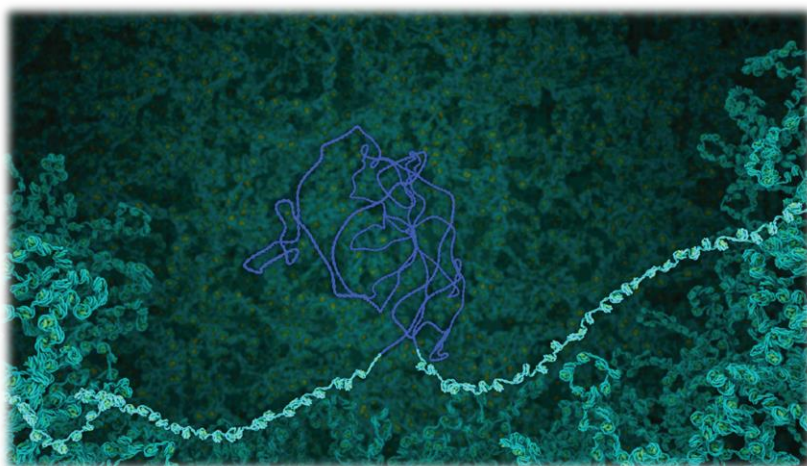


CURACIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIH

TRABAJO DE FIN DE GRADO



AITOR GARCÍA RUIZ
GRADO EN FARMACIA
CURSO 2023-2024

ÍNDICE

Glosario de abreviaturas

Resumen

1. Introducción	1
1.1. Epidemiología	1
1.2. Taxonomía, estructura, genoma y replicación viral	2
1.3. Patogenia y diagnóstico	5
2. Objetivos	8
3. Metodología	8
4. Desarrollo	8
4.1. Terapia antirretroviral actual y sus limitaciones	8
4.2. Reservorios y mecanismos de latencia virales	10
4.3. Estrategias terapéuticas en investigación para la curación de la infección por VIH	14
4.3.1. Inicio precoz de la TAR	15
4.3.2. <i>Shock and kill</i>	15
4.3.3. <i>Block and lock</i>	17
4.3.4. Métodos inmunológicos.....	18
4.3.5. Terapia génica	20
5. Conclusiones	20
6. Bibliografía	21

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ADCC: Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, *Antibody dependent cellular cytotoxicity*

ADCP: Fagocitosis celular dependiente de anticuerpos, *Antibody dependent cellular phagocytosis*

APL: Agentes promotores de la latencia

ARL: Agentes revertidores de la latencia

bNAbs: Anticuerpos ampliamente neutralizantes, *Broadly neutralizing antibodies*

CAR-NK: Receptor de antígeno quimérico de células NK, *Chimeric Antigen Receptor NK-Cell*

CAR-T: Receptor de antígeno quimérico de linfocitos T, *Chimeric Antigen Receptor T-Cell*

CD: Células dendríticas

CDC: Citotoxicidad dependiente del complemento, *Complement dependent cytotoxicity*

CRISPR/Cas9: Repeticiones palindrómicas cortas, agrupadas y regularmente interespaciadas asociadas a la endonucleasa Cas9, *Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/ associated nuclease 9*

CVP: Carga viral plasmática

dCA: Didehidro-cortistatina A

ELISA: Enzimoinmunoanálisis de adsorción, *Enzyme-linked immunosorbent assay*

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos, *Food and Drug Administration*

GALT: Tejido linfoide asociado al intestino, *Gut-associated lymphoid tissue*

GL: Ganglios linfáticos

iDNMT: Inhibidores de la ADN metiltransferasa, *DNA methyltransferase inhibitors*

iHDAC: Inhibidores de la histona deacetilasa

iHMT: Inhibidores de la histona metiltransferasa

INSTI: Inhibidores de la integrasa, *Integrase strand transfer inhibitors*

IP: Inhibidores de la proteasa

IPDA: Ensayo de ADN proviral intacto, *Intact proviral DNA assay*

ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos

ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos

LIA: Inmunoanálisis en línea, *Line immunoassay*

LTCD4⁺: Linfocitos T CD4⁺

LTCD8⁺: Linfocitos T CD8⁺

LTR: Repeticiones terminales largas, *Long terminal repeat*

MALT: Tejido linfoide asociado a las mucosas, *Mucosa-associated lymphoid tissue*

MHC-I: Complejo mayor de histocompatibilidad clase I, *Major histocompatibility complex class I*

ODS: Objetivos de Desarrollo Sostenible

ONUSIDA: Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, *Polymerase chain reaction*

PPE: Profilaxis postexposición

PPrE: Profilaxis previa a la exposición

RLV: Reservorios de latencia viral

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa, *Reverse transcription polymerase chain reaction*

sgRNA: ARN guía único, *Single guide RNA*

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

TACMH: Trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas

TALEN: Nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción, *Transcription activator-like nucleases*

TAR: Terapia antirretroviral

TARGA: Terapia antirretroviral de gran actividad

VIH-1: VIH tipo 1

VIH-2: VIH tipo 2

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

VLP: Partículas similares a virus, *Virus-like particles*

VOA: Ensayo de proliferación viral, *Viral outgrowth assay*

WB: Western blot

ZFN: Nucleasas de dedos de zinc, *Zinc finger nucleases*

RESUMEN

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), un retrovirus que ataca el sistema inmune, continúa siendo una grave amenaza para la salud pública mundial, causando innumerables infecciones y muertes desde su descubrimiento en 1983. Aunque la terapia antirretroviral (TAR) ha logrado controlar la carga viral plasmática (CVP) y mejorar significativamente la calidad de vida de los pacientes, no consigue eliminar el virus de todas las células infectadas. Durante la replicación viral, la transcriptasa inversa convierte el ARN viral en ADN proviral, permitiendo la integración del provirus en el genoma de los LTCD4⁺, donde persiste indefinidamente, conformando los reservorios de latencia viral (RLV), la principal barrera para curar la infección por VIH. La modificación epigenética y la modulación de ciertos factores de transcripción y moléculas de señalización son algunos de los mecanismos implicados en el establecimiento de los RLV. Estos reservorios son complejos a nivel anatómico, por los diversos órganos y tejidos implicados; a nivel celular, por la infección de todos los tipos de LTCD4⁺, principalmente los LTCD4⁺ memoria en reposo; y a nivel molecular, por la capacidad del VIH de pasar de un estado latente a la transcripción activa. Actualmente, se investigan varias estrategias con el fin de alcanzar la curación funcional de la infección, es decir, mantener la CVP a niveles muy bajos en ausencia de TAR. Concretamente, el trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (TACMH) con la delección homocigótica del par de bases 32 en el gen CCR5 (CCR5^{Δ32/Δ32}) consiguió la curación de cinco personas. Sin embargo, esta técnica no es escalable debido a la alta morbilidad que presenta. Otras estrategias terapéuticas para abordar los RLV incluyen el inicio temprano de la TAR, el *shock and kill*, el *block and lock*, métodos inmunológicos (modificación de la inmunidad innata celular, bloqueo de los puntos de control inmunológico, vacunas terapéuticas, anticuerpos ampliamente neutralizantes, linfocitos T modificados genéticamente con receptores de antígenos quiméricos) y la terapia génica (CRISPR/Cas9). Ninguna de ellas ha reducido de manera individual el tamaño de los RLV de forma significativa, lo que indica que la combinación de estrategias dirigidas a diferentes dianas pueda ser la opción más prometedora para alcanzar una cura. En general, es de esperar que futuros estudios nos acerquen a la consecución de una cura para la infección por VIH que pueda ayudar a millones de personas en todo el mundo.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EPIDEMIOLOGÍA

El **VIH** es el agente patógeno responsable del **síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)**, una epidemia que sigue representando uno de los mayores retos para la salud pública a nivel mundial. Según datos actualizados en 2022 por el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA), 39 millones de personas en todo el mundo vivían con el VIH, 1.3 millones se infectaron por primera vez y 630.000 murieron por causas relacionadas con la infección. De entre las personas infectadas, 29.8 millones tuvieron acceso a la terapia antirretroviral (TAR), representando el 76% de todos los seropositivos (1). En España, se notificaron 2.956 nuevas infecciones en 2022, alcanzando un total de 89.829 casos confirmados (2).

Estas cifras ponen de manifiesto la **elevada propagación** del VIH entre la población, que se transmite por contacto con sangre y hemoderivados (transfusión, compartir agujas entre drogadictos, agujas de tatuaje, personal sanitario), contacto sexual (relaciones sexuales anales y vaginales) y transmisión vertical o perinatal (transmisión intrauterina, periparto o a través de la leche materna). El prolongado periodo de infección asintomática ha facilitado en gran medida su propagación, lo que resalta la importancia de las medidas preventivas y el diagnóstico temprano (3). La Dirección General de Salud Pública del Ministerio de Sanidad concluye que las relaciones sexuales sin protección entre hombres suponen el principal mecanismo de infección y que alrededor del 50% de los infectados tienen un diagnóstico tardío a pesar de que la prueba es gratuita y confidencial (2).

La **TAR** ha supuesto un gran avance en la lucha contra el VIH, evitando 20.8 millones de muertes relacionadas con el SIDA desde el pico de 1996 hasta el año 2022. Además, las pruebas de diagnóstico no solo facilitan un inicio temprano de la TAR, sino que también contribuyen a la prevención de nuevos casos, reduciendo el riesgo de transmisión del virus en un 93% si se inicia rápidamente. A pesar de estos grandes avances, todavía existen problemas significativos que deben abordarse para lograr un control efectivo de la enfermedad. Entre estos problemas se incluyen el acceso desigual a la TAR, la insuficiente financiación, la persistente estigmatización y discriminación hacia las personas infectadas, y la falta de prevención para personas marginadas y clave como, por ejemplo, hombres homosexuales y personas que consumen drogas inyectables. El acceso a la TAR se ha ampliado masivamente en el África subsahariana, Asia y el Pacífico, que en conjunto albergan al 82% de las personas que viven con VIH en el mundo. África subsahariana es la región más afectada y, por tanto, en la que más esfuerzo se está invirtiendo mediante la implementación de programas de prevención específicos. Sin embargo, desde 2010, se ha observado un alarmante aumento

de casos en Europa oriental y Asia central (49%), así como en Medio Oriente y África del Norte (61%) (4,5).

En respuesta a los desafíos planteados por el virus, **ONUSIDA** ha propuesto el **objetivo 95-95-95** para acabar con esta epidemia, que consiste en diagnosticar el 95% de los seropositivos, administrar al 95% de infectados la TAR y obtener supresión viral en el 95% de los tratados (4). Su hoja de ruta es conseguirlo y poder acabar con la epidemia para el año 2030, conforme al Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS), meta 3.3 de la Agenda 2030. Este objetivo insta a todos los países a poner fin a las epidemias de SIDA, tuberculosis, malaria y enfermedades tropicales desatendidas, al tiempo que se combate la hepatitis, las enfermedades transmitidas por el agua y otras enfermedades transmisibles (6). Otros ODS relacionados con el SIDA incluidos en la Agenda 2030 son poner fin a la pobreza y al hambre, garantizar una educación de calidad y la igualdad de género, y promover una vida saludable y el crecimiento económico (7). España se compromete con todos ellos, poniendo especial énfasis en la eliminación del estigma y la discriminación hacia las personas infectadas (8).

1.2. TAXONOMÍA, ESTRUCTURA, GENOMA Y REPLICACIÓN VIRAL

El VIH, perteneciente al género *Lentivirus* y clasificado dentro de la subfamilia *Orthoretrovirinae* de los *Retroviridae*, comparte con otros retrovirus una característica distintiva, la presencia de una enzima única denominada **transcriptasa inversa**. Esta enzima desempeña un papel fundamental durante la replicación viral, catalizando la conversión del ARN viral en ADN complementario. Gracias a este proceso, el VIH adquiere la capacidad de integrar su genoma en el de las células hospedadoras, contribuyendo a la cronicidad de la infección (9).

Se han descrito dos tipos de VIH, el VIH tipo 1 (VIH-1) y el VIH tipo 2 (VIH-2). El **VIH-1**, derivado de los chimpancés, se caracteriza por una mayor transmisión, infectividad, virulencia, mortalidad, capacidad replicativa, diversidad genética y prevalencia en comparación con el VIH-2. Por su parte, el **VIH-2** se relaciona con el mangabey gris y se limita casi exclusivamente a África occidental (10). La diversidad genética del VIH-1, impulsada por las mutaciones originadas por la transcriptasa inversa y los múltiples episodios de transmisión zoonótica, ha llevado a la distinción de cuatro grupos principales, el M, N, O y P, siendo el grupo M el que mayor tasa de mutación presenta y, por tanto, el más extendido (11).

El virión del VIH-1 (Figura 1) tiene una **estructura** esférica de aproximadamente 120 nm de diámetro. Es un virus ARN envuelto que contiene en su bicapa lipídica de 7 a 35 espículas con estructura trimérica (gp120 y gp41), además de numerosas proteínas de la célula hospedadora. Debajo de la envoltura se encuentra la matriz (p17), dentro de la cual se localiza

una cápside icosaédrica compleja, formada por 1.000-1.500 hexámeros (p24). El nucleoide incluye dos copias idénticas del ARN monocatenario de polaridad positiva, estabilizadas por nucleoproteínas (p7), además de las enzimas que participan en la replicación viral (12).

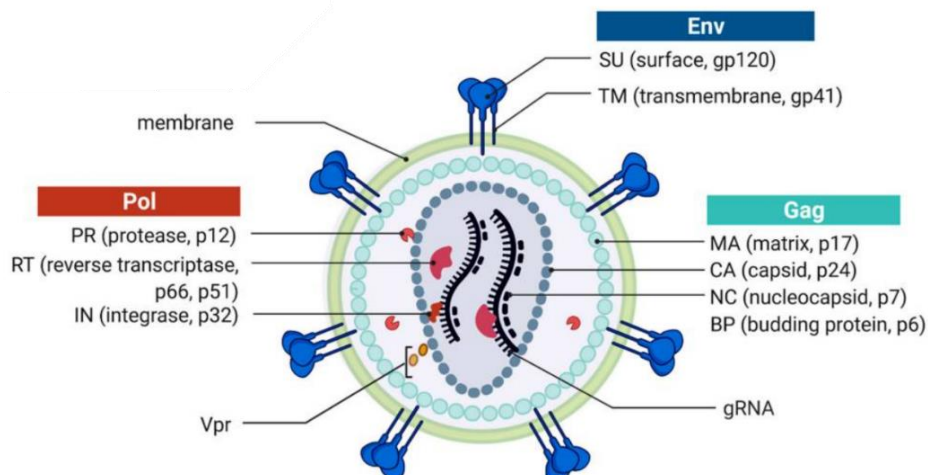


Figura 1. Virión maduro del VIH-1. Los genes *env*, *gag* y *pol* tienen función estructural (12).

Su **genoma** (Figura 2) contiene unos 9.700 nucleótidos y está flanqueado por repeticiones terminales largas (LTR). Se distinguen 9 genes codificadores de proteínas con marcos de lectura superpuestos. Tres de ellos son genes estructurales comunes al resto de retrovirus, el gen *gag* (codifica proteínas de la cápside, nucleocápside y matriz), el gen *pol* (enzimas necesarias para la replicación) y el gen *env* (glicoproteínas externas infectivas). Además, el VIH-1 contiene otros 6 genes que codifican 3 proteínas reguladoras de la replicación viral (*tat*, *rev* y *nef*) y 3 proteínas accesorias que actúan como factores de virulencia (*vpr*, *vif* y *vpu*) (10).

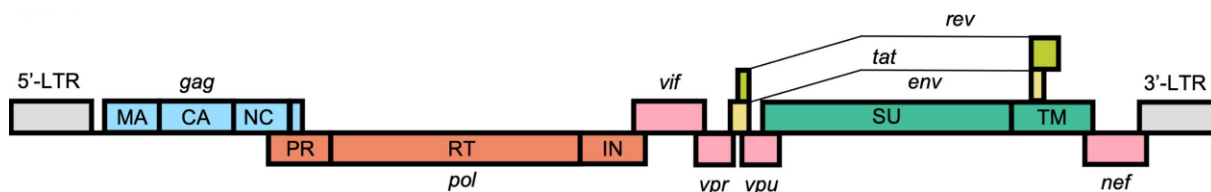


Figura 2. Estructura típica del genoma del VIH-1. Secuencia nucleotídica 5'-gag-pol-env-3' flanqueada por LTR en ambos extremos. En rosa, amarillo y verde lima se representan los genes reguladores y accesorios. *Gag*, *pol* y *env* son los genes estructurales. *Gag*: matriz (MA, p17), cápside (CA, p24), nucleocápside (NC, p7). *Pol*: proteasa (PR, p12), transcriptasa inversa (RT, p66/p51), integrasa (IN, p32). *Env*: glicoproteína de superficie (SU, gp120), glicoproteína transmembrana (TM, gp41) (11).

El VIH infecta exclusivamente células del sistema inmune que expresan receptores CD4 en su superficie, los cuales son especialmente abundantes en los **linfocitos T CD4⁺ (LTCD4⁺)**. La **replicación viral** (Figura 3) comienza por la unión de la espícula (gp120) de un virión maduro al **receptor CD4** y al **correceptor CCR5 o CXCR4**, también presentes en la superficie celular de la célula hospedadora. Esta doble interacción permite la fusión de las membranas viral y celular mediante gp41, y la liberación intacta de la cápside en el citoplasma para alcanzar el núcleo a través de los poros nucleares, donde se produce la desdovolución parcial.

A continuación, en el interior de la cápside tiene lugar la **transcripción inversa o retrotranscripción** del ARN viral utilizando la transcriptasa inversa. La integrasa y otros cofactores celulares integran la doble hebra de ADN formada (provirus) en el genoma de la célula hospedadora. Una vez integrado, la maquinaria celular transcribe los genes virales que formarán las proteínas estructurales y funcionales. Primero se expresan los genes *tat*, *rev* y *nef*. La proteína Tat aumenta el nivel transcripcional del provirus, Rev recluta proteínas que exportan al ARNm fuera del núcleo y, finalmente, Nef disminuye la expresión de las proteínas de la célula hospedadora, como los receptores CD4 y las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I), elevando la infectividad del virus. Posteriormente, se lleva a cabo la síntesis de las proteínas Env, Gag, el dímero Gag-Pol y las proteínas accesorias. Durante el ensamblaje, el ARN viral y las proteínas estructurales forman los viriones inmaduros que se fusionan con la membrana para ser liberados por gemación. Finalmente, la **maduración** ocurre con la escisión del dímero Gag-Pol, mediada por la proteasa viral, dando lugar a una nueva cohorte de viriones infectivos (11,12).

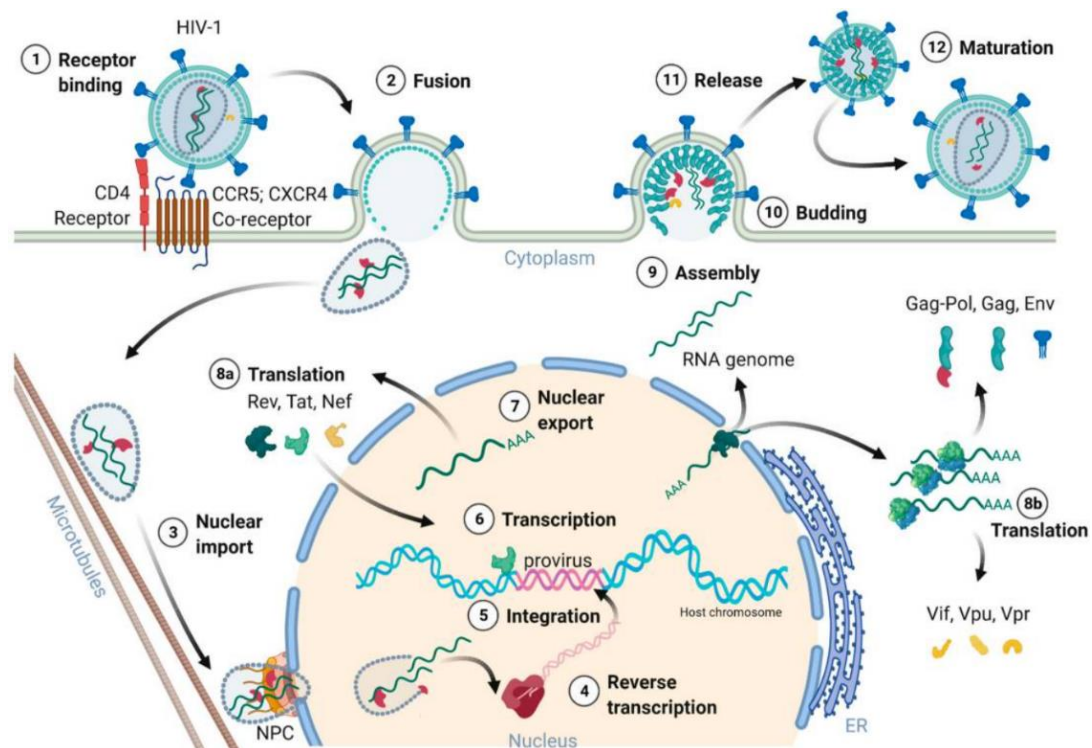


Figura 3. Replicación viral del VIH-1. 1) Unión al receptor y correceptor. 2) Fusión. 3) Entrada en el núcleo. 4) Transcripción reversa o retrotranscripción. 5) Integración. 6) Transcripción. 7) Salida del núcleo. 8) Traducción. 9) Ensamblaje. 10) Gemación. 11) Liberación. 12) Maduración (12).

La **integración del provirus en el ADN celular** es un paso esencial en la replicación viral que permite al VIH permanecer latente en las células infectadas. Este estado de latencia es promovido por el silenciamiento transcripcional, donde modificaciones epigenéticas y la modulación de ciertos factores de transcripción y moléculas de señalización impiden la transcripción activa del virus. Como consecuencia, no se producen nuevos viriones, lo que

permite al virus evitar la muerte celular, resistir los efectos de la TAR y formar **reservorios de latencia viral (RLV)**, los cuales constituyen el principal desafío para curar la infección, ya que pueden reactivarse, reanudando la replicación viral y la progresión de la enfermedad (13).

1.3. PATOGENIA Y DIAGNÓSTICO

En la infección por el VIH se distinguen las siguientes etapas (Figura 4):

- **Fase precoz o aguda (primoinfección):** el virus infecta todas las células del tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT) que expresan el receptor CD4 y el correceptor CCR5, principalmente los LTCD4⁺ y las células mieloides (monocitos, macrófagos, células dendríticas, microglía). Posteriormente, se disemina por los ganglios linfáticos (GL), produciéndose un aumento sustancial de la carga viral plasmática (CVP) y una reducción de los LTCD4⁺. Durante las primeras semanas, el paciente puede permanecer asintomático o bien presentar un síndrome mononucleósico inespecífico con síntomas como fiebre, sudoración, astenia, mialgias, cefalea y trastornos gastrointestinales. Los linfocitos T CD8⁺ (LTCD8⁺) citotóxicos controlan parcialmente la replicación viral, eliminando una gran cantidad de células infectadas en respuesta a los LTCD4⁺ activados. Al final de la fase, se inicia la seroconversión por la producción de anticuerpos específicos.
- **Fase intermedia, crónica o de latencia:** el virus entra en un estado de latencia al integrarse en el ADN de los LTCD4⁺. La CVP desciende por el silenciamiento transcripcional del provirus y por la respuesta inmune específica. A medida que la enfermedad avanza, se produce la pérdida progresiva de LTCD4⁺ y el sistema inmune se debilita, causando alteraciones estructurales y funcionales en los GL durante 5-10 años.
- **Fase final (SIDA):** los GL se destruyen y las células dendríticas (CD) ya no pueden contener al virus, que pasa a sangre en grandes cantidades. El sistema inmune es incapaz de controlar la infección debido a la continua destrucción de los LTCD4⁺, que limita la acción citotóxica de los LTCD8⁺. Como consecuencia de todo ello, se produce una **inmunosupresión severa**, que cursa con infecciones oportunistas, linfadenopatías, complicaciones neurológicas (demencia del SIDA), neoplasias (sarcoma de Kaposi, linfoma de Hodgkin) y otros síntomas y síndromes. Se considera SIDA cuando los niveles plasmáticos de LTCD4⁺ son inferiores a 200 unidades por μ l (3,14,15).

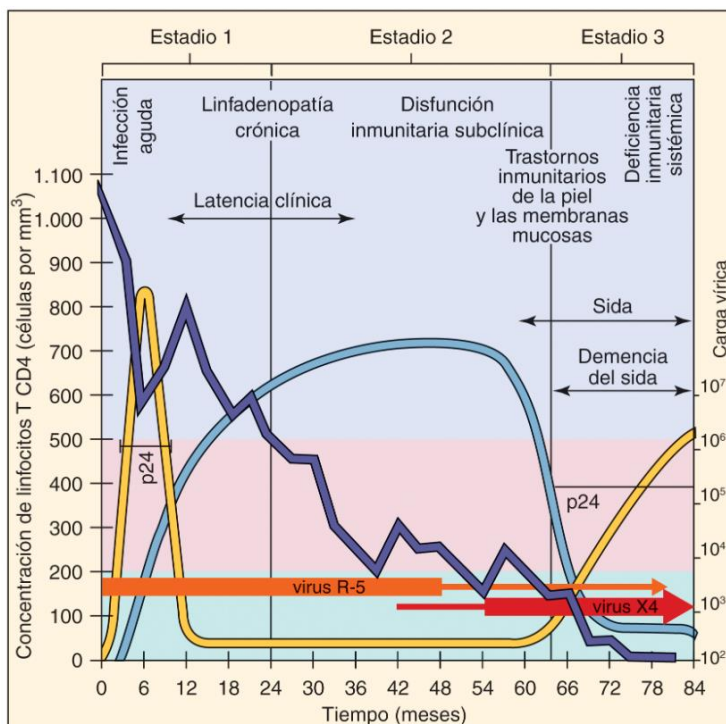


Figura 4. Etapas de la infección producida por VIH. Estadio 1: fase aguda. Estadio 2: fase crónica. Estadio 3: fase final (SIDA). En amarillo se representa la CVP, en azul oscuro los niveles plasmáticos de LTCD4⁺ y en azul claro los anticuerpos anti-VIH-1. Durante la fase aguda predominan los virus R5 trópicos (correceptor CCR5), mientras que en la fase final abundan los X4 trópicos (correceptor CXCR4) (3).

El **diagnóstico** de la infección por VIH se realiza mediante pruebas de laboratorio, que identifican marcadores serológicos y virológicos. Estas pruebas se dividen en ensayos de cribado, que detectan las muestras positivas con una alta sensibilidad, y ensayos de confirmación, que validan las muestras reactivas con una elevada especificidad. La fiabilidad de las pruebas serológicas puede verse limitada por el periodo ventana, es decir, el tiempo que transcurre entre la infección y la seroconversión, durante el cual es posible obtener resultados negativos, incluso si la persona está infectada (16,17).

El **ensayo de cribado** más utilizado es el ensaimunoanálisis de adsorción (ELISA), que ha experimentado una notable evolución durante las últimas décadas. Los ELISA de 1^a generación utilizaban virus lisados como antígenos y tenían un periodo ventana de hasta 6 meses. En la actualidad se usan los de 4^a generación, que detectan simultáneamente anticuerpos anti-VIH-1 y 2 y antígeno p24, reduciendo el periodo ventana a 15 días y aumentando la sensibilidad por encima del 99%. Es importante destacar que todos los resultados positivos o dudosos de los ELISA deben ser validados con un segundo **ensayo de confirmación**, que tradicionalmente ha sido el *western blot* (WB) o el inmunoanálisis en línea (LIA). Ambas técnicas son lentas y costosas, por lo que surge la necesidad de una prueba de confirmación más rápida y económica, como la inmunocromatografía de diferenciación de anticuerpos anti-VIH-1 y 2. Por otro lado, las **técnicas rápidas de cribado**

inmunocromatográficas y otros análisis de cribado para orina y mucosa bucal han ganado gran popularidad durante los últimos años por dar resultados preliminares en menos de 30 minutos y ser sencillos de realizar. Además, su tasa de falsos negativos es muy baja y ayudan a reducir la transmisión y no perder oportunidades de diagnóstico, aunque deben ser confirmadas con ELISA debido a que tienen una menor sensibilidad y un mayor periodo ventana. Solo en pacientes en los que se sospeche una infección aguda, pacientes neonatales y pacientes con resultados serológicos indeterminados está justificada la detección de ARN mediante **métodos genómicos**, como la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), que cuantifica la CVP. Por último, se puede determinar el número total de LTCD4⁺ y la proporción CD4⁺/CD8⁺ para identificar la fase de la enfermedad (3,16,17).

A pesar de los grandes avances en la epidemia de VIH/SIDA, la comprensión de la biología del VIH y la patogenia de la infección y el desarrollo de técnicas diagnósticas, la infección por el VIH sigue siendo una enfermedad crónica que requiere TAR de por vida, con los efectos adversos, los costos significativos y la resistencia a largo plazo que ello conlleva. Una cura no solo liberaría a los pacientes de un tratamiento crónico, sino que también solucionaría estos problemas económicos y de salud. En este contexto, es imperativo explorar nuevas estrategias para la curación del VIH y mejorar la calidad de vida de quienes viven con él (18).

Dadas las características del VIH, su erradicación completa es incompatible tanto a nivel individual, donde tendría que ser eliminado de todos los reservorios celulares, como a nivel de salud pública, donde se tendría que reducir su incidencia a cero. Por ello, es más realista centrarse en la **curación funcional** de la infección, que implica mantener la CVP a niveles muy bajos en ausencia de TAR (remisión de la infección) (19).

Se han documentado contados casos de erradicación total del VIH mediante trasplante de progenitores hematopoyéticos, así como casos de curación funcional. Estos últimos incluyen a los **controladores de élite** (<1% de los infectados), que logran controlar la infección de forma natural, y a los **controladores postratamiento** (5-10% de los infectados), que alcanzan este estado después de recibir TAR. Los controladores del VIH representan una esperanza tangible para alcanzar la cura y subrayan la importancia de centrarse en la curación funcional (18).

2. OBJETIVOS

El **principal objetivo** del presente trabajo de fin de grado es revisar las características de los reservorios de latencia del VIH para entender la limitación de la TAR y analizar las estrategias actuales encaminadas a lograr la curación del VIH. Para cumplir este objetivo, se establecieron los siguientes objetivos secundarios:

- Analizar la TAR actualmente utilizada y las limitaciones que presenta.
- Describir los reservorios virales y explicar los mecanismos de latencia que dificultan la posibilidad de curación con la TAR.
- Exponer las principales estrategias de curación del VIH.

3. METODOLOGÍA

Para alcanzar los objetivos mencionados se llevó a cabo una **revisión bibliográfica** usando la base de datos *Pubmed* y el motor de búsqueda *Google Scholar*. La búsqueda de artículos se realizó en marzo de 2024 y el principal término clave empleado fue “*HIV*”. Se utilizó también el operador booleano “*AND*” aunado a los términos secundarios específicos: “*reservoir*”, “*cure strategies*”, “*shock and kill*” y “*block and lock*”. Debido a la gran cantidad de artículos obtenidos y para asegurar que la información fuera lo más actual posible, se realizó un cribado por fecha de publicación. Se buscaron los artículos publicados como máximo 5 años antes de la fecha de búsqueda. Los artículos que finalmente se consideraron fueron aquellos que se ajustaron más al objetivo principal del trabajo. Se tuvo en cuenta que no fuesen muy específicos para no desviarse del objetivo y poder dar una visión general de todas las estrategias en investigación.

4. DESARROLLO

4.1. TERAPIA ANTIRRETROVIRAL ACTUAL Y SUS LIMITACIONES

Ante la ausencia de una cura o vacuna eficaz, las medidas educativas (uso de preservativos, no consumir drogas, no compartir agujas, etc), la profilaxis y la TAR son clave para evitar nuevas infecciones y muertes (3). En este sentido, el **desarrollo de la TAR** ha supuesto uno de los mayores hitos en la medicina moderna, ya que ha conseguido casi igualar la esperanza de vida de una persona infectada a la de la población general, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Además, reduce la CVP hasta niveles indetectables, lo que disminuye el riesgo de transmisión en más de un 90% y permite la reconstitución del sistema inmunitario. Por ello, se recomienda su inicio en todas las personas infectadas, independientemente del recuento de LTCD4⁺ (9).

Hoy en día se emplea la **terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA)** (3), en la cual se combinan tres o cuatro fármacos antirretrovirales. La Administración de Alimentos y

Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos clasifica a más de 40 antirretrovirales en 7 grupos distintos (12). Todos ellos interfieren con fases o enzimas de la replicación viral:

- **Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN):** provocan el bloqueo de la elongación de la cadena de ADN proviral (abacavir, emtricitabina, lamivudina, tenofovir, zidovudina).
- **Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINAN):** se unen al sitio activo de la enzima, reduciendo su actividad polimerasa e impidiendo la síntesis del ADN proviral (doravirina, efavirenz, etravirina, nevirapina, rilpivirina).
- **Inhibidores de la proteasa (IP):** se unen al sitio activo de la enzima, inhibiendo el procesamiento del precursor Gag-Pol (atazanavir, darunavir, fosamprenavir, ritonavir, saquinavir, tipranavir).
- **Inhibidores de la integrasa (INSTI):** se unen al sitio activo de la enzima, inhibiendo la integración del ADN proviral en el genoma de la célula hospedadora (cabotegravir, dolutegravir, raltegravir).
- **Inhibidores de la unión:** impiden la entrada del virus mediante la unión a la subunidad gp120 (fostemsavir) o al receptor CD4 (ibalizumab-uiyk).
- **Antagonistas CCR5:** impiden la entrada del virus mediante la unión al correceptor CCR5 (maraviroc).
- **Inhibidores de la fusión:** impiden la entrada del virus mediante la unión a la subunidad gp41 (enfuvirtida).

La **pauta inicial recomendada** está formada por dos ITIAN y un tercer fármaco (ITINAN, IP o INSTI). De forma global, el régimen más utilizado es el que combina dos ITIAN y un ITINAN, aunque la FDA recomienda dos ITIAN y un IP. La elección del tercer fármaco depende de su disponibilidad, del régimen de dosificación, de la medicación, de enfermedades y características demográficas del paciente y del precio. También se puede considerar la administración de dos fármacos como **profilaxis previa a la exposición (PPrE)** en individuos no infectados en riesgo de contagio, siendo la pauta preferida tenofovir/emtricitabina (9); o bien administrar tenofovir/emtricitabina + INSTI (raltegravir, dolutegravir) o IP (darunavir, ritonavir) durante 28 días como **profilaxis postexposición (PPE)** para prevenir la transmisión del virus, siendo el plazo máximo de 72 horas tras la exposición (20).

Mientras tanto, la investigación de **nuevos antirretrovirales** prosigue para dar alternativas a los pacientes con fracaso virológico e infección multirresistente. Los fármacos en desarrollo, mayoritariamente en ensayos preclínicos, actúan en la fase de maduración del virión o sobre las dianas ya conocidas. Es el caso del lenacapavir, un inhibidor multifase de la cápside aprobado recientemente, que altera procesos clave en la replicación viral, como el ensamblaje, la liberación del virus y la formación de la nucleocápside (21); y del islatravir, un inhibidor de

la translocación de la RT evaluado en ensayos clínicos, que impide la retrotranscripción del ARN viral. En el futuro, es posible que otras líneas de investigación desarrollen fármacos con nuevos mecanismos de acción, dirigidos hacia dianas aún inexploradas, como la actividad ribonucleasa de la RT, la proteína NC (p7) y la proteína Nef (22). Además, se están utilizando nuevos sistemas de administración, como los transdérmicos y nanotecnológicos, que mejoran la biodisponibilidad, la frecuencia de administración y la estabilidad de los antirretrovirales actuales administrados vía oral o parenteral (23).

Aunque la TAR mejora la calidad de vida de los pacientes, conlleva problemas de adherencia debido al tratamiento de por vida, la polifarmacia, las pautas complejas y el estigma social. Además, se asocia con reacciones adversas, como trastornos cardiovasculares, hepáticos, óseos y obesidad, así como con el desarrollo de resistencias (18).

Por otra parte, la TAR no se dirige a las células donde el provirus permanece latente, sin replicación. Además, estas células latentes no expresan proteínas virales en su superficie, lo que las hace fenotípicamente indistinguibles de las células no infectadas y, por tanto, invisibles para el sistema inmune (13,24). Por tanto, es crucial caracterizar los reservorios y los mecanismos de latencia virales para comprender cómo el virus persiste en el organismo a pesar del sistema inmune y la TAR, y para poder explorar nuevos enfoques terapéuticos innovadores capaces de controlar la infección.

4.2. RESERVORIOS Y MECANISMOS DE LATENCIA VIRALES

Como se ha mencionado, la integración del provirus en el ADN celular mediante la transcriptasa inversa permite que el VIH permanezca latente en el organismo, estableciendo RLV durante las primeras semanas de la infección, cuando el individuo aún no conoce su estado de portador y, por tanto, no ha comenzado la TAR. Debido a la incapacidad de la TAR para actuar sobre el provirus integrado, los RLV pueden persistir durante años y proliferar mediante expansión clonal inducida en respuesta al antígeno viral, imposibilitando la curación (13). De hecho, una vez reactivados o tras la suspensión de la TAR, pueden incrementar la CVP hasta niveles detectables en tan solo dos semanas (24).

Los reservorios virales comprenden todas los tejidos y células que siguen albergando al virus en presencia de la TAR. Se pueden dividir según su escala en reservorios anatómicos, celulares y moleculares (25) (Figura 5).

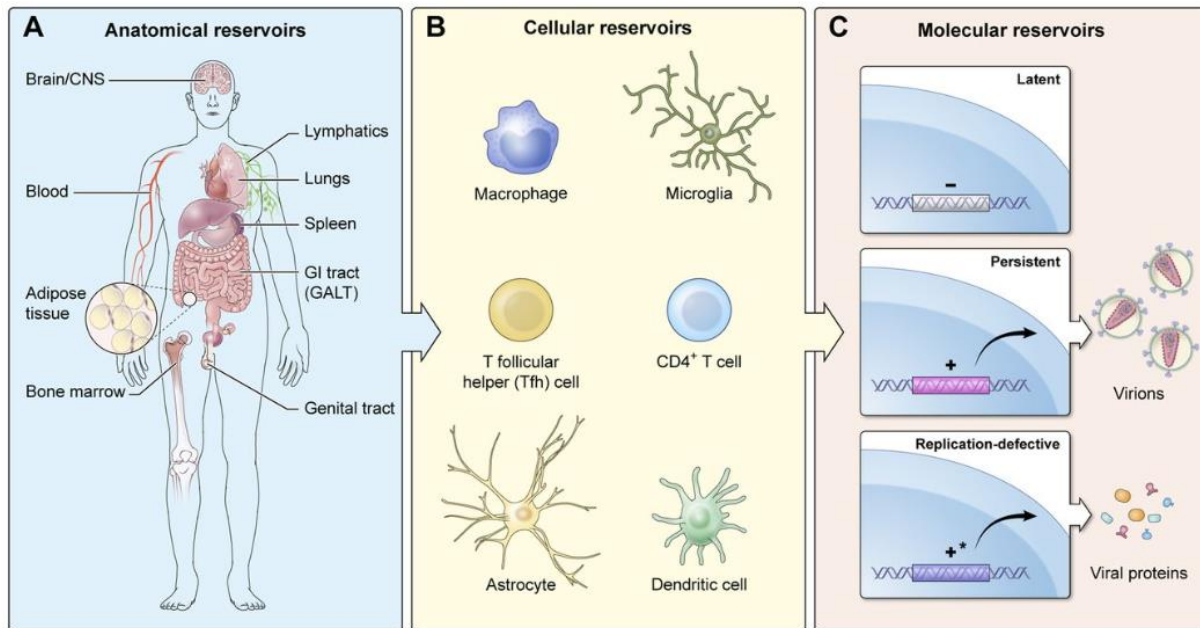


Figura 5. Tipos de reservorios del VIH. Determinados compartimentos anatómicos y tejidos (A) contienen distintos tipos celulares (B) capaces de ser infectados por el VIH. Los mecanismos moleculares de las células influyen en la transcripción del provirus integrado (C) (25).

El estudio de los **reservorios anatómicos** es complicado dada la dificultad para adquirir una muestra. Una autopsia en humanos reveló que el VIH se había integrado en células de hasta 28 tipos de tejidos distintos, mayoritariamente en los GL y, sobre todo, en el tejido linfoide asociado al intestino (GALT) (>98%). Otros tejidos con altas concentraciones de macrófagos constituyen también importantes reservorios, como el tejido adiposo, el hígado, los pulmones, los riñones, el cerebro y el tracto genital, aunque su implicación en el mantenimiento de los RLV aún no está claramente definida. Algunos de estos tejidos se conocen como **santuarios anatómicos**, ya sea por evadir la respuesta de los LTCD8⁺, como los folículos de células B, o por estar protegidos de la TAR, como el cerebro, la médula espinal y el tracto genital (26).

El VIH puede infectar todos los tipos de LTCD4⁺ efectores, aunque los RLV se establecen principalmente en los **LTCD4⁺ memoria en reposo**, que tienen una semivida de 44 meses. Por otro lado, se ha demostrado la presencia de provirus en otros tipos celulares, como macrófagos, CD, progenitores hematopoyéticos, astrocitos, microglía y células epiteliales. Estas células contribuirían al reservorio por ser más longevas y por su capacidad para infiltrarse en diferentes tejidos y diseminar el virus, aunque se considera que su relevancia en el mantenimiento de los RLV es menor (13,24,26).

Si bien los RLV representan el mayor reto a superar para curar la infección, hay que tener en cuenta que las mutaciones y recombinaciones pueden convertir una secuencia viral latente en una activa. Por ello, los **reservorios moleculares** pueden ser latentes, activos persistentes y activos con replicación defectiva. En los RLV, el virus permanece en un estado de

silenciamiento transcripcional, mientras que en los reservorios activos se produce la transcripción del provirus para sintetizar viriones infecciosos o partículas similares a virus (VLP). Recientemente, se ha resaltado la importancia de las VLP, que causan inflamación persistente y envejecimiento prematuro del sistema inmune, lo que deriva en estrés oxidativo, acortamiento de los telómeros y disfunción mitocondrial. Por tanto, la complejidad del reservorio viral no solo radica en la heterogeneidad de los tejidos y células implicados, sino también en el dinamismo molecular de los provirus y el microambiente celular (13,25,27).

Se han propuesto varios **modelos** para explicar el establecimiento de los RLV en los LTCD4⁺. La teoría más aceptada sugiere que los LTCD4⁺ activados entrarían en un estado de reposo tras ser infectados, suprimiendo así la expresión de los genes virales. La latencia también podría establecerse a través de la infección de LTCD4⁺ activados que reverterían a un estado quiescente (G0) o por la infección directa de LTCD4⁺ memoria en reposo (26,28).

Los provirus latentes se establecen y mantienen, en parte, por modificaciones epigenéticas, factores de transcripción y moléculas de señalización que refuerzan la latencia. De hecho, esta latencia está mediada por mecanismos de regulación *cis* y *trans* que impiden que los factores de transcripción accedan a la región promotora viral (Figura 6). Los **mecanismos cis** regulan el entorno de la cromatina del provirus al modificarla epigenéticamente, por ejemplo, mediante la metilación del ADN de las islas CpG, provocando un estado de heterocromatina. Las histonas también experimentan cambios realizados por enzimas específicas, como la metilación (histona metiltransferasa), la deacetilación (histona deacetilasa) y la crotonilación (ACSS2). Los **mecanismos trans** regulan factores de transcripción virales y celulares, relacionándose con la ausencia de factores activadores de la transcripción celular, como los factores NF-κB, NFAT o P-TEFb, y con la presencia de represores transcripcionales, como los represores CTIP2, NELF o DSIF. Otros mecanismos que pueden contribuir a la latencia son la integración del provirus en un sitio del genoma celular con baja actividad transcripcional y la interferencia transcripcional con otros genes celulares. La comprensión de estos mecanismos es fundamental para esclarecer una estrategia curativa eficaz, ya que pueden ser la diana de muchos fármacos (13,26,28).

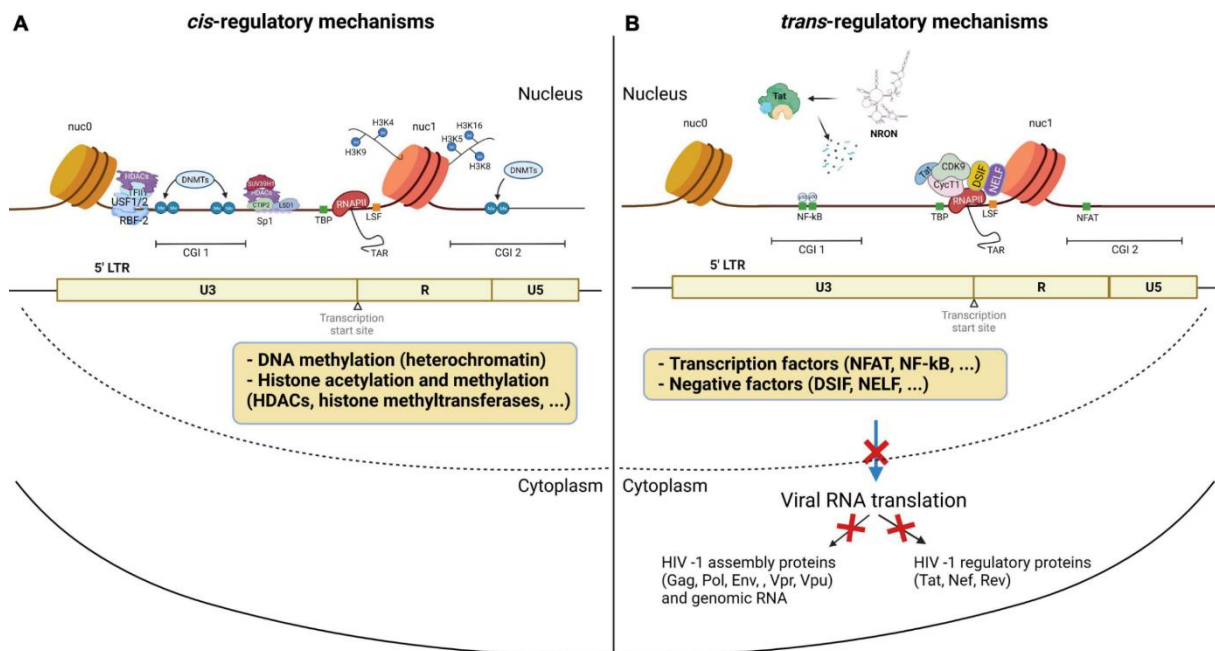


Figura 6. Mecanismos moleculares de latencia del VIH. La metilación de las islas CpG mantiene la región promotora en estado de heterocromatina y la deacetilación de las histonas limita el acceso de los factores de transcripción. El inicio de la transcripción es bloqueado por la unión de homodímeros a NF-κB y la fosforilación de NFAT. Tras el inicio de la transcripción, la unión de factores negativos de la elongación (NELF, DSIF) impiden el avance de la ARN pol II. El ARN no codificante largo, conocido como NRON, degrada Tat. Como consecuencia de todo ello, no se sintetizan las proteínas virales ni se producen nuevos viriones (13).

Por otro lado, algunos estudios relacionan el tamaño, la distribución y/o la actividad del reservorio con el sexo, la edad, el subtipo de VIH, el tiempo en el que se inicia la TAR, la inflamación crónica y el control inmunológico del paciente, lo que incrementaría aún más su complejidad. Por ejemplo, las diferencias asociadas al sexo podrían deberse a la actividad de los estrógenos, que inhiben la transcripción viral. El sistema inmune de los neonatos y los niños se caracteriza por su gran abundancia en LTCD4⁺ vírgenes y pocas células memoria, al contrario que el de los ancianos, en el que hay pocos LTCD4⁺ vírgenes y muchos LTCD4⁺ efectores con provirus latentes. Por último, la infección por el subtipo B del VIH-1, el tratamiento tardío, la inflamación crónica producida por el propio virus y la infección en pacientes no controladores conllevan RLV significativamente mayores (29).

El estudio y la cuantificación de los RLV resulta crítico para evaluar la efectividad de las estrategias curativas. Actualmente, el ensayo de proliferación viral (VOA) se considera el método de referencia (*gold standard*). Mide la replicación viral en LTCD4⁺ memoria en reposo diluidos previamente activados. No obstante, este método es caro, lleva tiempo, requiere de una gran cantidad de hemocultivos e infraestima el resultado, ya que no permite la activación de todas las células. Otra técnica para medir los RLV se basa en la **detección del ADN proviral total**, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Es una técnica relativamente simple y rápida, aunque sobrestima los resultados dado que no distingue los

virus intactos de los defectivos. Para contrarrestar los retos mencionados, se han desarrollado varios enfoques innovadores, como el ensayo de ADN proviral intacto (IPDA), que diferencia los virus intactos de los defectivos (26).

El avance en la comprensión de los reservorios y mecanismos de latencia virales ha permitido el desarrollo de estrategias dirigidas al control y la eliminación de las células latentemente infectadas.

4.3. ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS EN INVESTIGACIÓN PARA LA CURACIÓN DE LA INFECCIÓN POR VIH

El control de la reinfección viral a largo plazo con la consiguiente supresión de la TAR solo se ha observado en cinco pacientes sometidos a **trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (TACMH)**, conocidos como el paciente de Berlín, el paciente de Londres, el paciente de Nueva York, el paciente de Düsseldorf y el paciente de la Ciudad de la Esperanza. Sin embargo, el TACMH no es escalable a la población general dado que se asocia con un incremento en la morbilidad y mortalidad (30,31).

Por ello, teniendo en cuenta las características biológicas del virus y la complejidad de los RLV, se han planteado las siguientes estrategias encaminadas a la reducción del tamaño de los RLV (Figura 7) y a la mejora del sistema inmune, lo que podría resultar en la curación definitiva de la infección por VIH (18,32):

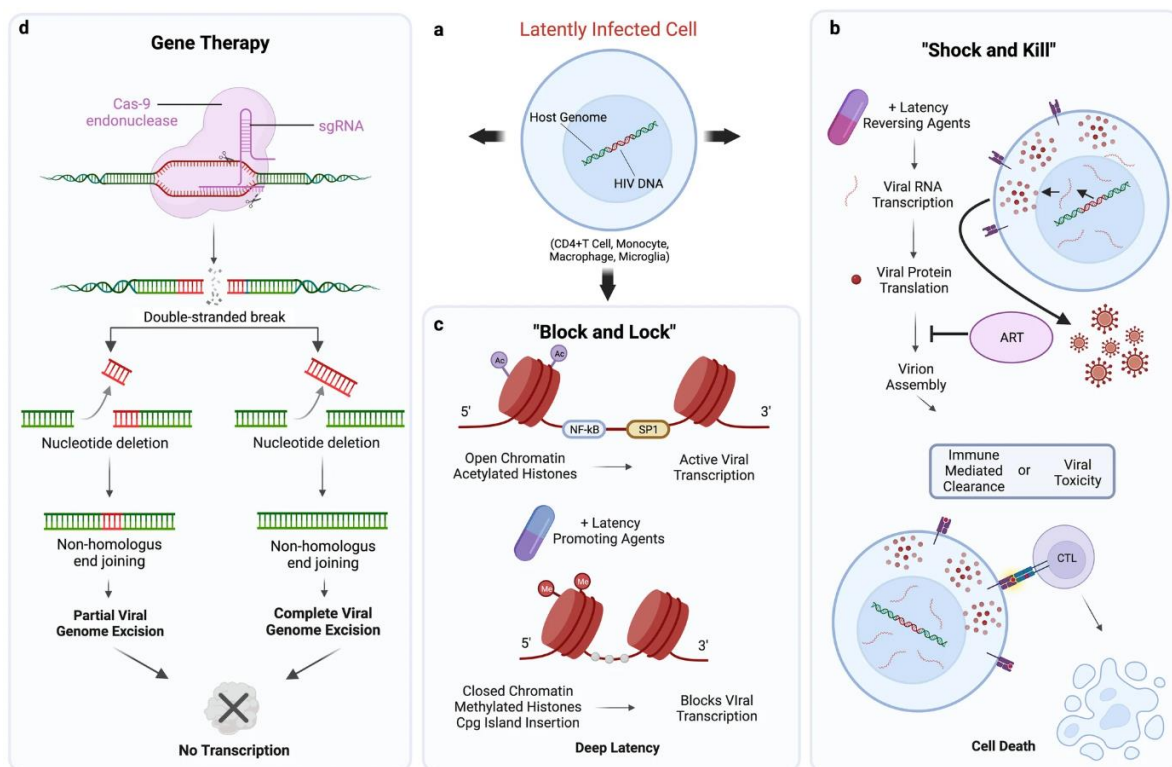


Figura 7. Principales estrategias de eliminación de los RLV (a): *shock and kill* (b), *block and lock* (c) y terapia génica (d) (33).

- **Inicio precoz de la TAR:** disminución del establecimiento del reservorio o su tamaño.
- **Shock and kill:** reversión de la latencia viral.
- **Block and lock:** inhibición de la reactivación viral.
- **Métodos inmunológicos:** fortalecimiento de la respuesta del sistema inmune.
- **Terapia génica:** modificación genética de las células infectadas.

4.3.1. INICIO PRECOZ DE LA TAR

El inicio precoz de la TAR preserva la función inmune, limita la diversificación del virus, minimiza las complicaciones relacionadas con el VIH y previene la transmisión a otras personas al reducir la viremia. Su uso como PPE sugiere que es capaz de eliminar las primeras células infectadas, pero en la mayoría de los pacientes únicamente consigue reducir el tamaño de los RLV tras varios años de tratamiento y de manera muy insignificativa. A pesar de no ser curativa, parece modificar la dinámica de la infección y la respuesta inmune, tal y como se observa en los controladores postratamiento. Estos pacientes alcanzan un estado de remisión viral tras iniciar la TAR durante las primeras semanas o meses de la infección, seguirla durante varios años y abandonarla por diversos motivos. El inicio temprano de la TAR también puede ser beneficioso para recién nacidos, aunque solo bajo determinadas circunstancias. Un ejemplo es el caso del bebé de Misisipi infectado en el útero, que inició la TAR a las 30 horas de nacer y la cesó a los 18 meses, experimentando 30 meses de remisión viral antes de la recaída. Esto evidencia que la curación en bebés podría ser posible si la TAR se inicia temprano o se mantiene durante más tiempo (18,28,30,32).

Por otra parte, se ha propuesto la intensificación de la TAR con el objetivo de detener la replicación en los reservorios activos, ya sea aumentando la dosis o añadiendo fármacos más potentes. No obstante, los estudios llevados a cabo no evidenciaron cambios en los RLV, y tan solo la combinación de maraviroc y raltegravir produjo una ligera disminución del ADN viral en la mucosa intestinal (28,32).

4.3.2. SHOCK AND KILL

Mientras que el objetivo de la TAR es impedir la infección de nuevas células, el de la estrategia *shock and kill* es reactivar la transcripción viral en células latentes (**shock**) mediante el uso de **agentes revertidores de la latencia (ARL)**, induciendo la expresión de las proteínas virales, y así poder eliminar los RLV por el efecto citopático viral o por la respuesta inmune mediada por LTCD8⁺ (**kill**). Hasta el momento, se han identificado más de 300 compuestos químicos que actúan como ARL, clasificados según su mecanismo de acción en 5 grupos principales (32,34,35):

- **Citoquinas o agonistas de receptores:** activan los genes virales y sus factores de transcripción mediante la estimulación de receptores celulares específicos. Entre ellos se incluyen las interleucinas (IL-15) y los agonistas de los receptores tipo Toll.
- **Modificadores epigenéticos:** alteran la estructura de la cromatina al inhibir las enzimas responsables de los mecanismos *cis*, lo que permite la accesibilidad de los promotores virales y la transcripción del provirus. Se incluyen en este grupo los inhibidores de la histona deacetilasa (iHDAC) como el vorinostat, los inhibidores de la histona metiltransferasa (iHMT) como el AZ505, y los inhibidores de la ADN metiltransferasa (iDNMT) como la zebularina.
- **Moduladores de moléculas de señalización:** activan las proteínas quinasas que participan en las vías de señalización activadoras de los factores de transcripción, como las vías NF- κ B, AP-1, MAPK y JAK/STAT. Pertenecen a este grupo los agonistas de la proteína quinasa C (ingenol B y análogos) y los agonistas MAPK (procianidina C1).
- **Reguladores de factores de transcripción:** inhiben la acción de los represores transcripcionales, permitiendo la transcripción del provirus, como los inhibidores de bromodominios y dominios extraterminales (JQ1).
- **Otros ARL con mecanismo de acción indeterminado:** incluyen compuestos cuya acción reactivadora del virus latente ha sido observada *in vitro*, pero cuyo mecanismo específico aún no ha sido completamente elucidado, como los antioxidantes (auranofín) y los activadores de la proteína fosfatasa 1 (SMAPP1).

Numerosos ARL han mostrado su eficacia tanto *in vitro* como *ex vivo*, siendo los **iHDAC** los más estudiados. No obstante, los resultados obtenidos en ensayos clínicos han demostrado que los ARL administrados por aislado no reducen el tamaño de los RLV, a pesar de aumentar la producción del VIH. La combinación sinérgica de varios ARL con distintos mecanismos de acción tampoco mejoró los resultados, aunque potenció la reactivación del virus y disminuyó la toxicidad de cada molécula por separado. Otros problemas a resolver con los ARL son su penetración en los santuarios anatómicos, sus efectos adversos y la respuesta inmunológica exagerada que provocan (tormenta de citoquinas) (34,36,37).

En relación a la **fase de kill**, la eliminación de los RLV por el efecto citopático viral o por la respuesta inmune se encuentra limitada por el agotamiento de los LTCD8⁺ durante la fase crónica de la enfermedad, así como por la producción insuficiente de antígenos virales por parte de los ARL, que no consiguen reactivar todos los RLV. Por ello, se han propuesto diferentes estrategias encaminadas a inducir las vías proapoptóticas y la lisis celular de forma específica en las células infectadas, sin afectar a las sanas. Una de ellas, denominada **prime, shock and kill**, consiste en sensibilizar las células latentes a la apoptosis mediante la administración antes de la fase de *shock* de agentes que participan en las vías de muerte

celular programada, como los inhibidores de proteínas antiapoptóticas (BCL-2, PI3K, DDX3). Otra aproximación, conocida como **lock in and apoptosis**, trata de bloquear la gemación de los viriones e inducir la apoptosis mediante la administración de una novedosa molécula conocida como L-HIPPO después de la fase de *shock*, inhibiendo el precursor viral Pr55Gag, lo que resulta en la acumulación de proteínas virales en el citoplasma (38,39).

4.3.3. BLOCK AND LOCK

En contraposición al *shock and kill*, el *block and lock* pretende evitar el uso de la TAR mediante el silenciamiento irreversible de la transcripción viral utilizando **agentes promotores de la latencia (APL) (block)**, al mismo tiempo que induce un estado de latencia profunda en la región promotora viral por modificaciones epigenéticas (**lock**), deteniendo así la producción viral. La viabilidad de un silenciamiento a largo plazo del VIH se ve respaldada por el hecho de que aproximadamente el 8% del genoma humano está compuesto por antiguos retrovirus integrados. Así pues, durante los últimos años se ha impulsado la investigación de nuevos APL para conseguir la latencia mediante diferentes mecanismos, como (13,28,40,41):

- La **inhibición de la proteína Tat** por las moléculas didehidro-cortistatina A (dCA) o *Nullbasic*.
- El **silenciamiento epigenético** inducido por moléculas de ARN.
- La **inhibición de moléculas activadoras de la transcripción**, como los inhibidores del BRD4 (ZL0580), los inhibidores de la integrasa (LEDGIN GS-9822) y los inhibidores de mTOR (Torin1).

Hasta la fecha, ninguno de los APL estudiados *in vitro* y *ex vivo* se ha utilizado en ensayos clínicos en humanos. Si bien la mayoría de ellos son eficaces para inducir la latencia (*block*), muy pocos logran mantener los promotores virales en un estado de superlatencia (*lock*). La molécula más estudiada, la **dCA**, está pendiente de ser evaluada en ensayos clínicos. Por otro lado, para que la represión epigenética mediante ARN sea efectiva, es necesario combinar varias moléculas que actúen sobre distintas secuencias conservadas del provirus. Además, es crucial abordar la inestabilidad del ARN con el desarrollo de vectores, tanto virales como no virales, que aseguren su entrada efectiva a las células infectadas (40,42,43).

Las estrategias **shock and kill** y **block and lock** se podrían complementar y aplicarse secuencialmente para alcanzar la curación del VIH, aprovechando los diferentes grados de transcripción en las células y tejidos infectados. En primer lugar, se administraría un ARL para revertir la latencia viral y eliminar las células con mayor capacidad de reactivación. Posteriormente, se administraría un APL para bloquear y silenciar indefinidamente las células que son difíciles de reactivar con un ARL y que, por tanto, presentan una mayor latencia establecida mediante los mecanismos *cis* y *trans* (36).

4.3.4. MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

La muerte celular, además de con las estrategias previamente descritas en la fase de *kill*, también se podría producir mediante el reforzamiento del sistema inmune. La estimulación antigénica constante lleva a la activación crónica del sistema inmune, a la inflamación persistente y, posteriormente, al agotamiento inmunológico, caracterizado por la depleción de $LTCD4^+$, la disminución de los efectos citotóxicos de los $LTCD8^+$ y la reducción de anticuerpos sintetizados por linfocitos B. Por tanto, potenciar la respuesta del sistema inmune permitiría controlar mejor la infección y eliminar el VIH de las células infectadas (13,32).

Entre los métodos inmunológicos investigados (Figura 8) se incluyen la modificación de la inmunidad innata celular, el bloqueo de los puntos de control inmunológicos y la modulación de la inmunidad adaptativa (44).

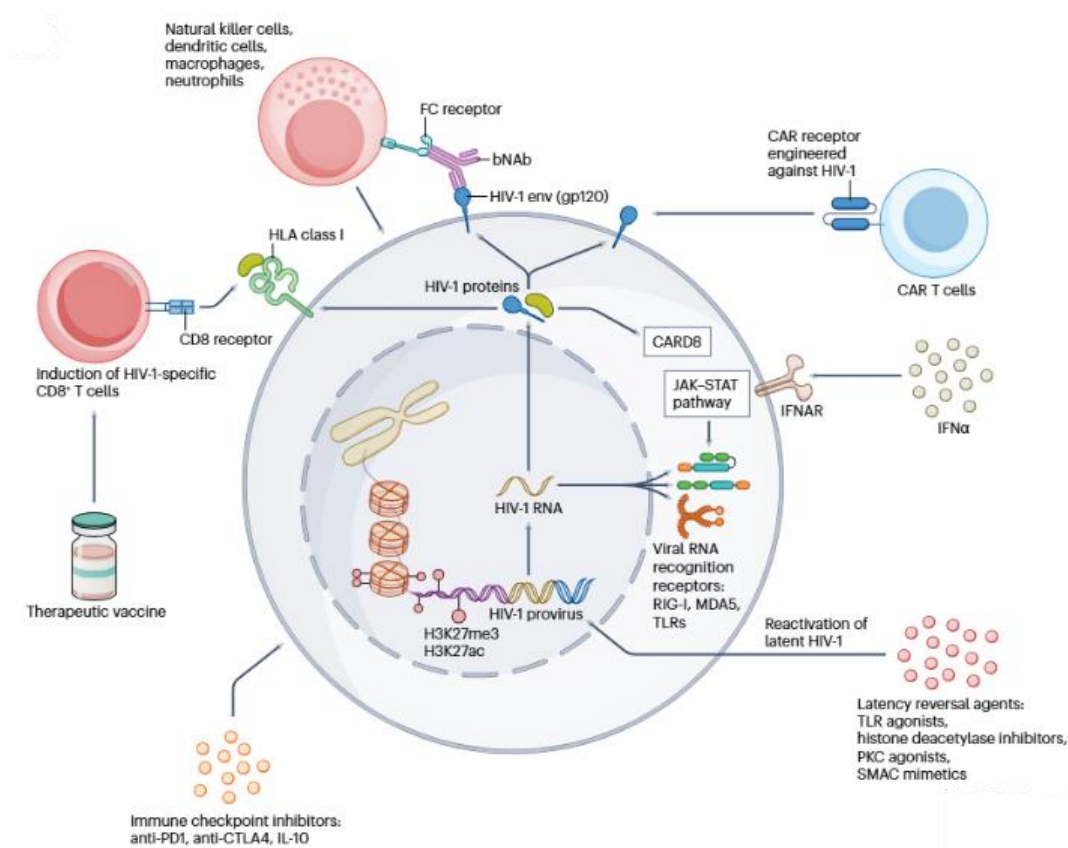


Figura 8. Estrategias inmunológicas de eliminación de los RLV (44).

La síntesis de ARN viral en algunas células infectadas representa una oportunidad para atacar los RLV, ya que permitiría ser reconocido por la **inmunidad intrínseca celular** mediante la activación de la vía de señalización JAK/STAT. La administración de $INF-\alpha$ recombinantes o agonistas de los receptores tipo Toll podría potenciar esta vía, aunque todavía queda por analizarlo en ensayos clínicos. También se están desarrollando agentes farmacológicos que aumenten las vías de muerte celular intrínseca en las células infectadas, concretamente las relacionadas con la activación del inflamósoma dependiente de CARD8 (44).

Por otra parte, los **puntos de control inmunológico**, como PD-1 y CTLA-4, son receptores marcadores del agotamiento funcional y se expresan en los LTCD4⁺ activados. Al unirse el ligando con su respectivo receptor se produce una señal inhibitoria, impidiendo la proliferación, función efectiva y la replicación del VIH. Por ello, el uso de inhibidores de los receptores PD-1 y CTLA-4 o de sus respectivos ligandos puede reactivar los LTCD4⁺ y aumentar la sensibilidad de sus receptores a los antígenos virales, potenciando la respuesta inmune. Sin embargo, el bloqueo de PD-1 llevado a cabo en un ensayo clínico en fase I mostró reacciones adversas inmunitarias graves, limitando la estrategia a pacientes con cáncer (32,44).

Por último, para modular la **inmunidad adaptativa** se han propuesto tres estrategias distintas:

- **Vacunas terapéuticas:** tienen como objetivo aumentar la capacidad del sistema inmune mediante la inducción de respuestas específicas de los LTCD8⁺. Por el momento, ninguna de las vacunas ensayadas, ya sea de forma aislada o en combinación con ARL, ha logrado reducir el tamaño de los RLV. Se espera que futuras modificaciones en la vacuna mejoren la potenciación del sistema inmune adaptativo y prolonguen la duración de la protección, mediante el empleo de nuevos vectores virales, adyuvantes y antígenos con gran inmunogenicidad (32,44,45).
- **Anticuerpos ampliamente neutralizantes (bNAbs):** se ha observado en estudios *in vitro* su capacidad de neutralizar al VIH tras su reactivación. La neutralización se produciría mediante respuestas mediadas por el receptor Fc, como la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). No obstante, la sensibilidad de los viriones frente a esta neutralización es muy variable (32,46).
- **Linfocitos T modificados genéticamente con receptores de antígenos quiméricos (CAR-T):** se utilizan LTCD8⁺ extraídos de la sangre del paciente, que son modificados *ex vivo* para que expresen el receptor de antígenos quiméricos. Una vez reintroducidos en el paciente, estos linfocitos CAR-T pueden detectar y eliminar las células infectadas directamente sin restricción por el MHC-I. Además de estos LTCD8⁺ modificados, se han diseñado **células NK con receptores antigénicos quiméricos (CAR-NK)**, las cuales poseen ventajas sobre los linfocitos CAR-T respecto a su seguridad, modificabilidad y citotoxicidad. A pesar de que la modificación genética de las células es un proceso costoso y que requiere tiempo, ambos tipos de células CAR han demostrado ser capaces de reconocer y eliminar RLV reactivados *in vitro*, y están siendo evaluadas en ensayos clínicos (28,46,47).

4.3.5. TERAPIA GÉNICA

Los cinco únicos casos de curación se consiguieron mediante el **TACMH** de donantes compatibles con la delección homocigótica del par de bases 32 en el gen CCR5 (CCR5^{Δ32/Δ32}), impidiendo la entrada del virus a la célula hospedadora y, por tanto, su replicación. La principal desventaja del TACMH es su alta morbimortalidad, lo que restringe su aplicación a pacientes con cáncer. Además, es probable que su eficacia sea mucho menor debido a la falta de informes que constaten muertes de pacientes, que es lo que cabría esperar con este método (13,30,31).

Para superar las limitaciones del TACMH, se han utilizado tres herramientas de edición génica, las nucleasas de dedos de zinc (ZFN), las nucleasas efectoras de tipo activador de transcripción (TALEN) y el sistema de repeticiones palindrómicas cortas, agrupadas y regularmente interespaciadas asociadas a la endonucleasa Cas9 (CRISPR/Cas9), siendo esta última la más precisa (32). El **sistema CRISPR/Cas9** se ha utilizado, por un lado, para obtener LTCD4⁺ con el silenciamiento génico (*knock out*) del correceptor CCR5 y/o CXCR4, recreando la mutación del correceptor que ha conducido a la curación del VIH (30). Asimismo, se está investigando utilizarlo contra el ADN proviral, concretamente para escindir las secuencias víricas diana, como gag y LTR, con la intervención del ARN guía único (sgRNA) y de la enzima Cas9. Cas9 escindiría la secuencia de ADN complementaria al sgRNA, resultando en la eliminación total o parcial del provirus (33). Varios modelos animales preclínicos han demostrado la reducción de la replicación viral tras el *knock out* de los correceptores CCR5 y/o CXCR4, y la eliminación del provirus latente por acción de la Cas9 (48). No obstante, la implementación de esta estrategia en la curación del VIH aún se enfrenta a numerosos obstáculos, como las resistencias virales producidas por el mecanismo de reparación del ADN, la inmunogenicidad preexistente contra determinadas enzimas Cas, la modificación del ADN celular y su correcta administración mediante el desarrollo de vectores virales y no virales (49).

5. CONCLUSIONES

Como se ha evidenciado en este trabajo de fin de grado, el camino hacia la curación funcional del VIH es desafiante pero esperanzador. La TAR ha sido un pilar fundamental en el manejo de la infección, reduciendo eficazmente la CVP a niveles indetectables y mejorando la calidad y esperanza de vida de millones de personas. Sin embargo, solo actúa sobre el reservorio activo, imposibilitando la curación y la restauración completa de la respuesta inmune.

La erradicación completa del virus es un objetivo extremadamente difícil de alcanzar debido a las características biológicas intrínsecas del VIH, incluyendo la formación y el establecimiento de RLV complejos, heterogéneos y dinámicos, a nivel anatómico, celular y

molecular. Estos reservorios representan el principal obstáculo para alcanzar una cura funcional, pero también ofrecen una oportunidad para el desarrollo de estrategias terapéuticas efectivas mediante un mejor entendimiento de los mecanismos moleculares de latencia.

Aunque el TACMH puede curar la infección por VIH, su morbilidad asociada y limitaciones prácticas lo hacen poco escalable. El resto de estrategias curativas revisadas, como el inicio precoz de la TAR, el *shock and kill*, el *block and lock*, los métodos inmunológicos y la terapia génica, se enfrentan a desafíos significativos en la reducción del tamaño de los RLV, lo que sugiere la necesidad de adoptar enfoques combinados o secuenciales para abordar la diversidad de los reservorios virales.

Mientras la investigación avanza gracias a la cooperación internacional y al financiamiento, es crucial controlar la propagación del VIH mediante la prevención, el diagnóstico, la educación y el acceso a la TAR, la PPrE y la PPE.

En conclusión, es poco probable que una cura escalable, clínicamente tolerable y económica para el VIH se logre en el plazo establecido por ONUSIDA, a pesar de los avances en la comprensión de la biología del virus y el desarrollo de nuevas tecnologías. Para hacer realidad una cura accesible y duradera, se requieren más estudios que evalúen adecuadamente la fiabilidad, la efectividad y la necesidad de las estrategias curativas, allanando así el camino hacia un futuro donde el VIH pueda ser finalmente curado y se ponga fin a esta epidemia global.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. ONUSIDA [Internet]. 2023 [citado 13 de mayo de 2024]. Hoja informativa — Últimas estadísticas sobre el estado de la epidemia de sida. Disponible en: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_es.pdf
2. Dirección General de Salud Pública [Internet]. 2023 [citado 13 de mayo de 2024]. Vigilancia epidemiológica del VIH y el SIDA en España. Actualización 30 de junio de 2023. Disponible en: https://www.sanidad.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/docs/Informe_VIH_SIDA_2023.pdf
3. Murray Patrick R., Rosenthal Ken, A. Pfaller Michael. Retrovirus. Microbiología médica. 9.a ed. Elsevier España; 2021. p. 533-49.
4. ONUSIDA [Internet]. 2023 [citado 13 de mayo de 2024]. Resumen ejecutivo - El camino que pone fin al sida: Actualización mundial sobre el sida 2023 de ONUSIDA. Disponible en: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2023-unaids-global-aids-update-summary_es.pdf

5. Kumah E, Boakye DS, Boateng R, Agyei E. Advancing the Global Fight Against HIV/Aids: Strategies, Barriers, and the Road to Eradication. *Ann Glob Health*. 27 de noviembre de 2023;89(1):83. DOI: 10.5334/aogh.4277
6. ICCROM [Internet] [citado 13 de mayo de 2024]. ODS 3.3: Luchar contra las enfermedades transmisibles. Disponible en:
<https://ocm.iccrom.org/es/sdgs/ods-3-salud-y-bienestar/ods-33-luchar-contra-las-enfermedades-transmisibles#:~:text=Para%202030%2C%20poner%20fin%20a,agua%20y%20otras%20enfermedades%20transmisibles>
7. ONUSIDA [Internet] [citado 13 de mayo de 2024]. El SIDA y los objetivos de desarrollo sostenible. Disponible en: https://www.unaids.org/es/AIDS_SDGs
8. Ministerio de Sanidad [Internet]. 2023 [citado 13 de mayo de 2024]. Darias asegura que España está alineada con los objetivos técnicos y aspiracionales de ONUSIDA para conseguir el objetivo 95-95-95 y la meta del 0% de discriminación. Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/gabinete/notasPrensa.do?id=6044>
9. Goldman L, Schafer AI. Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna. 26.a ed. Elsevier España; 2021. p. 2240-2297
10. Hokello J, Tyagi K, Owor RO, Sharma AL, Bhushan A, Daniel R, et al. New Insights into HIV Life Cycle, Th1/Th2 Shift during HIV Infection and Preferential Virus Infection of Th2 Cells: Implications of Early HIV Treatment Initiation and Care. *Life (Basel)*. 9 de enero de 2024;14(1):104. DOI: 10.3390/life14010104
11. Meissner ME, Talledge N, Mansky LM. Molecular Biology and Diversification of Human Retroviruses. *Front Virol*. 2 de junio de 2022;2:872599. DOI: 10.3389/fviro.2022.872599
12. van Heuvel Y, Schatz S, Rosengarten JF, Stitz J. Infectious RNA: Human Immunodeficiency Virus (HIV) Biology, Therapeutic Intervention, and the Quest for a Vaccine. *Toxins (Basel)*. 14 de febrero de 2022;14(2):138. DOI: 10.3390/toxins14020138
13. Ta TM, Malik S, Anderson EM, Jones AD, Perchik J, Freylikh M, et al. Insights Into Persistent HIV-1 Infection and Functional Cure: Novel Capabilities and Strategies. *Front Microbiol*. 27 de abril de 2022;13:862270. DOI: 10.3389/fmicb.2022.862270
14. Borstnar CR, Cardellach F. Infecciones causadas por los virus de la inmunodeficiencia humana de tipos 1 y 2. Farreras Rozman Medicina Interna. 19.a ed. Elsevier España; 2020. p. 2404-18.
15. Picazo JJ, Prieto Prieto J. Virus oncogénicos. Retrovirus: virus de la inmunodeficiencia humana. Compendio de microbiología. 2.a ed. Elsevier España; 2016. p. 315-28.

16. Álvarez Estévez M, Reina González G, Aguilera Guirao A, Rodríguez Martín C, García García F. Diagnóstico microbiológico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. Octubre de 2015;33(8):e44-e52. DOI: 10.1016/j.eimc.2014.07.007
17. Pinheiro P. MD. Saúde [Internet]. 2023 [citado 13 de mayo de 2024]. Pruebas del VIH: Periodo de ventana, prueba rápida, ELISA. Disponible en: <https://www.mdsaude.com/es/enfermedades-infecciosas/ets/prueba-de-deteccion-del-vih/>
18. Ndung'u T, McCune JM, Deeks SG. Why and where an HIV cure is needed and how it might be achieved. *Nature*. 18 de diciembre de 2019;576:397-405. DOI: 10.1038/s41586-019-1841-8
19. Dubé K, Luter S, Lesnar B, Newton L, Galea J, Brown B, et al. Use of 'eradication' in HIV cure-related research: a public health debate. *BMC Public Health*. 13 de febrero de 2018;18(1):245. DOI: 10.1186/s12889-018-5141-2
20. Dominguez KL, Smith DK, Vasavi Thomas, Crepaz N, Lang K, Heneine W, et al. Updated Guidelines for Antiretroviral Postexposure Prophylaxis After Sexual, Injection Drug Use, or Other Nonoccupational Exposure to HIV—United States, 2016 [Internet]. 2016 [citado 13 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/38856>
21. AEMPS [Internet] [citado 30 de mayo de 2024]. Ficha técnica Sunlenca 300 mg Comprimidos recubiertos con película. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/1221671001/FT_1221671001.html
22. Menéndez-Arias L, Delgado R. Update and latest advances in antiretroviral therapy. *Trends Pharmacol Sci*. Enero de 2022;43(1):16-29. DOI: 10.1016/j.tips.2021.10.004
23. Cunha RF, Simões S, Carvalheiro M, Azevedo Pereira JM, Costa Q, Ascenso A. Novel Antiretroviral Therapeutic Strategies for HIV. *Molecules*. 31 de agosto de 2021;26(17):5305. DOI: 10.3390/molecules26175305
24. Andre M, Nair M, Raymond AD. HIV Latency and Nanomedicine Strategies for Anti-HIV Treatment and Eradication. *Biomedicines*. 18 de febrero de 2023;11(2):617. DOI: 10.3390/biomedicines11020617
25. Henderson LJ, Reoma LB, Kovacs JA, Nath A. Advances toward Curing HIV-1 Infection in Tissue Reservoirs. *J Virol*. 17 de enero de 2020;94(3). DOI: 10.1128/jvi.00375-19
26. Chen J, Zhou T, Zhang Y, Luo S, Chen H, Chen D, et al. The reservoir of latent HIV. *Front Cell Infect Microbiol*. 28 de julio de 2022;12:945956. DOI: 10.3389/fcimb.2022.945956

27. Zicari S, Sessa L, Cotugno N, Ruggiero A, Morrocchi E, Concato C, et al. Immune Activation, Inflammation, and Non-AIDS Co-Morbidities in HIV-Infected Patients under Long-Term ART. *Viruses*. 27 de febrero de 2019;11(3):200.
DOI: 10.3390/v11030200
28. García Alonso M. Caracterización del reservorio celular del VIH: la principal causa que evita la erradicación de esta enfermedad [Internet]. [Madrid]: Universidad Autónoma de Madrid; 2020 [citado 13 de mayo de 2024]. Disponible en: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/693795/garcia_alonso_marcial.pdf?sequence=1&isAllowed=y
29. Cohn LB, Chomont N, Deeks SG. The Biology of the HIV-1 Latent Reservoir and Implications for Cure Strategies. *Cell Host Microbe*. 8 de abril de 2020;27(4):519-530.
DOI: 10.1016/j.chom.2020.03.014
30. Harper J, Betts M, Lichterfeld M, Müller-Trutwin M, Margolis D, Bar K, et al. Progress Note 2024: Curing HIV; Not in My Lifetime or Just Around the Corner? *Pathog Immun*. 1 de marzo de 2024;8(2):115-157. DOI: 10.20411/pai.v8i2.665
31. Maina EK, Adan AA, Mureithi H, Muriuki J, Lwembe RM. A Review of Current Strategies Towards the Elimination of Latent HIV-1 and Subsequent HIV-1 Cure. *Curr HIV Res*. 2021;19(1):14-26. DOI: 10.2174/1570162X18999200819172009
32. Rodríguez-Muñoz J, Moreno S. Estrategias de curación de la infección por VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. Abril de 2019;37(4):265-273.
DOI: 10.1016/j.eimc.2018.01.007
33. Van Zandt AR, MacLean AG. Advances in HIV therapeutics and cure strategies: findings obtained through non-human primate studies. *J Neurovirol*. 27 de agosto de 2023;29(4):389-399. DOI: 10.1007/s13365-023-01162-y
34. Dash PK, Kevadiya BD, Su H, Banoub MG, Gendelman HE. Pathways towards human immunodeficiency virus elimination. *EBioMedicine*. Marzo de 2020;53:102667. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102667
35. Sadowski I, Hashemi FB. Strategies to eradicate HIV from infected patients: elimination of latent provirus reservoirs. *Cell Mol Life Sci*. Septiembre de 2019;76(18):3583-3600.
DOI: 10.1007/s00018-019-03156-8
36. Rodari A, Darcis G, Van Lint CM. The Current Status of Latency Reversing Agents for HIV-1 Remission. *Annu Rev Virol*. 29 de septiembre de 2021;8(1):491-514.
DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-103029
37. Ait-Ammar A, Kula A, Darcis G, Verdikt R, De Wit S, Gautier V, et al. Current Status of Latency Reversing Agents Facing the Heterogeneity of HIV-1 Cellular and Tissue Reservoirs. *Front Microbiol*. 24 de enero de 2020;10:3060.
DOI: 10.3389/fmicb.2019.03060

38. Campbell GR, Spector SA. Current strategies to induce selective killing of HIV-1-infected cells. *J Leukoc Biol.* Noviembre de 2022;112(5):1273-1284.
DOI: 10.1002/JLB.4MR0422-636R
39. Thomas J, Ruggiero A, Paxton WA, Pollakis G. Measuring the Success of HIV-1 Cure Strategies. *Front Cell Infect Microbiol.* 7 de abril de 2020;10:134.
DOI: 10.3389/fcimb.2020.00134
40. Ahlenstiel CL, Symonds G, Kent SJ, Kelleher AD. Block and Lock HIV Cure Strategies to Control the Latent Reservoir. *Front Cell Infect Microbiol.* 14 de agosto de 2020;10:424. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00424
41. Vansant G, Bruggemans A, Janssens J, Debyser Z. Block-And-Lock Strategies to Cure HIV Infection. *Viruses.* Enero de 2020;12(1):84. DOI: 10.3390/v12010084
42. Moranguinho I, Valente ST. Block-And-Lock: New Horizons for a Cure for HIV-1. *Viruses.* 15 de diciembre de 2020;12(12):1443. DOI: 10.3390/v12121443
43. Pellaers E, Denis A, Debyser Z. New latency-promoting agents for a block-and-lock functional cure strategy. *Curr Opin HIV AIDS.* 1 de mayo de 2024;19(3):95-101.
DOI: 10.1097/COH.0000000000000844
44. Armani-Tourret M, Bone B, Tan TS, Sun W, Bellefroid M, Struyve T, et al. Immune targeting of HIV-1 reservoir cells: a path to elimination strategies and cure. *Nat Rev Microbiol.* 9 de febrero de 2024. DOI: 10.1038/s41579-024-01010-8
45. Kim J, Vasan S, Kim JH, Ake JA. Current approaches to HIV vaccine development: a narrative review. *J Int AIDS Soc.* 21 de noviembre de 2021;24(S7):e25793.
DOI: 10.1002/jia2.25793
46. Schriek AI, Aldon YLT, van Gils MJ, de Taeye SW. Next-generation bNAbs for HIV-1 cure strategies. *Antiviral Res.* Febrero de 2024;222:105788.
DOI: 10.1016/j.antiviral.2023.105788
47. Qi J, Ding C, Jiang X, Gao Y. Advances in Developing CAR T-Cell Therapy for HIV Cure. *Front Immunol.* 10 de marzo de 2020;11:361. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00361
48. Zhang Z, Hou W, Chen S. Updates on CRISPR-based gene editing in HIV-1/AIDS therapy. *Viol Sin.* Febrero de 2022;37(1):1-10. DOI: 10.1016/j.virs.2022.01.017
49. Hussein M, Molina MA, Berkhout B, Herrera-Carrillo E. A CRISPR-Cas Cure for HIV/AIDS. *Int J Mol Sci.* 13 de enero de 2023;24(2):1563.
DOI: 10.3390/ijms24021563