

Proteínas del huésped incorporadas en el Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH-1)

Host proteins incorporated by the Human Immunodeficiency Virus (HIV-1)

Dayane Canedo de León¹, Gregorio Sánchez Jiménez¹, Guillermo Cervantes-Acosta²

Resumen

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), como la mayoría de los virus envueltos, toma esta estructura cuando abandona la célula infectada. El virus adquiere durante este proceso, junto con fragmentos de la membrana de la célula huésped, proteínas derivadas de la membrana celular como parte integral de la envoltura madura. Estos componentes de la envoltura viral derivados del huésped pueden ejercer algunos efectos en el ciclo de vida del virus, en la interacción virus-célula, especialmente en la respuesta del huésped a sus propias proteínas incorporadas por el virus y, finalmente, en la patogénesis de la enfermedad inducida por el virus. El rol de estas proteínas ha recibido cada día más atención, específicamente en la importancia que puedan tener en el proceso infeccioso viral y en el desarrollo del Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). El objetivo de este artículo es hacer una revisión de las proteínas del huésped que son incorporadas por el VIH, haciendo énfasis en el rol potencial de estas proteínas en la patogénesis del SIDA.

Palabras claves: VIH, proteínas del huésped, SIDA, envoltura viral.

Abstract

The Human Immunodeficiency Virus (HIV), as most of enveloped virus, acquires its envelope during the process of abandoning the infected cell. During this process, the virus acquires, along with segments of the membrane of the host cell, proteins derived from the cellular membrane as an integral part of the mature envelope. These components of the viral envelope derived from the host cell can exert some effects on the virus life cycle; on the

Fecha de recepción: 9 de enero de 2008
Fecha de aceptación: 13 de febrero de 2008

¹ Bacteriólogo. Especialista en Biomedicina Molecular.

² Departamento de Medicina, División Salud, Universidad del Norte, Barranquilla (Colombia). Grupo de Investigación en Virología y Patologías Asociadas.

Correspondencia: Departamento de Medicina, Universidad del Norte, Km 5, vía a Puerto Colombia, Barranquilla (Colombia). guicerva@uninorte.edu.co

virus-cell interaction, especially on the response of the host to its own proteins incorporated by the virus; and, finally, on the pathogenesis of the illness induced by the virus. The role of these proteins is getting more attention every day, specifically due to the importance they may have in the infectious viral process and in the development of the Acquired Immuno-deficiency Syndrome (AIDS). The goal of the present article is to revise the host proteins incorporated by the HIV, placing particular emphasis on the potential role of these proteins in the pathogenesis of AIDS.

Key words: HIV, host proteins, AIDS, viral envelope.

INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) es una enfermedad caracterizada por el deterioro del sistema inmunitario, de tal manera que las personas infectadas pueden también ser afectadas por diversas enfermedades causadas por microorganismos llamados oportunistas. El agente causal de esta enfermedad es un retrovirus clasificado dentro del género de los lentivirus conocido como Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). Existen dos tipos de VIH: el VIH tipo 1 y el VIH tipo 2 (1, 2).

PROTEINAS DEL HUÉSPED INCORPORADAS POR EL VIH

El VIH, como la mayoría de los virus envueltos, adquiere proteínas de la membrana de la célula huésped cuando abandona la célula infectada. Obteniendo preparaciones altamente purificadas del VIH, se han podido identificar proteínas que se encuentran asociadas a la envoltura de los viriones. Esta identificación se ha logrado, entre otras técnicas, mediante la utilización de métodos inmunológicos, inmunoprecipitación del virus completo o métodos de captura con anticuerpos. De las proteínas encontradas, se pueden citar las que corresponden al complejo mayor de histocompatibilidad, CMH clase II subtipo DR, aunque en menor cantidad se han encontrado también los subtipos DP y DQ. Igualmente,

se han encontrado moléculas del CMH clase I, proteínas de adhesión como la ICAM-1 y su receptor LFA-1. Los antígenos de superficie celular, normalmente involucrados en los procesos de señalización de células T, como son, CD8, CD25, CD30, CD44, CD43, CD46, CD55, CD59, CD63, CD71, CD80, CD81 y CD86, también han sido estudiados en este contexto. Todas estas moléculas se localizan hacia el exterior de la envoltura del virus (3).

También se encuentran proteínas de la célula huésped adquiridas por el VIH, localizadas en el interior del virión. La detección e identificación por métodos de captura del virus completo han fallado para estas proteínas debido a que se encuentran secuestradas dentro de la envoltura lipídica. Esto ha hecho difícil diferenciarlas de aquellas contaminantes que copurifican con el virus (4). Sin embargo, últimamente se han usado técnicas de biología molecular que han permitido conocer más acerca de las proteínas del huésped que componen internamente el VIH-1. El método más eficientemente desarrollado de purificación viral que ha permitido separar las partículas virales de las microvesículas contaminantes es el desarrollado por el grupo de Ott y colaboradores utilizando gradientes de centrifugación combinadas con técnicas de exclusión mediante inmunoafinidad basada en la proteína CD45 que permite la eliminación de las microvesículas contenedoras de CD45, una proteína integral de membrana encontra-

da asociada a las microvesículas pero que es excluida de la partícula viral. Mediante este método se logró identificar un gran número de nuevas proteínas incorporadas al virión del VIH, como también muchas que ya habían sido identificadas previamente (5).

Las moléculas de adhesión son proteínas responsables de la interacción intercelular y la transducción de señales reguladoras de la transcripción celular. La molécula de adhesión ICAM-1 se encuentra en la mayoría de las células hematopoyéticas y numerosas células no hematopoyéticas, y su expresión se encuentra aumentada en las células T y B activadas. Su receptor es la molécula LFA-1, la unión de LFA-1 a ICAM-1 es el tipo más importante de interacción entre moléculas de adhesión. Esta asociación capacita a las células del sistema inmune para interactuar con otras células, lo cual incrementa la capacidad de contacto intercelular. La presencia de moléculas de adhesión derivadas del huésped en el VIH se convierte en una pieza importante para el virus actuando como moléculas accesorias en el proceso de infección (6, 7).

Con respecto a la base molecular de la incorporación de ICAM-1 en los viriones, se ha demostrado que la adquisición selectiva de ICAM-1 del huésped por el VIH-1 ocurre mediante una asociación entre el tallo citoplasmático de ICAM-1 y la proteína Pr55Gag del virión (8). Esta interacción es estable, debido a que se mantuvo aun después del tratamiento con un fuerte detergente. Pero el proceso mismo de incorporación de la molécula no está muy claro, aunque se han propuesto dos mecanismos. El primero propone una interacción directa entre ICAM-1 y Pr55Gag, mientras que el segundo propone la participación de un complejo de interacciones indirectas; es decir, el tallo citoplasmático de

ICAM-1 podría estar conectado con la proteína ezrina. La ezrina unida a la actina de la membrana plasmática podría mediar un enlace con la actina cortical. Este complejo multimolecular debe estar incorporado en los viriones nacientes, debido a que se ha indicado una interacción entre Gag del VIH-1 y los filamentos de actina de la célula infectada, por lo tanto, se ha propuesto que los sitios de ensamblaje en la membrana plasmática estarán enriquecidos con complejos de proteína compuestos de ICAM-1, ezrina, F-actina y precursores Gag del VIH-1 (8).

Se ha determinado que la molécula ICAM-1 es incorporada por los viriones VIH recién formados cuando brotan de la célula huésped. Esta molécula es biológicamente activa y su actividad se ha relacionado directamente con la infectividad viral, es decir, aquellos viriones que incorporen ICAM-1 del huésped se constituyen en partículas con mayor infectividad. El mecanismo por medio del cual ejercen esta acción es favoreciendo los primeros pasos del ciclo replicativo del virus (9). Estudios sobre esta molécula encontraron que luego de la exposición de células a viriones que contienen ICAM-1, los niveles de p24 citosólica alcanzaron un alto valor comparados con los niveles de p24 citosólica obtenida en la infección con partículas desprovistas de ICAM-1. El incremento en la distribución de p24 citosólica está relacionado a verdaderos procesos de infección, y sugiere que la incorporación de ICAM-1 lleva a los virus hacia una ruta de entrada que conduce a una infección más productiva (10).

Una evidencia adicional de la importancia de la interacción ICAM-1-LFA-1 en el proceso de infección se demostró por el hecho que células preincubadas con un anticuerpo anti LFA-1 (MEM30) que se sabe interfiere en

la unión de ICAM-1-LFA-1, puede también eliminar el incremento en la infectividad del VIH-1 de los viriones ICAM-1 positivos (9). La constante de afinidad determinada para la unión de ICAM-1 multimérica a LFA-1 es similar a la constante de afinidad que existe para la unión gp120-CD4. Esto podría explicar la influencia positiva observada en el ciclo replicativo del virus debido a que se facilita el proceso de ataque y entrada a la célula (11, 12, 13).

El receptor fisiológico de ICAM-1 es un miembro de la familia de las integrinas que está principalmente expresado en linfocitos, granulocitos, monocitos y macrófagos con elevados niveles en células T de memoria. Los viriones que contengan ICAM-1 tendrán una mayor capacidad de fijación y ataque a las células blanco que expresan LFA-1, debido a la interacción de la molécula de adhesión con su receptor natural (14). La demostración de que el tratamiento de viriones positivos para ICAM-1 con un anticuerpo anti ICAM-1 (RR1/1.1.1) puede anular el incremento en la infectividad de dichos viriones es otra evidencia de la infectividad mediada por ICAM-1, ya que este anticuerpo actúa bloqueando la interacción célula-célula dependiente de ICAM-1-LFA-1 (9). Esto es de suma importancia debido a que estas moléculas de adhesión se pueden convertir en un blanco de neutralización en la terapéutica de la infección por el VIH. Componentes como las estatinas, drogas usadas en el tratamiento de la hipercolesterolemia, han demostrado bloquear la unión ICAM-1-LFA-1, lo cual previene el cambio conformacional de LFA-1 a la forma activada, lo que impediría la replicación de las partículas de VIH-1 que contengan ICAM-1, por lo tanto las estatinas podrían representar una nueva estrategia para la terapia de la infección por el VIH-1 (15, 16).

Se ha determinado que el péptido sintético T20 puede bloquear la entrada del VIH-1 a la célula blanco debido a su capacidad de inhibir la fusión de la envoltura viral a la membrana celular. La sensibilidad del virus a esta droga es afectada por la inserción de la molécula ICAM-1 en el VIH-1, como se demostró por el hecho de que los viriones que contienen ICAM-1 son más resistentes a T20 que aquellos que no contienen esta molécula. (17). Este efecto se pierde cuando las interacciones ICAM-1-LFA-1 son bloqueadas por anticuerpos. Lo que demuestra una vez más el papel que tiene la interacción ICAM-1-LFA-1 sobre la entrada del virus a la célula (17).

Es interesante que los viriones ICAM-1 positivos podrían ser menos dependientes de las interacciones gp120-CD4 para el ataque celular; por lo tanto, anticuerpos dirigidos contra gp120 que interfieran con la unión a CD4 podrían ser menos efectivos en la neutralización de partículas virales que contengan ICAM-1. El mejoramiento en la eficiencia de replicación de los viriones que contienen ICAM-1 prácticamente reduce la eficacia de los anticuerpos dirigidos contra gp120, y así pueden contribuir a la capacidad del VIH-1 a evadir el sistema inmune (18). Así, la adquisición de esta molécula confiere a los viriones del VIH-1 menor susceptibilidad a la neutralización por un anticuerpo monoclonal dirigido contra las glicoproteínas de la envoltura. El incremento de la infectividad proporcionado por la incorporación de ICAM-1 es significativamente mayor para aquellos viriones que contienen proteínas de envoltura derivadas de aislamiento de VIH primarios que en viriones que contengan glicoproteínas de envoltura de cepas adaptadas en laboratorio (18). La mayor relevancia del efecto mediado por ICAM-1 a la entrada del VIH-1 observada en virus primarios podría

ser atribuida a la estructura secundaria o terciaria de las glicoproteínas de envoltura en su forma nativa oligomérica a la superficie viral, las cuales exhiben una menor afinidad por CD4 (19).

Un aspecto de importancia en la inserción de ICAM-1 en los viriones del VIH-1 es el hecho de que Env no es requerida para la inserción de esta molécula en el VIH-1. Las moléculas ICAM-1 se encuentran presentes en virus que contienen niveles muy bajos de gp120/gp41 debido a una mutación en el dominio (MA) matriz o en virus deficientes de Env, producidos en líneas celulares humanas primarias y en células inmortalizadas. Además, la infectividad del VIH-1 mutante para MA que contiene cantidades subóptimas de proteínas Env fue recuperada en cierto grado por la presencia de ICAM-1, cuando la infección fue llevada a cabo en células que expresan la forma activada de su ligando natural LFA-1 (20).

Se ha demostrado también que el nivel de expresión de ICAM-1 en la superficie de las células influye en el número relativo de proteínas ICAM-1 que son adquiridas por las partículas de VIH-1. En órganos linfoides, debido a la intensa activación celular, se permite una gran expresión de ICAM-1 y, consecuentemente, un gran número de proteínas ICAM-1 del huésped en los viriones (21).

Adicionalmente, la molécula LFA-1 se puede encontrar bajo dos diferentes estados de afinidad por ICAM-1: un estado de baja y un estado de alta afinidad. La activación celular permite la expresión en la superficie del estado conformacional de LFA-1 de alta afinidad por ICAM-1. Estos dos estados de la molécula determinan una diferencia en la capacidad de la célula de ser infectada por

virus que contengan ICAM-1 dependiendo del tipo de LFA que expresen. Igualmente, la expresión de LFA-1 en un estado de alta afinidad por ICAM-1 resulta en un marcado incremento de la fusión de las membranas celulares mediado por el VIH, lo que permite la formación de sincitia. Cuando este tipo de LFA-1 es expresado en una célula no infectada, ésta participará en la formación de sincitia, con la consiguiente destrucción de dicha célula. Esto se ha demostrado por la utilización de un anticuerpo que activa el estado de alta afinidad de la molécula LFA-1 (NKI-L16) e incrementa la formación de sincitia mediado por el VIH-1 (22, 23).

Una característica de la infección por el VIH-1 es la pérdida progresiva de los conteos de células T CD4. Varios efectos patogénicos mediados o no por el virus pueden ocurrir, entre ellos la muerte celular. También la llamada formación de sincitia, la cual se caracteriza por un alto porcentaje de eventos de fusión célula a célula entre células infectadas y no infectadas, que dan paso a la muerte celular. Para la formación de sincitia varias interacciones celulares deben tener lugar; por ejemplo, la interacción entre gp120 del VIH-1 en la superficie de una célula infectada y el receptor CD4 de una célula no infectada (24). También la interacción de la molécula gp120 con el correceptor CXCR4 es de gran importancia (25). Sin embargo, son necesarias otras interacciones como ICAM-1-LFA-1 en tipos de células en las que la expresión de gp120 es limitada. Este requerimiento puede no darse para un cierto nivel de expresión de gp120 que permita la interacción gp120-CD4 (26).

Se ha asociado también la presencia de ICAM-1 en el VIH-1 con un descenso dramático de los linfocitos T CD4, mediado por variantes de VIH-1 que usan CXCR4, lo que en el SIDA se

traduce en la muerte masiva de estas células, junto con su destrucción y/o disfunción. Tal incorporación también puede asociarse a la lista de mecanismos de muerte celular, que se observan en la infección por VIH-1. Este hecho puede significar que las preferencias de correceptor del VIH-1 determinan la disminución de las células T blanco y el tropismo celular en el tejido linfoide humano, y que aquellos individuos que contengan cepas de VIH-1 con preferencias CXCR4 progresan a SIDA más rápidamente que aquellos virus que poseen el fenotipo R5. Así, la adquisición de ICAM-1 del huésped por las cepas con fenotipo R4 aceleraría la progresión de la enfermedad (27).

De la misma familia que ICAM-1, la Molécula de Adhesión Intercelular 3 (ICAM-3) también se puede encontrar en el VIH-1. ICAM-3 o CD50 es un antígeno de superficie celular, altamente expresado en el leucocito, que ejerce numerosas funciones en la adhesión de células T, polarización y activación durante la respuesta inmune normal (28). ICAM 3 puede actuar como una molécula coestimuladora que realza la actividad transcripcional en células CD4 primarias y puede reducir el nivel de señalización del complejo TCR/CD3 necesario para lograr la activación de la replicación viral (29). Estudios recientes indican que la replicación del VIH-1 en células quiescentes es defectuosa debido a una prolongación del tiempo empleado en el proceso de transcripción inversa comparado con células T activadas (30). La coestimulación mediada por ICAM-3 fue muy efectiva en vencer este bloqueo, lo cual permitió una infección por el VIH-1 muy productiva. La permisividad mediada por ICAM-3 de las células T CD4 quiescentes para producir una infección productiva por el VIH-1 es, probablemente, debida más que

todo a los efectos descritos del compromiso de ICAM-3-CD3 sobre el tamaño celular. Es importante además la expresión de marcadores de superficie de la activación como CD25 y CD69, debido a que estos efectos sugieren una progresión de las células a la fase G1b. (31). El tratamiento con anticuerpos anti-CD3 solamente no fue suficiente para inducir una infección productiva. Realmente, la estimulación del complejo TCR/CD3 sólo compromete los linfocitos T en anafase G1 del ciclo celular, mientras que la progresión a la fase G1b es requerida para completar el proceso de transcripción inversa. Otra explicación reside en una posible inducción del Factor Nuclear de Células T Activadas (NFAT) dependiente de ICAM-3, ya que la expresión de NFAT ha demostrado vencer el bloqueo de la transcripción inversa, e inducir un estado altamente permisivo para la replicación del VIH-1 en células T CD4 primarias (31).

Otras moléculas muy importantes en el proceso de incorporación de constituyentes de la membrana de la célula huésped en el VIH-1 son las del Complejo Mayor de Histocompatibilidad. La incorporación de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I, y particularmente del alelo Cw4, en cepas de VIH-1 adaptadas en el laboratorio y cepas primarias X4-tropicas se ha reportado que ejerce una profunda influencia en la infectividad del virus y en la susceptibilidad a los anticuerpos neutralizantes (32). El efecto encontrado está asociado con cambios en la conformación de la envoltura viral. Debido a que los viriones del VIH se producen en células T activadas, como las células T ayudadoras/inductoras, monocitos, células de langerhans, células dendríticas, y que estas células expresan HLA-DR, las partículas virales liberadas de estas células presentadoras de antígenos deben

contener grandes cantidades de CMH clase II DR. En efecto, la presencia de gran cantidad de antígenos CMH clase II, especialmente HLA-DR, en el virus de la inmunodeficiencia del simio (VIS) y viriones VIH-1 que crecen en células HLA-DR positivas fue demostrada por microscopia electrónica (33, 34). De otra parte, la presencia de HLA-DR en la envoltura de partículas virales de VIH-1 y VIH-2 producidas en células HLA-DR positivas se demostró por análisis de citometría de flujo (35), y además se demostró que de las moléculas de la membrana de la célula huésped, HLA-DR es la molécula más abundantemente adquirida por el VIH (36).

De otra parte, el proceso de activación celular ha demostrado permitir un incremento de la expresión en la superficie de glicoproteínas HLA-DR (37, 38). El mecanismo por medio del cual se incorpora esta molécula al virus es objeto de estudio, y se ha encontrado que el empaquetamiento de Env es requerido para la eficiente incorporación de la molécula en el VIH. Tanto en células primarias como en células cultivadas, el fenómeno es específico de las moléculas HLA-DR, ya que la incorporación de HLA clase I no fue apreciablemente afectada por el empaquetamiento de Env (39).

Se ha observado que la molécula HLA clase II comparte algunas propiedades antigénicas con las proteínas Env (40), y esto puede ser una base para su interacción. Al menos algunas de estas regiones homólogas están presentes en la porción del tallo C-terminal que es indispensable para la incorporación de la molécula. Plantear que Env dirige el ensamblaje del VIH-1 a regiones de la membrana plasmática que contienen CMH clase II, y así indirectamente causar la incorporación de HLA clase II, no puede ser posible debido a que el virus brota específicamente del pseudópodo de la célula T

activada (41). La incorporación de la molécula HLA clase II no parece entonces ser debido a que Env provoque un redireccionamiento del ensamblaje del virus a un sitio rico en HLA-DR en la célula.

En condiciones fisiológicas, bajo el contexto de la presentación de antígenos, CD4 es el ligando de la molécula HLA-DR. Igualmente, la molécula CD4 en la célula blanco puede unirse al HLA-DR adquirido por el virus, y esta interacción resulta en una fuerte asociación del virus a la célula. Está demostrado que la presencia de HLA-DR en el VIH-1 permite un incremento de 1.6 a 2.3 veces la infectividad del VIH-1. Esto es debido a un incremento de la capacidad de unión del virus, lo que se traduce en efectos positivos en el ciclo replicativo del virus, tales como las etapas de adhesión y penetración. Se ha demostrado que este incremento en la infectividad depende de la línea celular usada (42). Otra evidencia de la importancia de la molécula HLA-DR incorporada en el VIH-1 en la unión a la célula se tuvo cuando la utilización de un anticuerpo monoclonal anti HLA-DR bloqueó la unión del virión VIH-1 a H9 su célula blanco (43).

Como ya se había dicho, la molécula HLA-DR es la proteína del huésped más abundantemente encontrada en los viriones. Los otros isotipos de HLA clase II (DP y DQ), a pesar de estar presente en las células no habían podido ser detectadas en las cepas de VIH-1 NL4-3 cultivadas en células H9. Sin embargo, tales moléculas fueron detectadas en las mismas cepas, cultivadas en células RAJI-CD4 y células HUT78. Esto indica que la incorporación de los isotipos DP y DQ en el VIH-1 es específica del tipo celular y que puede ser atribuido a cantidades insuficientes de HLA-DP y DQ en la superficie celular. Se sugiere entonces que el

nivel de expresión en la superficie influencia el número de HLA-DP y DQ insertadas por el virus (36). Igualmente, se ha indicado que la capacidad para adquirir proteínas HLA-DR de la membrana celular es específico de la cepa del virus, como se observó en la incorporación de la molécula HLA-DR por la cepa VIH-1 NL4-3, que resultó ser más eficiente que en las cepas VIH-1 LAI y VIH-1 IIRF (36). Otra posibilidad podría ser que el hecho de que el VIH-1 incorpore gran cantidad de HLA-DR y no HLA-DP y DQ podría estar relacionado con una gran asociación topológica entre las glicoproteínas virales y la proteína CMH clase II en el sitio de ensamblaje del virus. Otro aspecto que influencia la incorporación de HLA-DR es el *background* genético, ya que una gran proporción de la cepa VIH-1 NL4-3 incorpora la molécula cuando los virus son cultivados en célula RAJI-CD4, lo que no sucede cuando son cultivadas de células H9 y HUT 78, por lo que es de interés especificar que las células RAJI-CD4 contienen diferentes moléculas HLA-DR (HLA-DR3 y HLA-Drw10) y H9 y HUT78 contienen HLA-DR4 y HLA-DRw53, por lo cual comparten el mismo *background* genético, ya que H9 es un sub-clon de HUT78 (35).

Es pertinente mencionar que el estado genético del individuo infectado puede afectar el nivel del HLA-DR adquirido viralmente. El locus HLA-DR es altamente polimórfico y la afinidad entre HLA-DR y CD4 puede variar de acuerdo con el alelo de HLA-DR que posea el individuo (44). Es factible sugerir que algunos alelos específicos podrían permitir una mayor infectividad del VIH. De otra parte, esta molécula ejerce un efecto adicional sobre la patogenicidad del VIH-1. Las proteínas HLA clase II que contienen antígenos en el VIH podrían inducir la anergia y la apoptosis en las células T CD4. El VIH-1 podría específicamente incorporar proteínas

HLA clase II para eliminar selectivamente células T CD4 ayudadoras VIH-específicas que podrían elevar la respuesta inmune en un individuo infectado (45, 46). Esto podría explicar porqué el VIH-1 tiene un mecanismo directo o indirecto para incorporar selectivamente proteínas HLA clase II.

En un estudio realizado se evaluó que adicional a la inserción de las moléculas HLA-DR e ICAM-1 en los viriones, la molécula CD40 y su ligando CD40L también se han encontrado incluidas en las partículas de VIH-1 obtenidas a partir de células mononucleares de sangre periférica y cultivos tisulares de tejido linfóide humano. Los resultados indicaron que dicha incorporación no fue afectada ni por el receptor ni por la fuente celular usada (47).

Otras moléculas, por ejemplo, las moléculas CD28 y CD152, han sido estudiadas en su proceso de incorporación en los viriones recién formados. CD28 es constitutivamente expresada en células T CD4 y su homólogo, la molécula CD152, se expresa después de la activación celular. Estudios recientes se realizaron infectando células Jurkat que expresan las moléculas CD28 y CD152. Ambas moléculas fueron eficientemente adquiridas por los viriones (48). Debido a que las interacciones CD28/CD152-CD80/CD86 juegan un importante papel en el contexto de la presentación de antígenos, se ha propuesto que la asociación entre CD28/CD152 adquiridas por los viriones y CD80/CD86 en la superficie de las células blanco puede tener consecuencias para la transmisión del VIH-1, debido a que se demostró que la adquisición de estas moléculas por parte de los viriones promueve el ataque a células blanco y la replicación viral (48). Más recientemente se encontró que la presencia de CD28, codificada por el hospedero, en la envoltura del VIH-1 resultó en un aumento de la infectividad viral

cerca de 20 veces cuando se usaron células blanco que expresaban altos niveles de CD80 (B7.1) y CD86 (B7.2), dos ligandos naturales de CD28 (49).

Se ha confirmado que la molécula coestimuladora CD28 es incorporada en la envoltura del VIH-1 y que es una molécula que incrementa el proceso de infección mediante un efecto potenciador de los primeros pasos de la replicación del virus. La infectividad de los viriones que contienen CD28 es marcadamente incrementada en células que expresan altos niveles de B7-1 y B7-2. Es decir, este incremento es debido principalmente a la interacción entre CD28 y B7-1 (50). Además, en experimentos realizados con anticuerpos anti CD28 se observó que éstos disminuyeron la replicación en células humanas mononucleares primarias de aislamientos clínicos de VIH-1. Ensayos de precipitación del virus revelaron, además, que cepas M, T y dual trópicas del VIH-1 producidas en células mononucleares humanas primarias incorporan también CD28. Esto tiene importantes implicaciones funcionales, considerando que B7-1 y B7-2 son expresadas en monocitos/macrófagos activados, así como también en linfocitos T activados, dos tipos de células reconocidas como potenciales reservorios de VIH-1 en individuos infectados (50, 51). A pesar de que se ha establecido claramente que el ataque del virus a las células T se correlaciona con la expresión de CD4 (52, 53) y que este mecanismo es dependiente de gp120 (53, 54), la unión de gp 120 a CD4 celular podría no ser suficiente por sí sola para una eficiente adhesión del virus a las células como macrófagos que expresan poco CD4 (55). Dado que los macrófagos expresan tanto B7-1 como B7-2, es posible que la interacción adicional mediada por CD28 y B7-1/B7-2 facilite el proceso de unión y entrada del VIH-1, quedando clara

la influencia de otra molécula del huésped en el ciclo biológico del virus.

La molécula CD43 (sialoforina) es una sialoglicoproteína, expresada en la superficie de una variedad de células sanguíneas, incluyendo linfocitos T. La ligación de CD43 induce la proliferación y activación de linfocitos T humanos. Esta molécula es incorporada en los viriones VIH-1, como lo demostraron los resultados obtenidos de un estudio en el que se realizaron infecciones *in vitro* de células H9 y células mononucleares de sangre periférica que contenían CD43 con cepas de VIH-1 (56). Cuando la molécula CD43 se une al complejo TCR-CD3, se aumenta la actividad del LTR y la expresión de los genes virales, lo cual promueve la translocación nuclear de los factores de transcripción NF-KB y NFAT. En este experimento se obtuvieron datos que demuestran que CD43 es un potente coactivador de la región LTR del VIH-1. Puede, además, disminuir el umbral de la señal para la activación de las células T que es observada mediante la participación del complejo TCR-CD3 y que es necesario para lograr una mayor activación de la replicación viral (57).

Otra molécula de adhesión celular, la proteína CD44, es adquirida por el VIH-1 y mantiene su actividad biológica cuando es expresada por el virus. En un estudio se utilizaron células CEM, una línea celular que expresa el receptor CD4. Estas células son capaces de unirse al ácido hialurónico, previa estimulación con forbol éster, utilizando la molécula de adhesión celular CD44. Células CEM no estimuladas, no son capaces de unir al ácido hialurónico. Partículas virales producidas en células CEM estimuladas con forbol éster, a diferencia de las no estimuladas, pueden unir el ácido hialurónico utilizando la molécula CD44 adquirida de la célula, lo

cual demuestra que CD44 es funcional y que gracias a la funcionalidad de estas moléculas de adhesión, el VIH-1 tiene la capacidad de unirse a cualquier célula o sustrato a la que la célula huésped se una (58).

Se ha demostrado también la presencia en los viriones VIH-1 de las proteínas de control del complemento unidas al glicosilfosfatidilinositol, CD55 y CD59 y su función en el control de la virólisis mediada por el complemento. Se experimentó con células que carecían de tales moléculas. Los viriones producidos a partir de dichas células son más sensibles a la destrucción viral mediada por el complemento comparados con viriones obtenidos a partir de células que contienen CD55 y CD59. Lo que nos muestra claramente que estas moléculas son biológicamente activas, lo cual reafirma su papel en la resistencia al complemento (59). En otros experimentos similares se trabajó con células CHO que expresan CD55, CD59 y CD46. Se logró confirmar que los viriones VIH-1, obtenidos a partir de estas células, incorporan eficientemente tanto CD55 y CD59, como CD46. Las tres preparaciones de virus fueron significativamente más resistentes a la lisis mediada por el complemento para el control del virus (60).

CD63 pertenece a la familia de las proteínas transmembranales tetraspaninas. Esta molécula se ha caracterizado como un marcador de activación y diferenciación en una variedad de tipos celulares y se asocia estrechamente en la membrana celular con antígenos del CMH, integrinas B1 y otras proteínas tetraspaninas (61). Los macrófagos son células de particular importancia para el VIH-1, ya que estas células contribuyen a la persistencia y a la diseminación viral, y probablemente constituyen el tipo de célula mayormente implicado en la transmisión

mucosal del virus. Estudios han encontrado que CD63 está involucrada en la entrada del VIH-1, en los macrófagos, por lo cual se constituye en un nuevo cofactor. Una evidencia de tal implicación es que la infección de los macrófagos por el VIH-1 puede ser inhibida por un anticuerpo monoclonal anti-CD63. Esta observación es específica para las cepas de VIH-1 que utilizan CCR5, las cuales poseen tropismo por los macrófagos, pero no para cepas que usan CXCR4 (62). Además se demostró que esta inhibición de la infección ocurre antes de la transcripción inversa y no afecta la fusión célula-célula. Estos hallazgos indican que CD63 puede ser importante para la infección de los macrófagos por el VIH-1, y teniendo en cuenta que la infección de los macrófagos está implicada en la contribución de muchas manifestaciones clínicas del sida, esta molécula puede representar un importante blanco terapéutico en el desarrollo de drogas antivirales (62).

Otra molécula, la galectina-1, que actúa como una molécula de adhesión soluble, es abundantemente expresada en el timo y nódulos linfoides. También es secretada por los linfocitos T CD8 activados, los cuales son encontrados en gran cantidad en pacientes infectados por el VIH-1. Estudios recientes han encontrado que la galectina-1, la cual es liberada de manera exocrina en los sitios de replicación del VIH-1, puede servir de puente entre el VIH-1 y las células blanco y promover una adhesión más firme del virus a la superficie celular, aumentando así la eficiencia del proceso de infección (63). Este hallazgo fue observado tanto en cepas R5, X4 como en variantes R5X4. La galectina-1, si bien no es una proteína celular que se incorpora dentro del virus, puede ser considerada como un factor soluble del huésped importante para la estabilización y adherencia del VIH a la célula (64).

CD80 y CD86 son dos ligandos naturales para CD28 y CTLA-4 (antígeno asociado al linfocito T citolítico). Estos dos tipos de glicoproteínas de transmembrana están expresadas en varios tipos de células, como linfocitos T y B, células de la línea monocítica y células dendríticas, y le permiten suplir una segunda señal independiente de antígenos llamada coestimulación. La expresión de superficie de ambas moléculas es modulada durante la respuesta inmune normal por citocinas (interferón gama), por constituyentes bacterianos como los lipopolisacáridos o después de eventos de señalización traducidos por proteínas específicas de membrana (CD40/CD40L, CMH clase II, receptor de células B, etc.). Por ejemplo, el tratamiento de monocitos con IFN gama induce la expresión de CD80, mientras que regula en forma positiva la expresión de CD86 en esas células. El acoplamiento de CD3 y CD 28 resulta en la inducción de CD80 y CD86 en la superficie de los linfocitos CD4. Considerando que los linfocitos T CD4 y los monocitos/macrófagos constituyen el principal reservorio del VIH-1 *in vivo*, se estudió más de cerca si estas moléculas eran incorporadas por los viriones. Se encontró que no sólo son incorporadas eficientemente sino que tienen un efecto biológico sobre el ciclo de vida del virus. La infectividad del VIH-1 fue incrementada por la inserción de CD80 y CD86 en la envoltura de los viriones cuando la infección fue realizada usando la línea de células T positiva para CD28, pero no fue incrementada en células RAJI-CD4, que no poseen el ligando CD28 y fueron usadas como control. El incremento se observó en el ataque de los virus a su célula blanco, incremento que fue eliminado por un anticuerpo bloqueante específico para CD80 y CD86 o CD28. Estos anticuerpos no afectan los virus que carecen de CD80 y CD86 del huésped en la envoltura (51). Por consiguiente, la

replicación del VIH-1 es mejorada por la adquisición de las moléculas CD80 y CD86, las cuales inducen un mecanismo que facilita el proceso de unión y entrada del virus a la célula. Este fenómeno resulta de la interacción específica entre CD80 y CD86 y sus dos ligandos naturales, CD28 y CTLA-4.

Los macrófagos infectados sirven como reservorios para el VIH-1 *in vivo*. La regulación de la expresión de VIH-1 en este tipo de células es un mecanismo complejo, pero es generalmente asociado con la activación celular y la diferenciación. Durante la respuesta inmune normal, los macrófagos sirven como células presentadoras de antígenos, para presentar antígenos extraños a los linfocitos T CD4. El contacto íntimo entre una célula presentadora de antígenos y una célula T permite la expresión de moléculas coestimuladoras (por ejemplo, CD80 y CD86 sobre los macrófagos y CTLA-4 y CD40L en células T). Se permite, además, la activación de la transcripción y producción del VIH-1. Así que la presentación de antígenos y/o la presencia de algunas citocinas específicas en el ambiente que rodea los macrófagos infectados por el VIH-1 resultará en la expresión de CD80 y CD86 en sus envolturas. Las interacciones adicionales entre CD80 y CD86 ancladas a los viriones con sus ligandos naturales podrían acelerar el proceso de infección de los linfocitos T que contienen CD28/CTLA-4 y, por lo tanto, favorecer la diseminación del VIH-1 (65).

La molécula CD81 es un miembro de la superfamilia de las tetraspaninas, las cuales forman microdominios en la membrana plasmática y participan en el alistamiento de numerosas moléculas de adhesión, receptores y proteínas de señalización en la zona central de la sinapsis inmune. Aparte de su papel estructural, CD81 también aporta

una coseñal a las células T para disparar la producción de citokinas y la proliferación celular, sugiriendo así un papel clave en algunas funciones biológicas fundamentales. Se ha comprobado que CD81 actúa como un coactivador de la transcripción del VIH-1 en una unión concomitante del complejo TCR/CD3 para incrementar la expresión de los genes del virus tanto en células Jurkat como en células T CD4 primarias. Es decir, se comprobó el papel coestimulador que tiene la molécula CD81 que resulta en un incremento en la transcripción del VIH-1 y de la producción de virus de novo en ambas células (66). El incremento en la expresión de genes del VIH-1 mediado por CD81 está ligado con una incrementada translocación nuclear de los factores de transcripción que regulan positivamente la transcripción del virus, por ejemplo, NF- κ B, NFAT y AP-1 (66).

El VIH-1 adquiere moléculas del CMH clase II cargadas de péptidos y moléculas coestimuladoras como la CD86 de la célula huésped. Existen evidencias que aquellos viriones que contienen CMH-II cargados de péptidos y proteínas CD86 pueden permitir la activación de los factores de transcripción NF-kappa B y NF-AT en una línea de célula T humana antígeno específica. Se ha encontrado una correlación lineal entre la activación del factor nuclear-Kappa B y la cantidad de moléculas CMH clase II cargada de péptido insertadas en el VIH-1 (65). Igualmente, se encontró que la transcripción del ADN del VIH-1 integrado y no integrado fue realizado en la exposición de las células T humanas específicas del péptido a virus que contienen ambas moléculas, CMH clase II y CD86. Esto demuestra que el VIH-1 puede operar como una célula presentadora de antígenos dependiendo de la naturaleza de los componentes de la membrana de la célula huésped anclados al virus (65).

Comentario aparte merece la molécula CD4 presente en la subpoblación de linfocitos, monocitos y macrófagos y aceptada como el receptor celular para el VIH-1 (67). La incorporación de esta proteína en la partícula viral es un evento cada vez más ilustrado (68), sin embargo, a diferencia de la mayoría de las proteínas relacionadas aquí, la incorporación de CD4 en la partícula viral no ejerce una acción positiva en la replicación viral. Se ha determinado que esta proteína incorporada en el virión disminuye la infectividad viral. Este fenómeno ha sido explicado por mecanismos diferentes: uno de ellos propone que disminuye la eficacia de la incorporación de las proteínas de la envoltura en la partícula viral (69); un segundo asocia la disminución de la infectividad viral a la formación de complejos no funcionales entre CD4 y gp120 en la superficie del virión. La utilización de moléculas de CD4 mutadas incapaces de unirse a gp120 no presentaron este efecto negativo sobre la infectividad, lo cual demuestra la necesidad de la interacción para que se dé este evento (68). El VIH-1 ha desarrollado una capacidad extraordinaria de regular de forma negativa la expresión de su receptor a nivel de la superficie de la membrana celular y, por ende, de disminuir la cantidad incorporada en la partícula viral. En esta tarea participan las proteínas virales gp160, Nef y Vpu, encargadas de degradar a CD4 (70, 71). Nosotros observamos en forma indirecta el efecto de la incorporación de CD4 en partículas virales producidas en la línea de células epiteliales MDCK que expresan el receptor y el correceptor para virus T-tropicos consistente en una disminución de la infectividad de los viriones que brotan por la superficie basolateral. Esto fue interpretado como una acumulación del receptor CD4 en ese lado de la célula. Conforme con esta interpretación, este efecto fue anulado utilizando virus que

eliminan el receptor CD4 de la superficie celular mediante expresión de las proteínas accesorias Nef y Vpu (72).

PROTEÍNAS DEL HUÉSPED LOCALIZADAS EN EL INTERIOR DEL VIRIÓN

Durante el proceso de liberación, el virión recién formado puede incluir proteínas del huésped en su parte interna. Aunque éstas son difíciles de estudiar, se han podido analizar y se han encontrado proteínas del citoesqueleto, debido a su proximidad a los sitios de ensamblaje y liberación.

Usando métodos de HPLC, *immunoblotting* y técnicas de centrifugación con gradientes de sucrosa, se encontraron varios elementos del citoesqueleto dentro del VIH-1, entre ellos la actina muscular y no muscular, miosina, ezrina y cofilina. También se encontraron fragmentos de actina y miosina que fueron fraccionados en sitios consenso por la proteasa del VIH-1. El hecho de que las proteínas y fragmentos proteolíticos se encuentren dentro del virión sugiere que existe una interacción entre el VIH-1 y el citoesqueleto (73, 74, 75,76).

Viriones producidos a partir de células H9 y CEMss demostraron que las diferentes isoformas de actina presentes en la partícula viral varían dependiendo de la línea celular usada para producir el virus. Viriones producidos a partir de células H9 contenían aproximadamente un 80 % de actina gama no muscular, con un 20% de actina del músculo liso alfa. En los viriones producidos de células CEMss, más del 98% de la actina presente fue la isoforma beta, aunque una pequeña cantidad de la actina gama no muscular también puede estar presente y sólo un 2 % de la actina del músculo liso alfa (76).

La presencia de una proteína del citoesqueleto en el virión puede indicar cuáles son las estructuras celulares que interactuaron con el ensamblaje y brote del virión en la célula. Actinas no musculares son asociadas mayoritariamente con el córtex de la membrana plasmática (73, 77) y funcionan dando forma a ésta. Como las isoformas beta y gama no muscular están presentes también en el interior del virión, sugieren que una interacción entre el virión y el citoesqueleto cortical ocurre durante el ensamblaje y brote viral. El concepto de que existe una interacción entre el VIH-1 y la actina alfa del músculo liso es soportado por la detección de fragmentos de la actina alfa del músculo liso escindido por la proteasa del VIH-1(78). Estudios recientes han demostrado que la proteasa es activada antes de que termine el brote viral y puede ser requerida para la eficiente liberación de éste (79, 80).

Otros componentes del citoesqueleto se han encontrado dentro de los viriones, mientras que la actina se ensambla ella misma dentro de filamentos. La formación de filamentos es regulada por proteínas unidas a la actina que secuestran la actina monomérica, bloquean la formación de filamentos o depolimerizan los filamentos directamente. Una de estas proteínas es la cofilina, la cual se une a los filamentos de actina y en un nivel incrementado de pH depolimeriza los filamentos de actina. La cofilina encontrada en los viriones puede formar complejos con los filamentos de actina. Es interesante que los niveles de cofilina reflejen marcadamente la cantidad de B-actina en los viriones producidos a partir de células CEMss, lo cual sugiere la posibilidad de que la cofilina se una a filamentos de actina cortical en los viriones producidos de células CEMss (81, 75).

Incluidas también dentro de los viriones están ezrina y miosina. Estas proteínas, que son miembros de la familia de la ezrina-radixina-miosina, anclan la actina cortical a la membrana plasmática, enlazando así el citoesqueleto a la superficie celular. Además, el análisis de los viriones de VIH-1 demostró que éstos contenían un fragmento c-terminal de miosina que parece haber sido generado por la proteasa del VIH-1. La presencia de este fragmento sugiere que la miosina también puede interactuar con el ensamblaje y brote del virión. La miosina y la ezrina se encuentran localizadas en el microvilli de la superficie de las células. Los microvilli son estructuras como pseudópodos que dan forma a muchos tipos de células activadas y son regiones de alta actividad de la membrana. La presencia de estas proteínas específicas de los microvilli dentro de los viriones VIH-1 sugiere que estos viriones pueden ensamblarse a partir de estas estructuras especializadas. Puede que esto sea un mecanismo general de los virus envueltos debido a que se ha encontrado que miembros de la familia de la ezrina-radixina-miosina y aun la actina son incorporados dentro de los viriones del virus de la rabia y que las proteínas de envoltura del virus de la rabia se localizan con estas proteínas en el microvilli (76, 82).

Debido a que el estudio de las interacciones de las moléculas de la membrana de la célula huésped que se ubican hacia el exterior del VIH-1, ha logrado aportar valiosos conocimientos sobre la patogenia del VIH-1, y también ha aportado al desarrollo de estrategias de tratamiento para la infección por el VIH-1, el estudio de la interacción entre moléculas del huésped incorporadas en el VIH-1 que se localizan en el interior del virion es también muy importante, y dentro de este contexto la interacción miosina-actina ha sido objeto de estudio (83).

Como se sabe, para que la interacción miosina-actina tenga lugar debe llevarse a cabo un proceso de fosforilación de la miosina mediado por la kinasa de la cadena liviana de la miosina, y a partir de esto se genera la subsiguiente interacción miosina-actina. Se ha demostrado que usando un inhibidor de la cadena ligera de la Miosin Kinasa (MLCK), la wortmanina, se logró inhibir la liberación del VIH-1 de la célula huésped pero no la inhibición de la síntesis o transporte de proteínas de envoltura y de la cápside a la membrana plasmática. Así, la wortmanina inhibe sólo el proceso final de la expresión del VIH-1, como es la formación del tallo, para la liberación de las partículas virales infecciosas mediante el envolvimiento (83). La actina se encuentra distribuida, principalmente, en la superficie de la membrana, y al tratar los células infectadas con los viriones VIH-1 con citochalasina-D se logra bloquear parcialmente la liberación del VIH-1 de las células infectadas, lo que sugiere que la dinámica polimerización-depolimerización de la actina sólo es relativamente un poco importante en el envolvimiento del VIH-1, pero que en la formación de tallo o en el brote, la interacción miosina-actina, mediante filamentos de actina estables y resistentes a la citochalasina, es mucho más importante. Así, la actina podría participar con la miosina en un proceso activo, que permite la liberación de las partículas virales de la membrana. Por lo tanto, está claro que la interacción miosina-actina juega un papel importante en el envolvimiento del VIH-1, precedido de la activación de la miosina por fosforilación de la MLCK. Esto puede ser explotado para el tratamiento médico del sida; por ejemplo, mediante la modificación química de la wortmanina, para reducir su toxicidad general, se podría permitir el desarrollo de una potente droga que inhiba la liberación del VIH-1 de las células infectadas (83).

La proteína Staufén humana, hStau, es una proteína de unión al ARN de cadena doble, que está implicada en el transporte de ARN mensajero. Experimentos de gradiente Optiprep o sucrosa revelaron la cosedimentación de hStau con el VIH-1 purificado, mientras que ensayos con subtilisina revelaron que esta proteína es internalizada y que correlaciona cuantitativamente con los niveles de RNA genómico encapsidado del VIH-1. En este estudio se demostró que hStau está asociada con el RNA genómico del VIH-1 en virus purificados. Además, la expresión abundante de hStau incrementa los niveles de incorporación en el virión, e incrementa tres veces los niveles de incorporación del RNA genómico del VIH-1. Este incremento coordinado en la proteína hStau y el empaquetamiento del ARN genómico tiene un significativo efecto negativo sobre la infectividad viral. Se demuestra que hStau se encuentra dentro de las partículas del VIH-1 y puede estar implicado en la selección del genoma retroviral y en el empaquetamiento y ensamblaje de los viriones (84).

En fin, para mencionar otras proteínas que se encuentran incluidas en el interior de los viriones de VIH-1 enumeraremos Tsg 101 y otros componentes de la vía de los cuerpos multivesiculares, la proteína APOBEC3G, las uracil DNA glicosilasas (UNGs) y algunas proteínas chaperonas del *shock* térmico (85).

Para los lectores que quisieran complementar la información suministrada aquí sobre las proteínas del huésped incorporadas en la partícula del VIH-1 y su sitio de localización a nivel de la estructura viral, los invitamos a consultar la reciente revisión realizada por D.E. Ott (86).

Luego de muchos estudios se ha logrado bastante ilustración acerca las proteínas

que son incluidas por los viriones del VIH-1 cuando éste brota de una célula infectada, su función y el papel que cumplen en el ciclo replicativo del virus. Sin embargo, no se sabe si la incorporación de estas proteínas de la membrana de la célula huésped en el VIH es un proceso específico, que dependería del sitio por donde brote el virus. Dicho en otras palabras, si existe diferencia entre las proteínas que el virus incorpora cuando sale del lado basolateral y éstas que incorporaría si lo hiciera hacia el lado apical y las implicaciones que esto pueda tener en la patogénesis y mecanismos de infección del VIH-1. Como se ha intentado a lo largo de esta revisión, cuando se hace referencia a la incorporación de proteínas del huésped en la partícula del VIH se hace necesario también hacer énfasis en el posible papel que estas proteínas puedan tener en el ciclo de replicación del virus y en la infectividad de éste. Para la mayoría de las proteínas estudiadas su función en la biología del virus es aún desconocida o está en una etapa hipotética (87). Ello refleja el relativamente reciente énfasis que se ha dado a estas proteínas por este campo del estudio del VIH, como también la incompleta comprensión de su función en la célula. De todas formas, debido a la característica misma de los retrovirus que requieren interactuar con las proteínas del huésped y sus vías de transporte, conocer más de cerca de la función de las proteínas incorporadas por el VIH en el ciclo de vida viral es importante y constituye un terreno muy fértil que se debe explotar para definir interacciones de tipo estructural y funcional entre las proteínas del huésped incorporadas en el virión y las proteínas virales que puedan ser utilizadas como blanco para inhibir procesos necesarios para la biología del VIH-1 y, por ende, frenar su expansión.

REFERENCIAS

1. Gallo R, Salahuddin M, Popovic G, Shearer M, Kaplan B, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 224:500-503.
2. Gallo R, Sarin P, Gelmann E, Robert-Guroff M, Richardson R, et al. Isolation of human T-cell leukaemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; (220):865-867.
3. Tremblay M, Fortin J, Cantin R. The acquisition of host-encoded proteins by nascent HIV-1. *Immunol Today* 1998; (19):346-351.
4. Bess J Jr, Gorelick R, Bosche W, LE Henderson y LO Arthur. Microvesicles are source of contaminating cellular proteins found in purified HIV-1 preparations. *Virology* 1997; (230): 134:144.
5. Chertova E, Chertov O, Coren L, Roser J, Trubey C, Bess J Jr, Barsov E, et al. Proteomic and biochemical analysis of purified human immunodeficiency virus type 1 produced from infected monocyte-derived macrophages. *J Virol* 2006; (80): 9039-9052.
6. Makgoba MW, ME Sanders, S Shaw. The CD2-LFA-3 and LFA-1-ICAM pathways: relevance to T-cell recognition. *Immunol Today* 1989; (10): 417-422.
7. Castaño M, y Urcuqui S. Proteínas celulares cómplices de las proteínas regulatorias y accesorias del VIH-1. *Colombia Médica* 2004; (35): 112-120.
8. Beausejour Y, Tremblay M. Interaction between the Cytoplasmic Domain of ICAM-1 and Pr55^{Gag} Leads to Acquisition of Host ICAM-1 by Human Immunodeficiency Virus Type 1. *J Virol* 2004; (78): 11916-11925.
9. Fortin J, Cantin R, Lamontagne G, y Tremblay M. Host derived ICAM-1 Glicoproteins Incorporated on Human Immunodeficiency Virus Type 1 Are Biologically Active and Enhance Viral Infectivity. *J virol* 1997; (71): 3588-3596.
- 10 Tardif M, Tremblay M. Presence of Host ICAM-1 in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Virions Increases Productive Infection of CD4⁺ T Lymphocytes by Favoring Cytosolic Delivery of Viral Material. *J Virol* 2003; (77): 12299-12309.
11. Sattentau Q. CD4 activation of HIV fusion. *Int J Cell Cloning* 1992; (10): 323-332.
12. Moore J, McKeating J, Nordon W, Sattendau O. Direct measurement of soluble CD4 binding to human immunodeficiency virus type 1 virions: gp120 dissociation and its implications for virus-cell binding and fusion reaction and their neutralization by soluble CD4. *J Virol* 1991; (65): 1133-1140.
13. Tominaga Y, Kita Y, Satoh A, et al. Affinity and kinetic analysis of the molecular interaction of ICAM-1 and leukocyte function-associated antigen-1. *J Immunol* 1998 (161): 4016-4022.
14. Roebuck K, Finnegan A. Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J Leukoc Biol* 1999; (66): 876-888.
- 15 Giguere J, Tremblay M. Statin compounds reduce human immunodeficiency virus type 1 replication by preventing the interaction between virion-associated host intercellular adhesion molecule 1 and its natural cell surface ligand LFA-1. *J Virol* 2004; (78): 12062-12065.
16. Gilbert C, Bergeron M, Méthot S, Giguère J, Tremblay M. Statins could be used to control replication of some viruses, including HIV-1. *Viral Immunol* 2005; (18): 474-489.
17. Beausejour Y., Tremblay M. Susceptibility of HIV type 1 to the fusion inhibitor T-20 is reduced on insertion of host intercellular adhesion molecule 1 in the virus membrane. *J Infect* 2004; (190): 894-902. Epub 2004.
18. Rizzuto C, Sodroski D. Contribution of virion ICAM-1 to Human Immunodeficiency Virus Infectivity and Sensitivity to Neutralization. *J Virol* 1997; (71): 484-487.
19. Moore J, McKeating J, Huang Y, Ashkenazi A, Ho D. Virions of primary human immunodeficiency virus type 1 isolates resistant to soluble CD4 (sCD4) neutralization differ in sCD4 binding and glycoprotein gp120 retention from sCD4-sensitive isolates. *J Virol* 1997; 66:235-243.

20. Beausejour Y, Tremblay M. Envelope glycoproteins are not required for insertion of host ICAM-1 into human immunodeficiency virus type 1 and ICAM-1-bearing viruses are still infectious despite a suboptimal level of trimeric envelope proteins. *Virology* 2004; (324): 165-72.
21. Paquette, J, Fortin J, Blanchard L, y Tremblay M. Level of ICAM-1 Surface Expression on virus producer cells influences both the amount of virion-Bound Host ICAM-1 and Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infectivity. *J Virol* 1997; (72): 9329-9335.
22. Barbeau B, Fortin J, Genois N, Tremblay J. Modulation of Human Immunodeficiency Virus Type-1 induced Syncytium Formation by the conformational state of LFA-1 determined by a new luciferase Based Syncytium Quantitative Assay. *J Virol* 1998; (72): 7125-7135.
23. Fortin J, Barbeau B, Hedman H, Lundgren E, Tremblay M. Role of the leukocyte function antigen-1 conformational state in the process of human immunodeficiency virus type 1-mediated syncytium formation and virus infection. *Virology* 1999; (257): 228-238.
24. Dalgleish A, Beverly P, Clapham P, Crawford D, Greaves M, y Weiss R. The CD4 antigen is an essential component of the receptor for the Aids retrovirus. *Nature* 1984; (312): 763-767.
25. Yi Y, Isaacs S, Williams D, Frank I, Schools D, et al. Role of CXCR4 in cell-cell fusion and infection of monocyte-derived macrophages by primary human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) strains: two distinct mechanisms of HIV-1 dual tropism. *J Virol* 1999; (73): 7117-7125.
26. Gruber, M.F., D.S.A. Webb, T.L. Gerrard, H.S. Mostowski, L. Vujcic, y H. Gikdihg. Re-evaluation of the involvement of the adhesion molecules ICAM-1/LFA-1 in syncytia formation of HIV-infected subclones of a CEM T-cell leukemic line. *AIDS Res Hum Retrovirus* 1991; (7): 45-53.
27. Glushakova S, Grivel J, Fitzgerald W, Sylwester A, Zimmerberg J, y Margolis L. Evidence for the HIV-1 phenotype switch as a causal factor in acquired immunodeficiency. *Nat Med* 1998; (4): 346-349.
28. Campanero M, del Pozo M, et al. ICAM-3 interacts with LFA-1 and regulates the LFA-1/ICAM-1 cell adhesion pathway. *J Cell Biol* 1993; (123): 1007-1016.
29. Barat C, Gervais P, Tremblay M. Engagement of ICAM-3 Provides a Costimulatory Signal for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication in both Activated and Quiescent CD4⁺ T Lymphocytes: Implications for Virus Pathogenesis. *J Virol* 2004; (78): 6692-6697.
30. Pierson T, Zhou Y, Kieffer T, et al. Molecular characterization of preintegration latency in human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 2002; (76): 8518-8531.
31. Berney S, Schaan T, Alexander J, Peterman G, et al. ICAM-3 (CD50) cross-linking augments signaling in CD3-activated peripheral human T lymphocytes. *J Leukoc Biol* 1999 ; (65): 867-874.
32. Cosma A, Blanc D, Braun J, Quillent C, et al. Enhanced HIV infectivity and changes in GP120 conformation associated with viral incorporation of human leucocyte antigen class I molecules. *AIDS* 1999; (13): 2033-2042.
33. Kannagi, M, Kiyotaki M, King N, Lord W, Letvin CI y NL. Simian immunodeficiency virus induces expression of class II major histocompatibility complex structures on infected target cells in vitro. *J Virol* 1987; (61): 1421-1426.
34. Gelderblom H, Reupke H, Winkel T, Kunze R, Pauli G. MHC-antigens: constituents of the envelopes of human and simian immunodeficiency viruses. *Z. Naturforsch* 1987; (42): 1328-1334.
35. Schols D, Desmyter J, De Clercq E. Presence of Class II Histocompatibility DR proteins on the Envelope of Human Immunodeficiency Virus Demonstrated by FACS Analysis *J virol* 1992; (189): 374-376.
36. Cantin R, Fortin J, Lamontagne G, Tremblay M. The amount of host HLA-DR proteins acquired by HIV-1 is virus-strain and cell type-specific. *Virology* 1996; (218): 372-381.
37. Diedrichs M, Schendel D. Differential surface expression of class II isotypes on activated CD4 and CD8 cells correlates with levels of

- locus-specific mRNA. *J Immunol* 1989; (142): 3275-3280.
38. Gansbacher B, y Zier K. Regulation of HLADR, DP and DQ expression in activated T cells. *Cell. Immunology* 1989; (117): 22-34.
 39. Poon D, Coren L, Ott D. Efficient incorporation of HLA class II onto Human Immunodeficiency Virus Type 1 Requires Envelope Glycoprotein packaging. *J Virol* 2000; (74): 3918-3923.
 40. Puppo F, Ruzzenenti R, Brenci S, Lanza L, Scudetti M, Indiveri F. Major histocompatibility gene products and human immunodeficiency virus infection. *J Lab Clin Med* 1991; (117): 91-100.
 41. Pearce-Pratt R, Malamud D, Phillips M. Role of the cytoskeleton in cell-to-cell transmission of human immunodeficiency virus. *J Virol* 1994; (68): 2898-2905.
 42. Cantin R, Fortin J, Lamontagne G, Tremblay M. The presence of host-derived HLADR1 on Human Immunodeficiency Virus Type 1 Increases Viral infectivity. *J Virol* 1996; (71): 1922-1930.
 43. Mann D, Read-Connole E, Arthur L, et al. HLA-DR is involved in the HIV-1 binding site on cells expressing MHC class II antigens. *J immunology* 1998 ; (141): 1131-1136.
 44. Fleury S, Thibodeau J, et al. HLADR polymorphism affects the interactions with CD4. *J Exp Med* 1995 (182): 733-741.
 45. Arthur L, Bess J, Sowder R, Benveniste R, Mann L, Chermann J, Hencerson L. Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses. Implications for pathogenesis and vaccines. *Science* 1992; (258): 1935-1938.
 46. Rossio J, Bess J, Henderson L, Cresswell P y Arthur L. HLA class II on HIV-1 particles is functional in superantigen presentation to human T cells implications for HIV pathogenesis. *AIDS Res Hum Retrovirus* 1995; (11): 1433-1439.
 47. Martin, G., M.J. Tremblay. 2004. HLA-DR, ICAM-1, CD40, CD40L, and CD86 are incorporated to a similar degree into clinical human immunodeficiency virus type 1 variants expanded in natural reservoirs such as peripheral blood mononuclear cells and human lymphoid tissue cultured ex vivo. *Clin immunol* (111): 275-85.
 48. Giguere J, Diou J, Madreñas J, Tremblay M. Virus Attachment and Replication Are Promoted after Acquisition of Host CD28 and CD152 by HIV-1. *J Infect Dis* 2005; (192): 1265-1268.
 49. Giguère J, Bounou S. Insertion of host-derived costimulatory molecules CD80 (B7-1) and CD86 (B7-2) into human immunodeficiency virus type 1 affects the virus life cycle. *J Virol* 2004; (78): 6222-32.
 50. Giguère J, Paquette J, Bounou S, Cantin R, Tremblay M. New Insights into the Functionality of a Virion-Anchored Host Cell Membrane Protein: CD28 versus HIV Type 1. *J Immunol* 2002; (169): 2762-2771.
 51. Giguère J, Bounou S, Paquette J, Madrenas J, Tremblay M. Insertion of Host-Derived Costimulatory Molecules CD80 (B7.1) and CD86 (B7.2) into Human Immunodeficiency Virus Type 1 Affects the Virus Life Cycle. *J Virol* 2002; (78): 6222-6232.
 52. McDougal J, Mawle A, Cort E, Nicholson J, Cross G, J Scheppeler-Campbell J, Hicks D, Sligh J. Cellular tropism of the human retrovirus HTLV-III/LAV-I. Role of the T cell activation and expression of T4 antigen. *J Immunol* 1985; (135): 3151.
 53. McDougal S, Nicholson J, Cross G, Cort S, Kennedy M, Mawle A. Binding of the human retrovirus HTLV-III/LAV/ARV/HIV to the CD4 (T4) molecule: conformation dependence, epitope mapping, antibody inhibition, and potential for idiotypic mimicry. *J Immunol* 1986; (137): 2937.
 54. Bahraoui E, Clerget-Raslain B, Chapuis F, Olivier R, et al. A molecular mechanism of inhibition of HIV-1 binding to CD4⁺ cells by monoclonal antibodies to gp110. *AIDS* 1988; (2): 165.
 55. Sonza S, Maerz A, Uren S, Violo A, Hunter S, Boyle W, Crowe S. Susceptibility of human monocytes to HIV type 1 infection in vitro is not dependent on their level of CD4 expression. *AIDS*. 1995. *Res Hum Retroviruses* 11:769.
 56. Merloo T, Sheik M, Bloem A, de Ronde A, et

- al. Host cell membrane proteins on human immunodeficiency virus type 1 after in vitro infection of H9 cells and blood mononuclear cells. *J Gen Virol* 1993; (74): 129-135.
57. Barat, C, Tremblay M. Engagement of CD43 Enhances Human Immunodeficiency Virus Type 1 Transcriptional Activity and Virus Production That Is Induced upon TCR/CD3 Stimulation. *J. Biol. Chem* 2002; (277): 28714-28724.
 58. Guo M, Hildreth J. HIV acquires functional adhesion receptors from host cells. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995; (11): 1007-1013.
 59. Saifuddin M, Parker C, Peeples M, et al. Role of virion-associated glycosylphosphatidylinositol-linked proteins CD55 and CD59 in complement resistance of cell line-derived and primary isolates of HIV-1. *J Exp Med* 1995; (182): 501-9.
 60. Saifuddin M, Hedayati T, Atkinson J, Holguin M, Spear C y G. Human immunodeficiency virus type 1 incorporates both glycosyl phosphatidylinositol-anchored CD55 and CD59 and integral membrane CD46 at levels that protect from complement-mediated destruction. *J Gen Virol* 1997; 78 (Pt 8): 1907-11.
 61. Metzelaar M, Wijngaard P, Peters P, et al. CD63 antigen. A novel lysosomal membrane glycoprotein cloned by a screening procedure for intracellular antigens in eukaryotic cells. *J Biol Chem* 1991; (266): 3239-3245.
 62. Jana J, Lindern V, Rojo D, Ferbas K, et al. Potential Role for CD63 in CCR5-Mediated Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection of Macrophages. *J Virol* 2003; (77): 3624-3633.
 63. Ouellet, M, Mercier S, et al. Galectin-1 acts as a soluble host factor that promotes HIV-1 infectivity through stabilization of virus attachment to host cells. *J Immunol* 2005; (174): 4120-4126.
 64. Lanteri M, Giordanengo V, Hiraoka N, Fuzibet JG, Auberger P, Fukuda M, Baum LG, y Lefebvre JC. Altered T cell surface glycosylation in HIV-1 infection results in increased susceptibility to galectin-1-induced cell death. *Glycobiology* 2003; (13): 909-918.
 65. Roy J, Martin G, Giguere J, Belanger D, Pertri M, Tremblay M. HIV type 1 can act as an APC upon acquisition from the host cell of peptide-loaded HLA-DR and CD86 molecules. *J Immunol* 2005; (174): 4779-88.
 66. Tardif, M.R. y M.J. Tremblay. 2005. Tetraspanin CD81 Provides a Costimulatory Signal Resulting in Increased Human Immunodeficiency Virus Type 1 Gene Expression in Primary CD4⁺ T Lymphocytes through NF- κ B, NFAT, and AP-1 Transduction Pathways. *J Virol* (79): 4316-4328.
 67. Dalgleish A, Beverley P, Claham P, Crawford D, Greaves M, Weiss M. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the SAIDS retrovirus. *Nature (London)* 1984; (312): 763-767.
 68. Levesque K, Zhao Y, Cohen E. Vpu exerts a positive effect on the infectivity by down-modulating CD4 receptor molecules at the surface of HIV-1 producing cells. *J Biol Chem*, 278:28346-28345.
 69. Lama J, Mangasarian A, y Trono D. Cell-surface expression of CD4 reduces HIV-1 infectivity by blocking Env incorporation in a Nef- and Vpu- inhibitable manner. *Curr Biol* 1999; (9): 622-631.
 70. Mariani R, Skowronski J. CD4 down regulation by nef alleles isolated from HIV-1 infected individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; (90): 5549-5553.
 71. Margottin F, Bour S, Durand H, et al. A novel human WD protein h- β TrCP, that interacts with HIV-1 Vpu connects CD4 to the ER degradation pathway through an F-box motif. *Mol Cell* 1998; (1): 565-574.
 72. Cervantes-Acosta G, Welman M, Freund F, Cohen E, Lemay G. CD4/CXCR4 co-expression allows productive HIV-1 infection in canine kidney MDCK cells. *J Virol Methods* 2006.
 73. Damsky C, Sheffield H, J.B., G. Tuszynski y L. Warren. Is there a role for actin in virus budding. *J Cell Biol* 1997; (75): 593-605.
 74. Wang E, Wolf B, Lamb R, Choppin P, Goldberg A. The presence of actin in enveloped viruses. *J Cell Biol* 1983: 589-599.
 75. Arthur L, Bess J, Sowder R II, Benveniste R, Mann L. Cellular proteins bound to immu-

- nodeficiency viruses: implications for pathogenesis and vaccines. *Science* 1992; (258): 1935-1938.
76. Ott D, et al. Cytoskeletal proteins inside Human Immunodeficiency Virus Type 1 virions. *J Virol* 1996; (70): 7734-7742.
 77. Denofrio D, Hooch T, Herman I. Functional sorting of actin isoforms in microvascular pericytes. *J Cell. Biol* 1989; (109): 191-202.
 78. Luftig R, Lupo L. Viral interactions with the host cell cytoskeleton: the role of retroviral proteases. *Trends Microbiol* 1994; (2): 178-182.
 79. Kaplan A, Manchester A, Swanstrom R. The activity of the protease of human immunodeficiency virus type 1 is initiated at the membrane of infected cells before the release of viral proteins and is required for release to occur with maximum efficiency. *J Virol* 1994; (68): 6782-6786.
 80. Kaplan A, Manchester A, Swanstrom R. HIV-1 gag proteins are processed in two cellular compartments. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; (88): 4528-4532.
 81. Nishida E, Yonezawa N, Koyasu S, Yahara I, Sakai H. Cofilin is a component of intracellular and cytoplasmic actin rods induced in cultured cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; (84): 5262-5266.
 82. Sagara J, Tsukita S, Yonemura S, y Hawaii A. Cellular actin-binding ezrin-radixin-moesin (ERM) family proteins are incorporated into the rabies virion and closely associated with viral envelope proteins in the cell. *Virology* 1995; (206): 485-494.
 83. Sasaki H, Nakamura M, Ohno T, Matsuda Y, Yuda Y, Nonomura Y. Myosin-actin interaction plays an important role in human immunodeficiency virus type-1 release from host cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; (92): 2026-2030.
 84. Mouland A, Mercier J, Luo M, Bernier L, Des Groseillers L, Cohen E. The double-stranded RNA-binding protein Staufen is incorporated in human immunodeficiency virus type 1: Evidence for a role in genomic RNA encapsidation. *J Virol* 2000; (74): 5441-5451.
 85. Cantin R, Méthot S, Tremblay M. Plunder and Stowaways: Incorporation of Cellular Proteins by Enveloped Viruses. *J Virol* 2005; (79): 6577-6587.
 86. Ott, D. Cellular proteins detected in HIV-1. *Rev Med Virol* 2008; (18): 159-175.
 87. Ott, D. Potential roles of cellular proteins in HIV-1. *Rev Med Virol* 2002; (12): 359-374.