

Nef- VIH-1 como principal orquestador de la disfunción celular durante la inmunopatogenia de la infección por el VIH-1 (Nef- HIV-1 as the main orchestrator of the cellular dysfunction in the immunopathogenesis of the HIV-1 infection)

Siham Salmen^{1✉}, Juan C. Gabaldon-Figueira¹, Guillermo Teran-Angel¹

¹ Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela

Recibido: 10 de Octubre de 2015.

Aceptado: 26 de Enero de 2016.

Publicado online: 7 de Febrero de 2016

[ARTÍCULO DE REVISIÓN]

Resumen (español)

El virus de la inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1) es uno de los agentes infecciosos más estudiado en las últimas tres décadas, lo que ha permitido un avance en la profundización en sus mecanismos patogénicos y extrapolarlos al de otras enfermedades virales, sin embargo y a pesar de los avances en este campo aún existen muchas interrogantes por resolver, en especial aquellas que están asociadas con la evasión de la respuesta inmune y en el papel de las proteínas accesorias como Nef. En esta revisión se abordaran los aspectos más recientes de la inmunopatogenia de la infección y además el papel de Nef como modulador de la respuesta inmune basados en sus dominios funcionales.

Palabras clave (español)

Nef, dominios funcionales, VIH-1

Abstract (english)

Human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) is one of the most studied viruses during the past three decades, their characterization has allowed to deepen in their pathogenic mechanisms and extrapolate to other viral infectious diseases, however their pathogenic mechanisms, and the knowledge of immune system dysfunction, remain unclear yet. Despite of the advances in this field there are still many unanswered questions, especially those that are associated with the immune response evasion mechanisms and the role of accessory proteins, such as Nef. In this review we show the most recent findings of the immunopathogenic mechanism of the infection and the role of Nef as a modulator of the immune response based on their functional domains.

Keywords (english)

Nef, functional domains, HIV-1

Introducción

Durante la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1) se generan eventos complejos en el que se ven afectados los elementos de la respuesta inmune del hospedador tanto innata como adaptativa. La infección inicial puede concretarse fundamentalmente en células que

expresan tanto CD4+ y CCR5+, receptores necesarios para que el virus logre interiorizarse, por lo que principalmente los linfocitos y los monocitos/macrófagos son los más susceptibles en las primeras etapas de la infección (1). Los modelos actuales sugieren, que el primer foco de infección lo forman los linfocitos T CD4+ CCR5+ ubicados en la mucosa por donde entró el virus. Seguidamente, la reacción inflamatoria secundaria a su entrada recluta

✉ **Autor de correspondencia:** Siham Salmen Halabi. Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. Edificio Louis Pasteur, Av 16 de Septiembre, diagonal al IAHULA, Mérida. Venezuela. E-mail: sihamsa@ula.ve. salmensiham9@gmail.com.

nuevas células que pueden infectarse y extender la infección a otros microambientes. Eventualmente, algunos de los linfocitos infectados abandonan la mucosa y se dirigen a los nódulos linfoides, donde pueden aislarse células infectadas unas 48 horas tras el contacto inicial (2). A través de la vía linfática el virus se disemina también a múltiples órganos, donde en cuestión de una a dos semanas comienza a replicarse activamente, provocando una viremia importante y en ocasiones, las manifestaciones agudas inespecíficas de la infección, así como un descenso importante en los niveles de linfocitos T CD4+, sobre todo los encontrados en las mucosas; probablemente debido a la lisis directa de los mismos, constituyendo esta la fase de expansión (2, 3). Tanto en la fase aguda como en el estadio crónico de la infección se ponen en juego numerosos mecanismos comandados por un lado por el sistema inmunitario del hospedador y por el otro por propio virus. El primero busca controlar la diseminación viral y controlar la infección, mientras que el segundo, para tratar de evadir la respuesta efectora del hospedador, enfrentamiento que en la gran mayoría de los casos el virus logra vencer, ya que el virus se vale de múltiples mecanismos para evadir la respuesta inmunitaria, gran parte atribuidos a las proteínas accesorias, dentro de las cuales la más resaltante es Nef del VIH-1. En esta revisión se abordarán los aspectos más actuales de la inmunopatología de la infección por VIH y el papel de Nef como una de las proteínas adaptadoras más importantes de VIH-1 y su función en la regulación de la respuesta inmune.

¿Cuáles son sus mecanismos de entrada? y cómo se establece el primer contacto con las células del hospedador?

Usualmente, el primer contacto se establece a través de las mucosas y si bien cualquier mucosa es una puerta de entrada potencial, se considera que la anal y la vaginal son las más importantes en individuos adultos, mientras que la oral y la gastrointestinal lo son en niños (2, 4). El modelo más estudiado es la entrada del virus en la mucosa vaginal (2), pero en general se ha concluido que la eficiencia de transmisión en este territorio es baja, requiriendo dosis infectantes bastante altas (5). Esta resistencia puede deberse en parte a la presencia de moco cervical, capaz de detener mecánicamente los viriones infectantes, y a las altas concentraciones de inmunoglobulinas y otras sustancias microbicidas presentes en la mucosa vaginal (6). Igualmente importante es la gruesa capa epitelial que suele tener

la vagina de las mujeres en edad reproductiva y que dificulta el acceso del virus a sus objetivos celulares, ubicados por lo general en capas más profundas, de hecho las mujeres que han sido sometidas a histerectomía son más susceptibles a la infección por adelgazamiento de la mucosa vaginal (2). Sin embargo, todos estos elementos sufren cambios cíclicos dependientes del nivel hormonal, que pueden modificar la efectividad de la mucosa para repeler la entrada viral (7).

Independientemente de las características hormonales, se ha observado que tras unos 60 minutos los viriones suelen ser capaces de atravesar la capa de células escamosas, asociándose a la superficie de células dendríticas (DCs) o células de Langerhans (LC) (2) a través de su interacción con diversos receptores: "Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin" (DC-SIGN o CD209) en las DCs o CD1a y HLA-DR en las LC (8-10). Estos receptores permiten la formación de vesículas que contienen los viriones, que si bien no infectan a las DC, tampoco son degradados de manera efectiva (11). La resistencia de las DCs al VIH-1 se explica en parte por la alta producción de "SAM domain and HD domain 1" (SAMHD1), una fosfohidrolasa que degrada los desoxinucleótidos (dNTP) celulares, limitando la capacidad de síntesis de la transcriptasa inversa viral (12).

Tradicionalmente se ha aceptado que estas células movilizan los virus hasta zonas profundas de la mucosa, donde favorecen el contacto con los linfocitos TCD4+ (9). Sin embargo, se considera que algunas células T CD4+, CCR5+ de memoria, residentes en el epitelio pudiesen ser infectadas directamente, particularmente en situaciones que favorezcan la movilización de las mismas a las capas epiteliales más superficiales, tal como ocurre en las primeras etapas de la infección por el VIH-1 o en pacientes con coinfecciones otras enfermedades de transmisión sexual (ITS) (13). Esta etapa inicial de siembra en la mucosa intestinal y sitio de suministro viral, permite la amplificación de la infección en etapas iniciales en la que el virus debe evadir la respuesta inmunitaria para evitar su erradicación, de elevada replicación a nivel de las mucosas para lograr amplificarse, pero con baja detección sistémica, constituye la fase de eclipse de la infección aguda (3) y juega un papel fundamental en el establecimiento de los reservorios virales (14).

¿Cómo ocurre la infección de los linfocitos T CD4+?

La internalización es favorecida por la formación de la sinapsis inmunológica (IS), formada

entre la célula presentadora de antígenos (APC) y el linfocito T, y en la que participan múltiples proteínas, siendo particularmente importantes las proteínas virales gp120 (superficial) y gp41 (transmembranal) que en conjunto forman la glicoproteína de envoltura (Env), estableciendo en reposo un complejo trimérico en el que el dominio de fusión de gp41 no se encuentra expuesto (15, 16). Durante el contacto entre la APC y los linfocitos T CD4+CCR5+, gp120 interactúa con integrinas que favorece la unión de la LFA-1 linfocitaria con las ICAM-1 de la superficie de la APC, acercando ambas células hasta un punto en que pueden darse las interacciones entre gp120 con el complejo CD4 y correceptores como CCR5 o CXCR4 (9, 17). Específicamente la región V3 del bucle de gp120, interactúa con el segundo bucle extracelular de cualquiera de los dos correceptores, lo que finalmente permite que los dominios C1, C2 y C4 de gp120 entren en contacto con la región N-terminal del correceptor (18). Secundario a esto, se desencadenan cambios conformacionales en gp41, exponiendo un dominio de fusión en su extremo N-terminal que se inserta en la membrana linfocitaria y tras la unión del segmento C-terminal al complejo, se alcanza un estado un estado conformacional energéticamente favorable que permite la fusión de la membrana celular con la envoltura viral y la interiorización del virus (15). Este proceso en el cual una célula con el virus en su superficie pero no infectada e infecta a otra se conoce como infección trans (19).

Es importante destacar que un proceso similar al descrito anteriormente, pero desarrollado entre un linfocito T infectado y otro sano ha sido observado in vivo e in vitro (19). El mecanismo es similar e implica la formación de una estructura análoga a la IS llamada sinapsis viral (VS) para cuya formación se secuestran los mecanismos de transporte citoesqueléticos de la célula infectada, enriqueciendo una zona particular de la membrana con altas cantidades de las proteínas virales Env y y Gag. Paralelamente, la zona de la membrana de la célula receptora que forma parte de la VS expresa grandes cantidades de CXCR4 y CD4 (20). A pesar de ser similares estructuralmente, la IS y la VS no son iguales. Entre las diferencias más importantes destaca el hecho de que los viriones deben ensamblarse antes de poder ser transferidos por la VS, proceso para el cual es vital la interacción entre el dominio MA de Gag y el dominio citoplásmico de Env; igualmente a diferencia de la IS, las interacciones con los correceptores no son necesarias para la transferencia de los viriones, aunque sí para la correcta fusión de la membrana celular con la

envoltura viral y la infección exitosa del linfocito receptor (20).

Si bien es cierto que la interiorización puede estar mediada tanto por CCR5, como por CXCR4, las cepas que utilizan el primero (R5) son más importantes en las etapas iniciales y crónicas de la infección, de hecho la integridad de este correceptor es tan importante en el desarrollo inicial de la infección que los individuos homocigotos con la mutación CCR5 Δ 32, y pacientes infectados que han recibido trasplantes de individuos con la misma han demostrado una importante resistencia a la infección y un control a largo plazo de esta, respectivamente. Igualmente la producción de ligandos de CCR5, como RANTES (CCL5), MIP-1 α y MIP-1 β se relaciona con bloqueo de la entrada de los virus a la célula. Por otro lado, en entre un 40 y un 50% de los pacientes infectados, el progreso a las etapas tardías de la enfermedad va precedido de un cambio en la especificidad de correceptor, apareciendo viriones que se unen preferentemente a CXCR4 (X4) o a ambos (R5X4). Este cambio, aumenta el tropismo de los virus a mas tipos celulares y por tanto se asocia a una progresión más agresiva de la enfermedad (18).

Algunas variantes virales con mutaciones en las regiones V3 de gp120 pueden además emplear correceptores distintos como: CCR1, CCR2b, CCR3, CCR8, CX3CR1, CXCR6, FPRL1, GPR1, GPR15, APJ, STRL33 y D6 (21). Si bien no se conoce con exactitud el rol que estos receptores juegan en las infecciones por VIH, se ha evidenciado que mutaciones en el CCR5 de algunas especies de simios, generan cambios en el SIV que lo llevan a emplear estas proteínas al momento de la internalización (18)

¿Como es el enfrentamiento entre el virus y los componentes de la respuesta inmunitaria del hospedador?

Es probable que la formación de VS juegue un rol importante en la rápida distribución orgánica del virus (20). Eventualmente comienza la fase de contención en la que se desarrolla una respuesta específica contra el virus, mediada principalmente por linfocitos TCD8, producción de citocinas proinflamatorias y anticuerpos neutralizantes que controlan momentáneamente la infección (3, 22).

Los anticuerpos son parcialmente importantes, evidenciándose que en aproximadamente un 20% de los pacientes infectados, la mayor parte se unen a los dominios de unión de gp120 con el CD4 y a pesar de poder bloquear

parcialmente la entrada de viriones libres a las células, son insuficientes para contener la infección, debido a la presencia de barreras físicas y cinéticas que aparecen en las sinapsis inmunológicas y virológicas, así como a la alta mutagenicidad y flexibilidad de las proteínas Env (19). De manera similar, una vez infectadas las células, el virus sigue evadiendo su activación inmunitaria; tal como se describió anteriormente, un gran porcentaje del ADN producido por la transcriptasa inversa se mantiene a nivel citoplásmico (23), expuesto a los distintos receptores intracelulares que deberían captarlo y disparar entre otras cosas, la producción de IFN de tipo I. Sin embargo, esto no ocurre, debido en parte a la capacidad que tiene el virus de estimular la actividad de una exonucleasa citosólica conocida como TREX1, la cual digiere el exceso de ADN viral citoplásmico incapaz de unirse a la integrasa viral, reduciendo así su concentración hasta niveles incapaces de estimular una respuesta inmunitaria (24).

Paradójicamente, el VIH manipula la respuesta innata y adaptativa de manera tal, que condiciona una activación crónica y extensa de la respuesta inmunitaria, pero asegurándose de que la misma sea poco efectiva en su control. Es esta activación la que caracteriza la fase crónica de la infección y la que termina agotando el sistema inmune del hospedador, provocando el desarrollo del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (25). Entre las evidencias que reflejan el papel de esta activación crónica en la patogenia del SIDA se incluyen la elevada síntesis de citocinas pro inflamatorias como IFN α y TNF α durante la infección, el aumento en la fracción de linfocitos T CD8+ activados que expresan CD38+ (26) o el estado generalizado de estrés oxidativo asociado a la infección (27). Está claro que el estado de sobreactivación y no los efectos citopáticos directos del virus, lo que finalmente condiciona el marcado descenso en las poblaciones de linfocitos T CD4+. Evidencias de esto se encuentran en la progresión más lenta del SIDA en pacientes con infección por el VIH-2, que a pesar de tener una capacidad citolítica idéntica a la del VIH-1, induce una activación mucho más débil de la respuesta inmune durante el transcurso de la infección. De manera similar, se ha observado que la infección por SIV en especies de primates que no desarrollan una respuesta inmune efectora intensa, son mucho más benignas que en especies con altos niveles de activación, aún cuando en ambos casos se observan altas cargas virales (26).

Durante este enfrentamiento, las células NK componentes de la inmunidad innata se ven afectadas

durante la infección por el VIH-1, aún cuando no son infectadas activamente por el virus, provocan un control inadecuado tanto de los linfocitos T CD4+ infectados por el propio VIH, como de otros grupos celulares afectados por múltiples agentes infecciosos o por el desarrollo de tumores (28). Estos cambios se deben a una importante expansión de un subtipo de células NK altamente anérgicas identificadas por ser CD56neg, probablemente originadas como consecuencia del estado de inflamación crónica asociado a la enfermedad y la consecuente estimulación inadecuada de sus precursores, más que por su infección directa por el VIH (28).

La respuesta citotóxica mediada por linfocitos T CD8+ tampoco es efectiva para controlar la infección, debido a que van enfocadas a un grupo muy estrecho de células infectadas que expresan epítopes inmunodominantes, lo que favorece el escape viral al infectar otros linfocitos ignorados por los CD8; por otro lado, la activación inmunitaria crónica termina agotando la respuesta dependiente de CD8 y finalmente, el correcto funcionamiento de este grupo celular depende de la indemnidad de los linfocitos T CD4+, que son los más drásticamente afectados por el virus (29).

Como se mencionó anteriormente, el incremento en los niveles de ROS es otro de los factores asociado al estado de activación crónica del sistema inmune durante, y se ha demostrado además que es capaz de incrementar la tasa de replicación del virus (30), en parte por estimular la producción de NF- κ B, factor de transcripción necesario para su replicación y asociado también a la expresión de múltiples citocinas proinflamatorias (31). El aumento en la producción de ROS en pacientes infectados por VIH ocurre en neutrófilos (32), monocitos (33), células endoteliales (34), hepatocitos (35), y se ha relacionado con un incremento en la peroxidación lipídica, el daño membranar y la reducción en la actividad de la SOD, glutatión-peroxidasa y otras enzimas antioxidantes. Todos estos mecanismos terminan induciendo la apoptosis de múltiples líneas celulares, entre ellas los linfocitos T CD4+ (31). Entre las proteínas virales que pudiesen inducir este estado de estrés oxidativo destacan gp120 y Tat. Gp120 ha demostrado ser capaz de favorecer la producción de ROS en el SNC, mediante vías dependientes de CPY y NOX, conduciendo a daño en la barrera hematoencefálica y a muchas de las manifestaciones neuropsiquiátricas que aparecen en pacientes con SIDA (31), mientras que Tat modula la expresión de Nox2 y Nox4 en incrementa la producción de ROS en las microglías (36). Nef-VIH-1, es un importante factor de virulencia

del VIH que también ha demostrado ser capaz de inducir producción de ROS y será discutido más adelante.

Otro de los eventos que favorecen el estado de activación crónica del sistema inmune, es el aumento en la translocación de productos bacterianos como los LPS a través de las mucosas, secundario a la marcada destrucción de linfocitos T CD4⁺ Th17 que ocurre en este micromambiente (37-39). Estas células secretan IL-17 y otras sustancias vitales para el mantenimiento de las barreras mucosas (40). Estudios recientes sugieren que las células Th17 son más susceptibles a la infección por cepas tanto R5 como X4 de VIH, pues los pacientes infectados sufren una depleción mucho mayor de este subtipo de linfocitos que de otros como los Th1. Entre los mecanismos que explican esta susceptibilidad está la mayor expresión de integrinas $\alpha 4\beta 7$, CD4 y CXCR4 en presencia de IL-1 β e IL-23, interleukinas necesarias para el desarrollo de la polarización de la respuesta hacia el patrón Th17. Igualmente, aunque la expresión de CCR5 es igual en este subgrupo a como lo es en otros, la producción de sus ligandos es escasa, especialmente MIP-1 β y MIP-1 α , que en contraste son producidos por casi un 50% de los linfocitos Th1 (41). Otro mecanismo que pudiese favorecer la depleción de células Th-17 es la expresión de IDO1 por las APC en presencia de infección por VIH, pues uno de los metabolitos de esta enzima, el ácido 3-hidroxiantranílico ha demostrado ser capaz de invertir la relación Th17/Treg por mecanismos aún desconocidos (39).

Aparte de esto, algunos linfocitos T CD4⁺ infectados no permiten el desarrollo de una infección efectiva en su interior, siendo capaces de detener el proceso de replicación del virus en las primeras etapas de la transcripción inversa. Se considera que esta resistencia podría estar relacionada con niveles particularmente altos de SAMHD1, tal como ocurre en las DC (42). El desarrollo incompleto del virus probablemente previene una activación eficaz de TREX1, permitiendo que el poco ADN viral que logra sintetizarse dispare la producción de IFN tipo I, mediante la activación de IFI16, un sensor de ADN citoplásmico (43). Las proteínas virales gp41 y gp120 también han demostrado capacidad para fomentar la fusión de las membranas de las células infectadas, condicionando la formación de sincitios y la puesta en marcha de cascadas mitocondriales y citoplásmicas que activan vías apoptóticas dependientes tanto de caspasas como de p53 (44). Todos estos mecanismos terminan contribuyendo a la importante depleción de linfocitos TCD4, lo que eventualmente lleva al desarrollo del SIDA.

¿Cuál es el papel de Nef en la inmunopatogenia de la infección?

Nef es una de las proteínas accesorias más importantes del VIH-1, es indispensable para la replicación viral y juega un papel fundamental en la inmunopatogenia de la infección y el desarrollo del SIDA (45, 46). La pérdida de la función de Nef genera un retardo o la no progresión hacia la fase SIDA (47), sin embargo sus mecanismos aún no están del todo comprendidos. Nef VIH-1 es una proteína multifuncional de 27-35 kDa, miristilada, codificada por los lentivirus de primates (VIH-1, VIH-2 y SIV), requerida para la patogenicidad del virus. Aunque Nef no tiene actividad enzimática intrínseca, se ha evidenciado que su capacidad de modular la respuesta inmune se debe principalmente a su función de proteína adaptadora que le permite establecer interacciones con múltiples vías de señalización. Su distribución subcelular es principalmente citoplasmática aunque parte de ella es reclutada a las membranas celulares, lo que le permite interferir con múltiples rutas de señalización (45).

Dentro de las primeras funciones descritas y mejor caracterizadas que directamente están involucradas en los mecanismos de evasión de la respuesta inmunitaria, está la disminución de la expresión de la molécula de histocompatibilidad de clase I (MHC-I), el reciclaje y endocitosis del receptor CD4, y la activación y formación del complejo con 21-activated protein kinase 2 (PAK2) (48). Las consecuencias de estos efectos son: 1) Al reducir la expresión de MHC-I, interfiere con la respuesta citotóxica del hospedador (49, 50), 2) Al disminuir la expresión de CD4 en superficie (51), incrementa la producción y gemación de las partículas virales (52) y 3) Al establecer su interacción con PAK2, incrementa la activación celular y como consecuencia la replicación viral (53).

Las actividades de Nef no se restringen a estas funciones, recientemente se ha demostrado su participación en otras vías de activación celular. Nef no solo es capaz de inducir cambios funcionales en los linfocitos T CD4⁺, sino también puede modular a los elementos de la inmunidad innata afectando sus funciones y acentuando el compromiso de la respuesta inmune durante la progresión de la enfermedad (27, 54). Como se mencionó anteriormente, uno de los eventos que están asociados con la activación crónica del sistema inmune es la excesiva producción de ROS, recientemente Nef ha sido implicado en la reorganización de componentes del complejo NADPH

oxidasa en los polimorfonucleares y es capaz de establecer una interacción directa con p22-phox uno de los componentes del complejo NADPH oxidasa; pudiendo relacionarse con el incremento en la producción de ROS descrito en estas células frente a la infección (55, 56). Además, también afecta la actividad funcional de monocitos/macrófagos y astrocitos, ejemplo de ello es que Nef modula la supervivencia de macrófagos infectados (57), la migración de monocitos (58), la disminución de la expresión de MHC de clase II en las APC (59), y la inhibición de la autofagia (60), e incrementa la liberación de IL-6 e IL-8 en los astrocitos, a través de la activación de las MAPK y PI3K, evento relacionado con la demencia asociada a la infección por VIH-1 (61).

En los linfocitos T Nef puede incrementar la expresión de Foxp3 en las células infectadas favoreciendo y el desarrollo de una respuesta supresora al incrementar la diferenciación de células T reguladoras (Treg) (62). Adicionalmente, puede inhibir la expresión de una de las principales moléculas co-estimuladoras como CD28, lo que potencia la aparición de una respuesta efectora de tipo regulador (63). Como se explicó anteriormente, como parte del ciclo de replicación viral la gemación de las partículas viral es requerida para infectar nuevas células blanco, para ello se requiere que Nef además de disminuir la presencia de CD4 en la superficie de la membrana donde se está llevando el proceso de gemación, también necesita reducir a los correceptores de quimiocinas, tales como CCR5 y CXCR4 y favorecer el secuestro en compartimientos intracelulares de la teterina (64, 65), todos estos eventos incrementan, la tasa de gemación, la infectividad y hace la difusión viral más eficiente del VIH-1 (66).

Durante el proceso de transferencia de partículas virales la formación de exosoma y nanotubulos contribuyen a hacer más eficiente la infección de células vecinas. Estudios recientes indican que Nef está involucrado en la formación de los exosomas, por su asociación con una familia de proteínas encargadas de modular la exocitosis, conocidas como: EXOC1, EXOC2, EXOC3, EXOC4, y EXOC6, que es un complejo octamérico encargado de la unión de las vesículas a la membrana plasmática, y que además regula la polarización de la exocitosis y la formación de los nanotubulos, estructuras fundamentales para la transferencia viral (67). La modulación de la maquinaria exocítica incluye además interacción con miembros del polycomb y la mimetización de las señales de las integrinas, a través de la fosforilación de paxilin, mediado por el reclutamiento de PAK2 y activación de ERK1/2. Todos

estos eventos conducen a la formación del complejo denominado NAKC o complejo de proteínas asociadas a Nef, que participan en el transporte y liberación de los exosomas o de vesículas extracelulares y traslado de Nef a los raft lipídicos (68).

¿Cuáles son los principales dominios funcionales de Nef?

En general, Nef contiene varios dominios y motivos estructuralmente importantes (ver figura 1): a) un dominio de miristilación; b) un dominio de poliprolina de unión a dominios SH3; c) dos dominios de unión a PAK2 y d) un dominio de dimerización. Adicionalmente, Nef contiene una porción transmembrana que incluye una región conservada del core y un asa C-terminal flexible que es clivada después de su anclaje a la membrana (69). Todas estas porciones y secuencias han sido asociadas con funciones moduladoras e involucradas en su interacción directa con proteínas del hospedador (ver tabla 1), dentro de los que se pueden resaltar: 1) En la porción N-terminal el residuo de miristilación de Nef constituido por la secuencia MGxxxS 1-6 es requerido para su asociación con las membranas celulares (70) y los rafts lipídicos, y se cree que esto es esencial para gran parte de sus funciones efectoras (71); sin embargo, no todo Nef se encuentra en la membrana, hay también una cantidad significativa citosólico, por lo que es probable que tanto las formas miristiladas, como citosólicas contribuyen con su actividad biológica (64); 2) El motivo hidrófobo compuesto por W13, V16, y M20 interactúa con la proteína μ -1A, que es una subunidad de AP-1, y está involucrado con la disminución de la expresión de MHC-I (72); 3) Seguidamente hay otra secuencia CAWLEA 55-60, que corresponde a un sitio de reconocimiento para la proteasa viral, quien escinde la porción amino terminal generando una isoforma soluble de Nef (73), 4) La presencia de 10 residuos hidrófobos que abarcan los aminoácidos: WL57-58, G96, R106, y IL109-110, interactúan con la cola citoplásmica de CD4 (74); 5) El motivo poliprolina PQVPLR 72-77, es importante para establecer las interacciones con los dominios SH3 presentes en diversas proteínas celulares (75), tales como las tirosina quinasas miembros de la familia Src, la cola citoplásmica de CD4, Hck y Vav, todas fundamentales para inducir la activación de linfocitos T (76, 77). Las regiones adyacentes a este dominio, son también críticas para favorecer la interacción proteína-proteína, por ejemplo el segmento PVRPQVPLRP 69-78 está contenida en la hélice de unión a los dominios SH3, y su mutación inhibe la interacción poliprolina/SH3 (48). Adicionalmente para la

Tabla 1. Dominios funcionales de Nef que participan en la interacción con proteínas del hospedador

Dominios en Nef	Proteínas del hospedador	Función que modula	Ref
W57, L58, G96, R106, I109 y L110	Tallo citoplasmático de CD4	Reciclaje de CD4 en superficie celular	[74]
Aminoácidos 149-179	Subunidad α y $\alpha 2$ de la proteína AP2	Regulación negativa de la expresión de CD4	[51]
Ácidos glutámico ubicados en E154 y E155		Modulan la vía endocítica	[86]
EEEE 62-65 y el aminoácido W113	PACS-1 y PACS-2	Retención de MHC-I en el trans-Golgi	[87]
E/D ₁₆₀ XXXLL ₁₆₅	Reclutamiento de la proteína adaptadora asociada a clathrina (AP1), y la proteína Alix	Transporte vesicular dentro de la vía endocítica	[82, 83, 85]
El residuo de miristilación N-terminal	Membrana rafts lipídicos	Modulación de las plataformas de señalización	[71]
Pak2, (F85L, F89H, H191F y A72P, A75P)	Complejo exocítico (EXOC1, EXOC2, EXOC3, EXOC4, y EXOC6)	Formación de los exosomas	[93]
PQVPLR ₇₂₋₇₇	Interacciones con los dominios SH3	Interacción con la cola citoplásmica de CD4, Hck y Vav	[75]
P 69 VRPQVPLRP 78	Interactúa con dominios SH3 de p56lck	Conduce a la disrupción de las señales del TCR, Efecto inhibitorio en la formación y organización de la sinapsis inmunológica afectando drásticamente la asociación entre SLP76 y LAT	[48, 80, 81]
R105, R106) y el motivo PxxP	Interacción con PAK		[96]
Trp13, val16, y Met20	mu-1A		[72]
GFPVT 68-72, FPDW 121-124 y REVLE 179-183)	P22phox	Producción de superóxido	[92]
PQVPLR	Necesario para la formación de complejos PAK2/Nef y	Modula la expresión de MHC-I	[48]
LI100-101, R105-106, I109, LW 112-113, y H116	Dominios de dimerización		[45]
HTQGYFPDW 116-124	T epítipo específicas	Resuesta CTL específica, presente en no progresores o progresores lentos	[95]

el aminoácido W113 ubicado en el dominio central, ambos son críticos para interactuar con PACS-1 y PACS-2 y es parte de los eventos que median la retención de MHC-I en el trans-Golgi (87); 9) En el core se ubican igualmente varios dominios de interacción a PAK2, uno de ellos es el motivo di-arginina RR105-106 y el otro los dominios no canónicos ubicados en la cara dorsal hidrofóbica del core: L85, H89, S187, R188 y F191 (88); 10) Otra de las características Nef y que juegan un papel relevante en su actividad funcional, es su propiedad de formar monómeros y oligómeros. En la región del core se encuentra un dominio descrito recientemente como facilitador de la oligomerización de Nef, el motivo RRQDIL 105-110. La existencia de múltiples conformeros pudiera potenciar y expandir las funciones de esta importante proteína reguladora (89). Recientemente se han identificado otras secuencias F 121 y D 123 (90, 91) presentes en la porción FPDW 121-124 que también participan en la dimerización de Nef y que además median la regulación de la producción de superóxido (92) y la regulación negativa de la expresión de MHC-I (89); 11) Parte del dominio de unión a Pak2, FL 84-85, H89,

F191 y AP 71-72, AP 74-75, también está implicado en la formación de los exosomas, por su asociación con el complejo exocítico (EXOC1-6), encargado de la unión de las vesículas a la membrana plasmática y permite la incorporación de Nef a los exosomas que se forman en el membrana plasmática (93), polarización de la exocitosis y formación de los nanotubulos, estructuras fundamentales para la transferencia viral (68); y 12) Las secuencias (GFPVT 68-72, FPDW 121-124 y REVLE 179-183) sobre Nef son críticas para su interacción con p22-phox, y en particular FPDW 121-124 es la secuencia involucrada en la producción de superóxido (56). Los residuos GPF 68-70 que establecen el contacto con p22-phox (92) están próximos al dominio de proliprolina PQVPLR, también son necesarios para la formación de complejos PAK2/Nef y modular la expresión de MHC-I (48). Adicionalmente, los residuos G68 y F70 son parte de una curva en Nef que permite que la hélice de poliprolina colocarse en la conformación espacial adecuada para aproximarse y unirse el dominio YXXL de AP-1 y así mediar inhibición de la expresión de MHC-I. Estos residuos (GPF 68-70) son altamente conservados en la estructura de Nef y

forman un bucle entre la hélice y el segmento de poliprolina (PQVPLR) y tetra glutamato (EEEE 62-65) (48, 94).

Los dominios presente en Nef no solo se han involucrado en establecer interacciones directas con proteínas intracelulares, sino que además estas pueden activar la respuesta inmunitaria y determinar la progresión o no hacia la fase de SIDA, de especial interés es la secuencia HTQGYFPDW 116-124 contenida en la porción que modula la producción de superóxido (92) y en la regulación negativa de MHC-I, activa la respuesta CD8 específica en los no progresores, mientras que esta respuesta se pierde en los progresores hacia la fase de SIDA, sugiriéndose que

la preservación de la respuesta de células T epítipo específicas a esta porción de nef (HTQGYFPDW 116-124), se asocia con un curso clínico más benigno de la infección (95).

Entender en detalle la diversidad de dominios descritos en Nef con capacidad de interacción proteína/proteína y modulación funcional de la respuesta inmune la hace un potencial blanco terapéutico, por lo que el estudio de sus mecanismos de acción que permitan para las complejas interacciones entre Nef y las múltiples proteínas de la célula hospedadora permitirá proponer nuevas estrategias para atacar la patogénesis del VIH.

Referencias

1. Shattock RJ, Moore JP. Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection. *Nat Rev Microbiol.* 2003; 1: 25-34. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Xu H, Wang X, Veazey RS. Mucosal immunology of HIV infection. *Immunol Rev.* 2013; 254: 10-33. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Borrow P. Innate immunity in acute HIV-1 infection. *Curr Opin HIV AIDS.* 2011; 6: 353-63. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Ruprecht RM, Baba TW, Liska V, Ray NB, Martin LN, Murphey-Corb M, Rizvi TA, Bernacky BJ, Keeling ME, McClure HM, Andersen. Oral transmission of primate lentiviruses. *J Infect Dis.* 1999; 179: S408-S12. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Hughes JP, Baeten JM, Lingappa JR, Magaret AS, Wald A, de Bruyn G, Kiarie J, Inambao M, Kilembe W, Farquhar C, Celum C; Partners in prevention hsv/hiv transmission study team. determinants of per-coital-act HIV-1 infectivity among African HIV-1-serodiscordant couples. *J Infect Dis.* 2012; 205: 358-65. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Shukair SA, Allen SA, Cianci GC, Stieh DJ, Anderson MR, Baig SM, Gioia CJ, Spongberg EJ, Kauffman SM, McRaven MD, Lakounga HY, Hammond C, Kiser PF, Hope TJ. Human cervicovaginal mucus contains an activity that hinders HIV-1 movement. *Mucosal Immunol.* 2013; 6: 427-34. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Poonia B, Walter L, Dufour J, Harrison R, Marx PA, Veazey RS. Cyclic changes in the vaginal epithelium of normal rhesus macaques. *J Endocrinol.* 2006; 190: 829-35. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Turville SG, Cameron PU, Handley A, Lin G, Pöhlmann S, Doms RW, Cunningham AL. Diversity of receptors binding HIV on dendritic cell subsets. *Nat Immunol.* 2002; 3: 975-83. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Piguet V, Steinman RM. The interaction of HIV with dendritic cells: outcomes and pathways. *Trends Immunol.* 2007; 28: 503-10. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Baribaud F, Pohlmann S, Doms RW. The role of DC-SIGN and DC-SIGNR in HIV and SIV attachment, infection, and transmission. *Virology.* 2001; 286: 1-6. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Arrighi JF, Pion M, Garcia E, Escola JM, van Kooyk Y, Geijtenbeek TB, Piguet V. DC-SIGN-mediated infectious synapse formation enhances X4 HIV-1 transmission from dendritic cells to t cells. *J Exp Med.* 2004; 200: 1279-88. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Sunseri N, O'Brien M, Bhardwaj N, Landau NR. Human immunodeficiency virus type 1 modified to package Simian immunodeficiency virus Vpx efficiently infects macrophages and dendritic cells. *J Virol.* 2011; 85: 6263-74. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
13. Haase AT. Early events in sexual transmission of HIV and SIV and opportunities for interventions. *Annu Rev Med.* 2011; 62: 127-39. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
14. Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, Haynes BF. Acute HIV-1 infection. *N Engl J Med.* 2011; 364:1943-54. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Chan DC, Kim PS. HIV entry and its inhibition. *Cell.* 1998; 93:681-4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Postler TS, Desrosiers RC. The tale of the long tail: the cytoplasmic domain of HIV-1 gp41. *J Virol.* 2013; 87: 2-15. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Arthos J, Cicala C, Martinelli E, Macleod K, Van Ryk D, Wei D, Xiao Z, Veenstra TD, Conrad TP, Lempicki RA, McLaughlin S, Pascuccio M, Gopaul R, McNally J, Cruz CC, Censoplano N, Chung E, Reitano KN, Kottlilil S, Goode DJ, Fauci AS. HIV-1 envelope protein binds to and signals through integrin alpha4beta7, the gut mucosal homing receptor for peripheral T cells. *Nat Immunol.* 2008; 9: 301-9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Gorry PR, Ancuta P. Coreceptors and HIV-1 Pathogenesis. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2011; 8: 45-53. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Schiffner T, Sattentau QJ, Duncan CJ. Cell-to-cell spread of HIV-1 and evasion of neutralizing antibodies. *Vaccine.* 2013; 31: 5789-97. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
20. Dale BM, Alvarez RA, Chen BK. Mechanisms of enhanced HIV spread through T-cell virological synapses. *Immunol Rev.* 2013; 251: 113-24. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Gorry PR, Dunfee RL, Mefford ME, Kunstman K, Morgan T, Moore JP, Mascola JR, Agopian K, Holm GH, Mehle A, Taylor J, Farzan M, Wang H, Ellery P, Willey SJ, Clapham PR, Wolinsky SM, Crowe SM, Gabuzda D. Changes in the V3 region of gp120 contribute to unusually broad coreceptor usage of an HIV-1 isolate from a CCR5 Delta32 heterozygote. *Virology.* 2007; 362: 163-78. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
22. Hasse AT. Perils at mucosal front lines for HIV and SIV and their hosts. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5: 783-92. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

23. Goff SP. Host factors exploited by retroviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5: 253-63. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
24. Hasan M, Yan N. Safeguard against DNA sensing: the role of TREX1 in HIV-1 infection and autoimmune diseases. *Front Microbiol.* 2014;5: 193. doi: 10.3389/fmicb.2014.00193. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
25. Appay V, Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *J Pathol.* 2008; 214: 231-41. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
26. Miedema F, Hazenberg MD, Tesselaar K, van Baarle D, de Boer RJ, Borghans JA. Immune activation and collateral damage in AIDS pathogenesis. *Front Immunol.* 2013; 4: 298. doi: 10.3389/fimmu.2013.00298. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
27. Salmen S, Berrueta L. Immune modulators of HIV infection: The role of reactive oxygen species. *J Clin Cell Immunol.* 2012; 3: 121. [\[Google Scholar\]](#)
28. Lugli E, Marcenaro E, Mavilio D. NK Cell Subset Redistribution during the Course of Viral Infections. *Front Immunol.* 2014; 5: 390. doi: 10.3389/fimmu.2014.00390. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
29. Munier CM, Kelleher AD, Kent SJ, De Rose R. The Role of T cell immunity in HIV-1 Infection. *Curr Opin Virol.* 2013;3:438-46. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
30. Pyo CW, Yang YL, Yoo NK, Choi SY. Reactive oxygen species activate HIV long terminal repeat via post-translational control of NF-kappaB. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 376: 180-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
31. Reshi ML, Su YC, Hong JR. RNA viruses: ROS-mediated cell death. *Int J Cell Biol.* 2014; 2014:467452. doi: 10.1155/2014/467452. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
32. Jarstrand C, Akerlund B. Oxygen radical release by neutrophils of HIV-infected patients. *Chem Biol Interact.* 1994; 91: 141-6. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
33. Olivetta E, Pietraforte D, Schiavoni I, Minetti M, Federico M, Sanchez M. HIV-1 Nef regulates the release of superoxide anions from human macrophages. *Biochem J.* 2005; 390: 591-602. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
34. Wang T, Green LA, Gupta SK, Kim C, Wang L, Almodovar S, Flores SC, Prudovsky IA, Jolicœur P, Liu Z, Clauss M. Transfer of intracellular HIV Nef to endothelium causes endothelial dysfunction. *PLoS One.* 2014;9:e91063. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
35. Park IW, Fan Y, Luo X, Ryou MG, Liu J, Green L, He JJ. HIV-1 Nef is transferred from expressing T cells to hepatocytic cells through conduits and enhances HCV replication. *PLoS One.* 2014; 9:e99545. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
36. Jadhav VS, Krause KH, Singh SK. HIV-1 Tat C modulates NOX2 and NOX4 expressions through miR-17 in a human microglial cell line. *J Neurochem.* 2014; 131:803-15. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
37. Cecchinato V, Trindade CJ, Laurence A, Heraud JM, Brenchley JM, Ferrari MG, Zaffiri L, Trynieszewska E, Tsai WP, Vaccari M, Parks RW, Venzon D, Douek DC, O'Shea JJ, Franchini G. Altered balance between Th17 and Th1 cells at mucosal sites predicts AIDS progression in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *Mucosal Immunol.* 2008; 1: 279-88. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
38. Favre D, Lederer S, Kanwar B, Ma ZM, Proll S, Kasakow Z, Mold J, Swainson L, Barbour JD, Baskin CR, Palermo R, Pandrea I, Miller CJ, Katze MG, McCune JM. Critical Loss of The Balance between Th17 and T Regulatory Cell Populations in Pathogenic SIV Infection. *PLoS Pathog.* 2009; 5: e1000295. doi: 10.1371/journal.ppat.1000295. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
39. Favre D, Mold J, Hunt PW, Kanwar B, Loke P, Seu L, Barbour JD, Lowe MM, Jayawardene A, Aweeka F, Huang Y, Douek DC, Brenchley JM, Martin JN, Hecht FM, Deeks SG, McCune JM. Tryptophan Catabolism by Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 Alters the Balance of TH17 to Regulatory T Cells in HIV Disease. *Sci Transl Med.* 2010; 2: 32ra36. doi: 10.1126/scitranslmed.3000632. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
40. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27: 485-517. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
41. Alvarez Y, Tuen M, Shen G, Nawaz F, Arthos J, Wolff MJ, Poles MA, Hioe CE. Preferential HIV Infection of CCR6+ Th17 Cells Is Associated with Higher Levels of Virus Receptor Expression and Lack of CCR5 Ligands. *J Virol.* 2013; 87: 10843-54. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
42. Baldauf HM, Pan X, Erikson E, Schmidt S, Daddacha W, Burggraf M, Schenkova K, Ambiel I, Wabnitz G, Gramberg T, Panitz S, Flory E, Landau NR, Sertel S, Rutsch F, Lasitschka F, Kim B, König R, Fackler OT, Keppler OT. SAMHD1 restricts HIV-1 infection in resting CD4(+) T cells. *Nat Med.* 2012; 18: 1682-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
43. Monroe KM, Yang Z, Johnson JR, Geng X, Doitsh G, Krogan NJ, Greene WC. IFI16 DNA sensor is required for death of lymphoid CD4 T cells abortively infected with HIV. *Science.* 2014;343: 428-32. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
44. Garg H, Mohl J, Joshi A. HIV-1 induced bystander apoptosis. *Viruses.* 2012;4: 3020-43. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
45. Abraham L, Fackler OT. HIV-1 Nef: a multifaceted modulator of T cell receptor signaling. *Cell Commun Signal.* 2012; 10:39 doi: 10.1186/1478-811X-10-39. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
46. Das SR, Jameel S. Biology of the HIV Nef protein. *Indian J Med Res.* 2005; 121: 315-32. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
47. Schindler M, Münch J, Kutsch O, Li H, Santiago ML, Bibollet-Ruche F, Müller-Trutwin MC, Novembre FJ, Peeters M, Courgnaud V, Bailes E, Roques P, Sodora DL, Silvestri G, Sharp PM, Hahn BH, Kirchhoff F.. Nef-mediated suppression of T cell activation was lost in a lentiviral lineage that gave rise to HIV-1. *Cell.* 2006; 125: 1055-67. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
48. Kuo LS1, Baugh LL, Denial SJ, Watkins RL, Liu M, Garcia JV, Foster JL. Overlapping effector interfaces define the multiple functions of the HIV-1 Nef polyproline helix. *Retrovirology.* 2012; 9: 47. doi: 10.1186/1742-4690-9-47. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
49. Collins K, Chen B, Kalams S, Walker B, Baltimore D. HIV-1 Nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature.* 1998; 391: 397-401. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
50. Tomiyama H, Akari H, Adachi A, Takiguchi M. Different effects of Nef-mediated HLA class I down-regulation on human immunodeficiency virus type 1-specific CD8(+) T-cell cytolytic activity and cytokine production. *J Virol.* 2002; 76: 7535-43. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
51. Ren X, Park SY, Bonifacino JS, Hurley JH. How HIV-1 Nef hijacks the AP-2 clathrin adaptor to downregulate CD4. *eLife.* 2014;3:e01754. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
52. Lundquist CA, Tobiume M, Zhou J, Unutmaz D, Aiken C. Nef-mediated downregulation of CD4 enhances human immunodeficiency virus type 1 replication in primary T lymphocytes. *J Virol.* 2002; 76: 4625-33. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
53. Olivieri KC, Mukerji J, Gabuzda D. Nef-mediated enhancement of cellular activation and human immunodeficiency virus type 1 replication in primary T cells is dependent on association with p21-activated kinase 2. *Retrovirology.* 2011; 8:64. doi: 10.1186/1742-4690-8-64. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

54. Salmen S, Guillermo C, Colmenares M, Barboza L, Goncalves L, Terán G, Alfonso N, Montes H, Berrueta L. Role of human immunodeficiency virus in leukocytes apoptosis from infected patients. *Invest Clin.* 2005;46: 289-305. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
55. Salmen S, Montilla D, London M, Velázquez D, Berrueta L. Localización y distribución celular de p22-phox y p47-phox en neutrófilos humanos de pacientes infectados con VIH. *Rev Invest Clin.* 2012; 64: 40-51. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
56. Salmen S, Colmenares M, Peterson D, Reyes E, Rosales J, Berrueta L. HIV-1 Nef associates with p22-phox, a component of the NADPH oxidase protein complex. *Cell Immunol.* 2010;263:166-71. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
57. Ghiglione Y, Turk G. Nef performance in macrophages: the master orchestrator of viral persistence and spread. *Curr HIV Res.* 2011;9:505-13. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
58. Lehmann MH, Walter S, Ylisastigui L, Striebel F, Ovod V, Geyer M, Gluckman JC, Erfle V. Extracellular HIV-1 Nef increases migration of monocytes. *Exp Cell Res.* 2006; 312: 3659-68. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
59. Chaudhry A, Verghese DA, Das SR, Jameel S, George A, Bal V, Mayor S, Rath S. HIV-1 Nef promotes endocytosis of cell surface MHC class II molecules via a constitutive pathway. *J Immunol.* 2009; 183:2415-24. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
60. Saribas S, Khalili K, Sariyer IK. Dysregulation of Autophagy by HIV-1 Nef in Human Astrocytes. *Cell Cycle.* 2015;0. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
61. Liu X, Kumar A. Differential signaling mechanism for HIV-1 Nef-mediated production of IL-6 and IL-8 in human astrocytes. *Sci Rep.* 2015; 5: 9867. doi: 10.1038/srep09867. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
62. Valencia JC, Terán-Ángel G, Barboza L, Peterson DL, Berrueta L, Salmen S. NEF-HIV-1 incrementa la expresión del factor de transcripción FOXP3 en monocitos humanos. *Avan Biomed* 2014; S1: 56. [\[Google Scholar\]](#)
63. Mlcochova P, Apolonia L, Kluge SF, Sridharan A, Kirchhoff F, Malim MH, Sauter D, Gupta RK. Immune evasion activities of accessory proteins Vpu, Nef and Vif are conserved in acute and chronic HIV-1 infection. *Virology.* 2015; 482: 72-8. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
64. Lamers SL, Fogel GB, Singer EJ, Salemi M, Nolan DJ, Huysentruyt LC, McGrath MS. HIV-1 Nef in macrophage-mediated disease pathogenesis. *Int Rev Immunol.* 2012; 31: 432-50. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
65. Sauter D, Kirchhoff F. Tetherin antagonism by primate lentiviral nef proteins. *Curr HIV Res.* 2011;9: 514-23. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
66. Toyoda M, Ogata Y, Mahiti M, Maeda Y, Kuang XT, Miura T, Jessen H, Walker BD, Brockman MA, Brumme ZL, Ueno T. Differential ability of primary HIV-1 Nef isolates to down-regulate HIV-1 entry receptors. *J Virol.* 2015; 89: 9639-52 [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
67. Mukerji J, Olivieri KC, Misra V, Agopian KA, Gabuzda D. Proteomic analysis of HIV-1 Nef cellular binding partners reveals a role for exocyst complex proteins in mediating enhancement of intercellular nanotube formation. *Retrovirology.* 2012; 9: 33. doi: 10.1186/1742-4690-9-33. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
68. Lee JH, Wittki S, Bräu T, Dreyer FS, Krätzel K, Dindorf J, Johnston IC, Gross S, Kremmer E, Zedler R, Schlötzer-Schrehardt U, Lichtenheld M, Saksela K, Harrer T, Schuler G, Federico M, Baur AS. HIV Nef, paxillin, and Pak1/2 regulate activation and secretion of TACE/ADAM10 proteases. *Mol Cell.* 2013; 49: 668-79. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
69. Lee C-H, Saksela K, Mirza U, Chait B, Kuriyan J. Crystal structure of the conserved core of HIV-1 Nef complexed with a Src family SH3 domain. *Cell.* 1996; 85; 931-42. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
70. Geyer M, Fackler OT, Peterlin BM. Structure-function relationships in HIV-1 Nef. *EMBO Rep.* 2001; 2: 580-5. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
71. Giese SI, Woerz I, Homann S, Tibroni N, Geyer M, Fackler OT. Specific and distinct determinants mediate membrane binding and lipid raft incorporation of HIV-1(SF2) Nef. *Virology.* 2006; 355: 175-91. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
72. Iijima S, Lee YJ, Ode H, Arold ST, Kimura N, Yokoyama M, Sato H, Tanaka Y, Strebel K, Akari H. A noncanonical mu-1A-binding motif in the N terminus of HIV-1 Nef determines its ability to downregulate major histocompatibility complex class I in T lymphocytes. *J Virol;* 2012; 86: 3944-51. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
73. Freund J, Kellner R, Konvalinka J, Wolber V, Kräusslich H, Kalbitzer H. A possible regulation of negative factor (Nef) activity of human immunodeficiency virus type 1 by the viral protease. *Eur J Biochem.* 1994; 223: 589-93. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
74. Grzesiek S, Stahl S, Wingfield P, Bax A. The CD4 determinant for downregulation by HIV-1 Nef directly binds to Nef. Mapping of the Nef binding surface by NMR. *Biochemistry.* 1996; 35: 10256-61. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
75. Haller C, Rauch S, Fackler OT. HIV-1 Nef employs two distinct mechanisms to modulate Lck subcellular localization and TCR induced actin remodeling. *PLoS One.* 2007; 2: e1212. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
76. Fackler OT, Alcover A, Schwartz O. Modulation of the immunological synapse: a key to HIV-1 pathogenesis? *Nat Rev Immunol.* 2007; 7: 310-7. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
77. Fackler OT, Luo W, Geyer M, Alberts AS, Peterlin BM. Activation of Vav by Nef induces cytoskeletal rearrangements and downstream effector functions. *Mol Cell.* 1999; 3: 729-39. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
78. Manninen A, Hiipakka M, Vihinen M, Lu W, Mayer B, Saksela K. SH3-Domain binding function of HIV-1 Nef is required for association with a PAK-related kinase. *Virology.* 1998; 250: 273-82. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
79. Pan X, Rudolph JM, Abraham L, Habermann A, Haller C, Krijnse-Locker J, Fackler OT. HIV-1 Nef compensates for disorganization of the immunological synapse by inducing trans-Golgi network-associated Lck signaling. *Blood.* 2012; 119: 786-97. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
80. Thoulouze MI, Sol-Foulon N, Blanchet F, Dautry-Varsat A, Schwartz O, Alcover A. Human immunodeficiency virus type-1 infection impairs the formation of the immunological synapse. *Immunity.* 2006; 24: 547-61. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
81. Abraham L, Bankhead P, Pan X, Engel U, Fackler OT. HIV-1 Nef limits communication between linker of activated T cells and SLP-76 to reduce formation of SLP-76-signaling microclusters following TCR stimulation. *J Immunol.* 2012; 189:1898-910. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
82. Bresnahan PA, Yonemoto W, Ferrell S, Williams-Herman D, Gelezianas R, Greene WC. A dileucine motif in HIV-1 Nef acts as an internalization signal for CD4 downregulation and binds the AP-1 clathrin adaptor. *Curr Biol.* 1998; 8: 1235-38. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
83. Craig HM, Pandori MW, Guatelli JC. Interaction of HIV-1 Nef with the cellular dileucine-based sorting pathway is required for CD4 down-regulation and optimal viral infectivity.

- Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95:11229–34. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
84. Greenberg M, DeTulleo L, Rapoport I, Skowronski J, Kirchhausen T. A dileucine motif in HIV-1 Nef is essential for sorting into clathrin-coated pits and for downregulation of CD4. *Curr Biol.* 1998; 8: 1239-42. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 85. Amorim NA, da Silva EM, de Castro RO, da Silva-Januário ME, Mendonça LM, Bonifacino JS, da Costa LJ, daSilva LL. Interaction of HIV-1 Nef protein with the host protein Alix promotes lysosomal targeting of CD4 receptor. *J Biol Chem.* 2014;289: 27744-56. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 86. Piguet V, Gu F, Foti M, Demareux N, Gruenberg J, Carpentier JL, Trono D. Nef-induced CD4 degradation: a diacidic-based motif in Nef functions as a lysosomal targeting signal through the binding of beta-COP in endosomes. *Cell.* 1999; 97: 63-73. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 87. Dikeakos JD, Thomas L, Kwon G, Elferich J, Shinde U, Thomas G. An interdomain binding site on HIV-1 Nef interacts with PACS-1 and PACS-2 on endosomes to down-regulate MHC-I. *Mol Biol Cell.* 2012; 23: 2184-97. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 88. Aandahl EM, Aukrust P, Skålhegg BS, Müller F, Frøland SS, Hansson V, Taskén K. Protein kinase A type I antagonist restores immune responses of T cells from HIV-infected patients. *FASEB J.* 1998 12: 855-62. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 89. Kwak YT, Raney A, Kuo LS, Denial SJ, Temple BR, Garcia JV, Foster JL. Self-association of the Lentivirus protein, Nef. *Retrovirology.* 2010; 7: 77. doi: 10.1186/1742-4690-7-77. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 90. Liu LX, Heveker N, Fackler OT, Arold S, Le Gall S, Janvier K, Peterlin BM, Dumas C, Schwartz O, Benichou S, Benarous R. Mutation of a conserved residue (D123) required for oligomerization of human immunodeficiency virus type 1 Nef protein abolishes interaction with human thioesterase and results in impairment of Nef biological functions. *J Virol.* 2000; 74: 5310–19. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 91. Poe JA, Smithgall TE. HIV-1 Nef dimerization is required for Nef-mediated receptor downregulation and viral replication. *J Mol Biol.* 2009; 394: 329-42. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 92. Teran-Angel G, Montes-Berrueta D, Valencia-Molina JC, Gabaldon-Figueira JC, Bastidas-Azuaje A, Peterson DL, et al. Identification and functional characterization of Nef-HIV-1 domains involved in p22-phox interaction and superoxide production. *submitted.* 2016.
 93. Lenassi M, Cagney G, Liao M, Vaupotic T, Bartholomeeusen K, Cheng Y, Krogan NJ, Plemenitas A, Peterlin BM. HIV Nef is secreted in exosomes and triggers apoptosis in bystander CD4+ T cells. *Traffic.* 2010; 11: 110-22. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 94. O'Neill E, Kuo LS, Krisko JF, Tomchick DR, Garcia JV, Foster JL. Dynamievolution of the human immunodeficiency virus type 1 pathogenic factor, Nef. *J Virol.* 2006;80: 1311-20. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 95. Navis M, Schellens IM, van Swieten P, Borghans JA, Miedema F, Kootstra NA, van Baarle D, Schuitemaker H. A nonprogressive clinical course in HIV-infected individuals expressing human leukocyte antigen B57/5801 is associated with preserved CD8+ T lymphocyte responsiveness to the HW9 epitope in Nef. *J Infect Dis.* 2008; 197: 871-9. [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)
 96. Fackler OT, Lu X, Frost JA, Geyer M, Jiang B, Luo W, Abo A, Alberts AS, Peterlin BM. P21-activated kinase 1 plays a critical role in cellular activation by Nef. *Mol Cell Biol.* 2000;20:2619–27 [\[PubMed\]](#) [\[Google Scholar\]](#)

Como citar este artículo: Salmen S Gabaldon-Figueira JC, Teran-Angel G. Nef- VIH-1 como orquestador de la disfunción celular durante la inmunopatogenia de la infección por el Virus de la inmunodeficiencia humana. *Avan Biomed* 2015; 4: 126-37.