para la fusión con la célula; también inhibe la tripsina y la quimiotripsina, evitando daño en los tejidos (74). Otro posible mecanismo que explica la actividad anti-VIH de SLPI es la inhibición de la fusión y la entrada del virus a la célula, evitando la unión de la fosfatidilserina presente en la envoltura viral con la anexina 2 de la célula. Normalmente la anexina 2 modula la interacción entre el calcio intracelular y la actina del citoesqueleto, permitiendo que ocurra el cambio en la conformación de la membrana celular necesario para la fusión con la envoltura del virus. Además de bloquear la fusión, impide el transporte del complejo de preintegración, como consecuencia de la disminución de la actividad de la actina, y disminuye la producción de nuevas partículas virales al afectar los pasos del ciclo replicativo que se llevan a cabo en las vesículas citoplasmáticas y endosomas tardíos de los macrófagos (75-77). SLPI también puede impedir la transcripción del genoma viral por medio del bloqueo de NF- κ B y ocasionar la pérdida temprana de la envoltura viral por un mecanismo aún no esclarecido (20,78).

La localización ubicua de SLPI le confiere importancia frente a la infección, principalmente en la mucosa oral, donde la propagación del virus es muy limitada; es uno de los inhibidores más potentes del VIH, en comparación con otras proteínas salivales (79). SLPI hace parte de las cinco proteínas más abundantes en la saliva de pacientes HESN que practican regularmente sexo oral receptivo con parejas seropositivas: se lo encuentra aumentado hasta más de dos veces en comparación con individuos sanos. Además, en estudios *in vitro* se ha hecho evidente la actividad inhibidora de la infección en diferentes líneas celulares como monocitos primarios y linfocitos (80-82).

CONCLUSIONES

La evidencia acumulada en diversos estudios señala la importancia de los factores solubles como parte de los mecanismos que ejercen el control del VIH y ayudan a mantener la integridad del tejido, controlando el proceso inflamatorio y finalmente disminuyendo el avance de la infección. Sin embargo, es importante

resaltar los mecanismos virales desarrollados para evadir la acción de estas proteínas, que junto con el deterioro progresivo de los órganos linfoides causado por la replicación viral llevan al colapso del sistema inmune.

Entender mejor los mecanismos de acción de estas proteínas permitirá identificar etapas cruciales y nuevos blancos para bloquear la replicación viral. De esta manera, se podrían diseñar nuevas alternativas terapéuticas con menos efectos secundarios que las actuales terapias antirretrovirales. Se destaca la acción de SAMHD1, ELAFIN, SERPINA1 y SLPI, los cuales interactúan y bloquean la replicación viral de manera más eficiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. UNAIDS. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2013. Geneva: UNAIDS; 2013.
2. Longenecker CT, Hileman CO, Carman TL, Ross AC, Seydafkan S, Brown TT, et al. Vitamin D supplementation and endothelial function in vitamin D deficient HIV-infected patients: a randomized placebo-controlled trial. *Antivir Ther*. 2012 Jan;17(4):613-21.
3. Ramjee G, Kamali A, McCormack S. The last decade of microbicide clinical trials in Africa: from hypothesis to facts. *AIDS*. 2010 Oct;24 Suppl 4:S40-9.
4. Santa-Marta M, de Brito PM, Godinho-Santos A, Gonçalves J. Host Factors and HIV-1 Replication: Clinical Evidence and Potential Therapeutic Approaches. *Front Immunol*. 2013 Jan;4:343.
5. Santana A, Domínguez C, Lemes A, Molero T, Salido E. Biología celular y molecular del virus de inmunodeficiencia humana (VIH). *Rev Diagn Biol*. 2003;52(1):7-18.
6. Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JS, Clapham PR, Weiss RA, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell*. 1986 Nov 7;47(3):333-48.
7. Freed EO. HIV-1 replication. *Somat Cell Mol Genet*. 2001 Nov;26(1-6):13-33.
8. Klatt NR, Chomont N, Douek DC, Deeks SG. Immune activation and HIV persistence: implications for curative approaches to HIV infection. *Immunol Rev*. 2013 Jul;254(1):326-42.

9. Ameli M GI, Gutiérrez G C del R. Infección por VIH-1 en pacientes no progresores a largo tiempo. *INHRR*. 2007;38(2):55–61.
10. Blankson JN. Effector mechanisms in HIV-1 infected elite controllers: highly active immune responses? *Antiviral Res*. 2010 Jan;85(1):295–302.
11. Groves KC, Bibby DF, Clark DA, Isaksen A, Deayton JR, Anderson J, et al. Disease Progression in HIV-1-Infected Viremic Controllers. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2012 Dec 1;61(4):407–16.
12. Miyazawa M, Lopalco L, Mazzotta F, Lo Caputo S, Veas F, Clerici M. The “immunologic advantage” of HIV-exposed seronegative individuals. *AIDS*. 2009 Jan 14;23(2):161–75.
13. de la Tribonnière X, Yazdanpanah Y, Reynes J. [CCR5 antagonists: a new class of antiretrovirals]. *Med Mal Infect*. 2008 Mar;38 Suppl 1:S1–6.
14. Lee AW, Truong T, Bickham K, Fonteneau J-F, Larsson M, Da Silva I, et al. A clinical grade cocktail of cytokines and PGE2 results in uniform maturation of human monocyte-derived dendritic cells: implications for immunotherapy. *Vaccine*. 2002 Dec 19;20 Suppl 4:A8–A22.
15. Nittayananta W, Kemapunmanus M, Yangngam S, Talungchit S, Sriplung H. Expression of oral secretory leukocyte protease inhibitor in HIV-infected subjects with long-term use of antiretroviral therapy. *J Oral Pathol Med*. 2013 Mar;42(3):208–15.
16. Grütter MG, Luban J. TRIM5 structure, HIV-1 capsid recognition, and innate immune signaling. *Curr Opin Virol*. 2012 Apr;2(2):142–50.
17. Vandegraaff N, Engelman A. Molecular mechanisms of HIV integration and therapeutic intervention. *Expert Rev Mol Med*. 2007 Jan;9(6):1–19.
18. Cereseto A, Manganaro L, Gutierrez MI, Terreni M, Fittipaldi A, Lusic M, et al. Acetylation of HIV-1 integrase by p300 regulates viral integration. *EMBO J*. 2005 Sep 7;24(17):3070–81.
19. Vallur AC, Yabuki M, Larson ED, Maizels N. AID in antibody perfection. *Cell Mol Life Sci*. 2007 Mar;64(5):555–65.
20. Taggart CC, Cryan S-A, Weldon S, Gibbons A, Greene CM, Kelly E, et al. Secretory leucoprotease inhibitor binds to NF- κ B binding sites in monocytes and inhibits p65 binding. *J Exp Med*. 2005 Dec 19;202(12):1659–68.
21. White TE, Brandariz-Nuñez A, Valle-Casuso JC, Amie S, Nguyen L, Kim B, et al. Contribution of SAM and HD domains to retroviral restriction mediated by human SAMHD1. *Virology*. 2013 Feb 5;436(1):81–90.
22. Prado-Montes de Oca E. [Human defensins: prophylaxis and therapy against HIV?]. *Gac Med Mex*. 2006;142(5):431–3.
23. Perez-Caballero D, Hatzioannou T, Zhang F, Cowan S, Bieniasz PD. Restriction of human immunodeficiency virus type 1 by TRIM-CypA occurs with rapid kinetics and independently of cytoplasmic bodies, ubiquitin, and proteasome activity. *J Virol*. 2005 Dec;79(24):15567–72.
24. Short KM, Cox TC. Subclassification of the RBCC/TRIM superfamily reveals a novel motif necessary for microtubule binding. *J Biol Chem*. 2006 Mar 31;281(13):8970–80.
25. Rold CJ, Aiken C. Proteasomal degradation of TRIM5 α during retrovirus restriction. *PLoS Pathog*. 2008 May;4(5):e1000074.
26. Forshey BM, von Schwedler U, Sundquist WI, Aiken C. Formation of a human immunodeficiency virus type 1 core of optimal stability is crucial for viral replication. *J Virol*. 2002 Jun;76(11):5667–77.
27. Stremmler M, Perron M, Lee M, Li Y, Song B, Javanbakht H, et al. Specific recognition and accelerated uncoating of retroviral capsids by the TRIM5 α restriction factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Apr 4;103(14):5514–9.
28. Hochstrasser M. Ubiquitin, proteasomes, and the regulation of intracellular protein degradation. *Curr Opin Cell Biol*. 1995 Apr;7(2):215–23.
29. Sewram S, Singh R, Kormuth E, Werner L, Mlisana K, Karim SSA, et al. Human TRIM5 α expression levels and reduced susceptibility to HIV-1 infection. *J Infect Dis*. 2009 Jun 1;199(11):1657–63.
30. Yap MW, Nisole S, Stoye JP. A single amino acid change in the SPRY domain of human Trim5 α leads to HIV-1 restriction. *Curr Biol*. 2005 Jan 11;15(1):73–8.
31. Price H, Lacap P, Tuff J, Wachihi C, Kimani J, Ball TB, et al. A TRIM5 α exon 2 polymorphism is associated with protection from HIV-1 infection in the Pumwani sex worker cohort. *AIDS*. 2010 Jul 31;24(12):1813–21.
32. Gallois-Montbrun S, Kramer B, Swanson CM, Byers H, Lynham S, Ward M, et al. Antiviral protein APOBEC3G

- localizes to ribonucleoprotein complexes found in P bodies and stress granules. *J Virol.* 2007 Mar;81(5):2165–78.
33. Bennett RP, Presnyak V, Wedekind JE, Smith HC. Nuclear Exclusion of the HIV-1 host defense factor APOBEC3G requires a novel cytoplasmic retention signal and is not dependent on RNA binding. *J Biol Chem.* 2008 Mar 21;283(12):7320–7.
 34. Okeoma CM, Huegel AL, Lingappa J, Feldman MD, Ross SR. APOBEC3 proteins expressed in mammary epithelial cells are packaged into retroviruses and can restrict transmission of milk-borne virions. *Cell Host Microbe.* 2010 Dec 16;8(6):534–43.
 35. Svarovskaia ES, Xu H, Mbisa JL, Barr R, Gorelick RJ, Ono A, et al. Human apolipoprotein B mRNA-editing enzyme-catalytic polypeptide-like 3G (APOBEC3G) is incorporated into HIV-1 virions through interactions with viral and nonviral RNAs. *J Biol Chem.* 2004 Aug 20;279(34):35822–8.
 36. Shirakawa K, Takaori-Kondo A, Kobayashi M, Tomonaga M, Izumi T, Fukunaga K, et al. Ubiquitination of APOBEC3 proteins by the Vif-Cullin5-ElonginB-ElonginC complex. *Virology.* 2006 Jan 20;344(2):263–6.
 37. Reddy K, Winkler CA, Werner L, Mlisana K, Abdool Karim SS, Ndung'u T. APOBEC3G expression is dysregulated in primary HIV-1 infection and polymorphic variants influence CD4+ T-cell counts and plasma viral load. *AIDS.* 2010 Jan 16;24(2):195–204.
 38. Cen S, Peng Z-G, Li X-Y, Li Z-R, Ma J, Wang Y-M, et al. Small molecular compounds inhibit HIV-1 replication through specifically stabilizing APOBEC3G. *J Biol Chem.* 2010 May 28;285(22):16546–52.
 39. Vázquez-Pérez JA, Ormsby CE, Hernández-Juan R, Torres KJ, Reyes-Terán G. APOBEC3G mRNA expression in exposed seronegative and early stage HIV infected individuals decreases with removal of exposure and with disease progression. *Retrovirology.* 2009 Jan;6:23.
 40. Biasin M, Piacentini L, Lo Caputo S, Kanari Y, Magri G, Trabattoni D, et al. Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3G: a possible role in the resistance to HIV of HIV-exposed seronegative individuals. *J Infect Dis.* 2007 Apr 1;195(7):960–4.
 41. Zhao M, Geng W, Jiang Y, Han X, Cui H, Dai D, et al. The associations of hA3G and hA3B mRNA levels with HIV disease progression among HIV-infected individuals of China. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010 Feb;53 Suppl 1:S4–9.
 42. Laguette N, Sobhian B, Casartelli N, Ringeard M, Chable-Bessia C, Ségéral E, et al. SAMHD1 is the dendritic- and myeloid-cell-specific HIV-1 restriction factor counteracted by Vpx. *Nature.* 2011 Jun 30;474(7353):654–7.
 43. Descours B, Cribier A, Chable-Bessia C, Ayinde D, Rice G, Crow Y, et al. SAMHD1 restricts HIV-1 reverse transcription in quiescent CD4(+) T-cells. *Retrovirology.* 2012 Jan;9:87.
 44. Cribier A, Descours B, Valadão ALC, Laguette N, Benkirane M. Phosphorylation of SAMHD1 by cyclin A2/CDK1 regulates its restriction activity toward HIV-1. *Cell Rep.* 2013 Apr 25;3(4):1036–43.
 45. Amie SM, Bambara RA, Kim B. GTP is the primary activator of the anti-HIV restriction factor SAMHD1. *J Biol Chem.* 2013 Aug 30;288(35):25001–6.
 46. Beloglazova N, Flick R, Tchigvintsev A, Brown G, Popovic A, Nocek B, et al. Nuclease activity of the human SAMHD1 protein implicated in the Aicardi-Goutieres syndrome and HIV-1 restriction. *J Biol Chem.* 2013 Mar 22;288(12):8101–10.
 47. Laguette N, Rahm N, Sobhian B, Chable-Bessia C, Münch J, Snoeck J, et al. Evolutionary and functional analyses of the interaction between the myeloid restriction factor SAMHD1 and the lentiviral Vpx protein. *Cell Host Microbe.* 2012 Feb 16;11(2):205–17.
 48. Ahn J, Hao C, Yan J, DeLucia M, Mehrens J, Wang C, et al. HIV/simian immunodeficiency virus (SIV) accessory virulence factor Vpx loads the host cell restriction factor SAMHD1 onto the E3 ubiquitin ligase complex CRL4DCAF1. *J Biol Chem.* 2012 Apr 6;287(15):12550–8.
 49. Hofmann H, Logue EC, Bloch N, Daddacha W, Polsky SB, Schultz ML, et al. The Vpx lentiviral accessory protein targets SAMHD1 for degradation in the nucleus. *J Virol.* 2012 Dec;86(23):12552–60.
 50. Bloch N, O'Brien M, Norton TD, Polsky SB, Bhardwaj N, Landau NR. HIV type 1 infection of plasmacytoid and myeloid dendritic cells is restricted by high levels of SAMHD1 and cannot be counteracted by Vpx. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2014 Feb;30(2):195–203.
 51. Bobardt MD, Chatterji U, Selvarajah S, Van der Schueren B, David G, Kahn B, et al. Cell-free human immunodeficiency virus type 1 transcytosis

- through primary genital epithelial cells. *J Virol*. 2007 Jan;81(1):395–405.
52. King AE, Critchley HOD, Kelly RW. Innate immune defences in the human endometrium. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003 Nov 28;1:116.
 53. Drannik AG, Nag K, Yao X-D, Henrick BM, Sallenave J-M, Rosenthal KL. Trappin-2/elafin modulate innate immune responses of human endometrial epithelial cells to PolyI:C. *PLoS One*. 2012 Jan;7(4):e35866.
 54. Sallenave JM, Shulmann J, Crossley J, Jordana M, Gauldie J. Regulation of secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI) and elastase-specific inhibitor (ESI/elafin) in human airway epithelial cells by cytokines and neutrophilic enzymes. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994 Dec;11(6):733–41.
 55. Drannik AG, Nag K, Yao X-D, Henrick BM, Ball TB, Plummer FA, et al. Anti-HIV-1 activity of elafin depends on its nuclear localization and altered innate immune activation in female genital epithelial cells. *PLoS One*. 2012 Jan;7(12):e52738.
 56. Baranger K, Zani M-L, Chandener J, Dallet-Choisy S, Moreau T. The antibacterial and antifungal properties of trappin-2 (pre-elafin) do not depend on its protease inhibitory function. *FEBS J*. 2008 May;275(9):2008–20.
 57. Ghosh M, Shen Z, Fahey J V, Cu-Uvin S, Mayer K, Wira CR. Trappin-2/Elafin: a novel innate anti-human immunodeficiency virus-1 molecule of the human female reproductive tract. *Immunology*. 2010 Feb;129(2):207–19.
 58. Nazli A, Chan O, Dobson-Belaire WN, Ouellet M, Tremblay MJ, Gray-Owen SD, et al. Exposure to HIV-1 directly impairs mucosal epithelial barrier integrity allowing microbial translocation. *PLoS Pathog*. 2010 Apr;6(4):e1000852.
 59. Patel M V, Fahey J V, Rossoll RM, Wira CR. Innate immunity in the vagina (part I): estradiol inhibits HBD2 and elafin secretion by human vaginal epithelial cells. *Am J Reprod Immunol*. 2013 May;69(5):463–74.
 60. John M, Keller MJ, Fam EH, Cheshenko N, Hogarty K, Kasowitz A, et al. Cervicovaginal secretions contribute to innate resistance to herpes simplex virus infection. *J Infect Dis*. 2005 Nov 15;192(10):1731–40.
 61. King AE, Critchley HOD, Sallenave J-M, Kelly RW. Elafin in human endometrium: an antiprotease and antimicrobial molecule expressed during menstruation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Sep;88(9):4426–31.
 62. Jasinghe VJ, Peyrotte EA, Meyers AFA, Gajanayaka N, Ball TB, Sandstrom P, et al. Human rElafin Inhibits HIV-1 Replication in Its Natural Target Cells. *Biores Open Access*. 2013 Apr;2(2):128–37.
 63. Iqbal SM, Ball TB, Levinson P, Maranan L, Jaoko W, Wachihhi C, et al. Elevated elafin/trappin-2 in the female genital tract is associated with protection against HIV acquisition. *AIDS*. 2009 Aug 24;23(13):1669–77.
 64. Congote LF. Serpin A1 and CD91 as host instruments against HIV-1 infection: are extracellular antiviral peptides acting as intracellular messengers? *Virus Res*. 2007 May;125(2):119–34.
 65. Clemmensen SN, Jacobsen LC, Rørvig S, Askaa B, Christenson K, Iversen M, et al. Alpha-1-antitrypsin is produced by human neutrophil granulocytes and their precursors and liberated during granule exocytosis. *Eur J Haematol*. 2011 Jun;86(6):517–30.
 66. Lewis EC, Mizrahi M, Toledano M, Defelice N, Wright JL, Churg A, et al. alpha1-Antitrypsin monotherapy induces immune tolerance during islet allograft transplantation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Oct 21;105(42):16236–41.
 67. Pott GB, Chan ED, Dinarello CA, Shapiro L. Alpha-1-antitrypsin is an endogenous inhibitor of proinflammatory cytokine production in whole blood. *J Leukoc Biol*. 2009 May;85(5):886–95.
 68. Bucurenci N, Blake DR, Chidwick K, Winyard PG. Inhibition of neutrophil superoxide production by human plasma alpha 1-antitrypsin. *FEBS Lett*. 1992 Mar 23;300(1):21–4.
 69. Lewis EC. Expanding the clinical indications for alpha(1)-antitrypsin therapy. *Mol Med*. 2012 Jan;18:957–70.
 70. Münch J, Ständker L, Adermann K, Schulz A, Schindler M, Chinnadurai R, et al. Discovery and optimization of a natural HIV-1 entry inhibitor targeting the gp41 fusion peptide. *Cell*. 2007 Apr 20;129(2):263–75.
 71. Bryan CL, Beard KS, Pott GB, Rahkola J, Gardner EM, Janoff EN, et al. HIV infection is associated with reduced serum alpha-1-antitrypsin concentrations. *Clin Invest Med*. 2010 Jan;33(6):E384–9.
 72. Rahman S, Rabbani R, Wachihhi C, Kimani J, Plummer FA, Ball TB, et al. Mucosal serpin A1 and A3 levels in HIV highly exposed sero-negative women are affected

- by the menstrual cycle and hormonal contraceptives but are independent of epidemiological confounders. *Am J Reprod Immunol*. 2013 Jan;69(1):64–72.
73. Doumas S, Kolokotronis A, Stefanopoulos P. Anti-inflammatory and antimicrobial roles of secretory leukocyte protease inhibitor. *Infect Immun*. 2005 Mar;73(3):1271–4.
74. Jana NK, Gray LR, Shugars DC. Human immunodeficiency virus type 1 stimulates the expression and production of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in oral epithelial cells: a role for SLPI in innate mucosal immunity. *J Virol*. 2005 May;79(10):6432–40.
75. Ma G, Greenwell-Wild T, Lei K, Jin W, Swisher J, Hardegen N, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor binds to annexin II, a cofactor for macrophage HIV-1 infection. *J Exp Med*. 2004 Nov 15;200(10):1337–46.
76. Gaudin R, Berre S, Cunha de Alencar B, Decalf J, Schindler M, Gobert F-X, et al. Dynamics of HIV-containing compartments in macrophages reveal sequestration of virions and transient surface connections. *PLoS One*. 2013 Jan;8(7):e69450.
77. Zobiack N, Rescher U, Laarmann S, Michgehl S, Schmidt MA, Gerke V. Cell-surface attachment of pedestal-forming enteropathogenic *E. coli* induces a clustering of raft components and a recruitment of annexin 2. *J Cell Sci*. 2002 Jan 1;115(Pt 1):91–8.
78. McNeely TB, Shugars DC, Rosendahl M, Tucker C, Eisenberg SP, Wahl SM. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 infectivity by secretory leukocyte protease inhibitor occurs prior to viral reverse transcription. *Blood*. 1997 Aug 1;90(3):1141–9.
79. Wahl SM, McNeely TB, Janoff EN, Shugars D, Worley P, Tucker C, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in mucosal fluids inhibits HIV-1. *Oral Dis*. 1997 May;3 Suppl 1:S64–9.
80. Kazmi SH, Naglik JR, Sweet SP, Evans RW, O'Shea S, Banatvala JE, et al. Comparison of human immunodeficiency virus type 1-specific inhibitory activities in saliva and other human mucosal fluids. *Clin Vaccine Immunol*. 2006 Oct;13(10):1111–8.
81. Burgener A, Mogk K, Westmacott G, Plummer F, Ball B, Broliden K, et al. Salivary basic proline-rich proteins are elevated in HIV-exposed seronegative men who have sex with men. *AIDS*. 2012 Sep 24;26(15):1857–67.
82. Shugars DC, Sauls DL, Weinberg JB. Secretory leukocyte protease inhibitor blocks infectivity of primary monocytes and mononuclear cells with both monocytoprotropic and lymphocytoprotropic strains of human immunodeficiency virus type I. *Oral Dis*. 1997 May;3 Suppl 1:S70–2.

