

Tabla 6 .Alineamiento de la región *env* del asa V3

	HXB2 : CTRPNNNTRKIRIQRGPGRAFVRIIG-KIGNMRQAHC
Mx	-----?-----S-H-----YAT-----?
NL	S-----YAT-----DI-----
J	S-----YAT-----?
P	S-----YAT-----?
Y	?-----YAT-----?

70%

Mx:Cd. de México

J: Jalisco

NL: Nuevo León

Y: Yucatán

P: Puebla

Tabla 7 .Variación en la región env del asa V3

Estados	Muestras de estudio	% GPGR	Variaciones
Cd. de México	21	76	GPGG, GPGS, GPGA, GWGR, APGR
Nuevo León	10	80	GPGS, GPRR
Jalisco	11	64	GPGS, GPGK, HPGG
Puebla	12	75	GPGS, RPGR
Yucatán	13	54	GPGS, GPEG, GPGG, APGR

4.5. Análisis Filogenético y Estadístico de Todas las muestras provenientes de 5 estados.

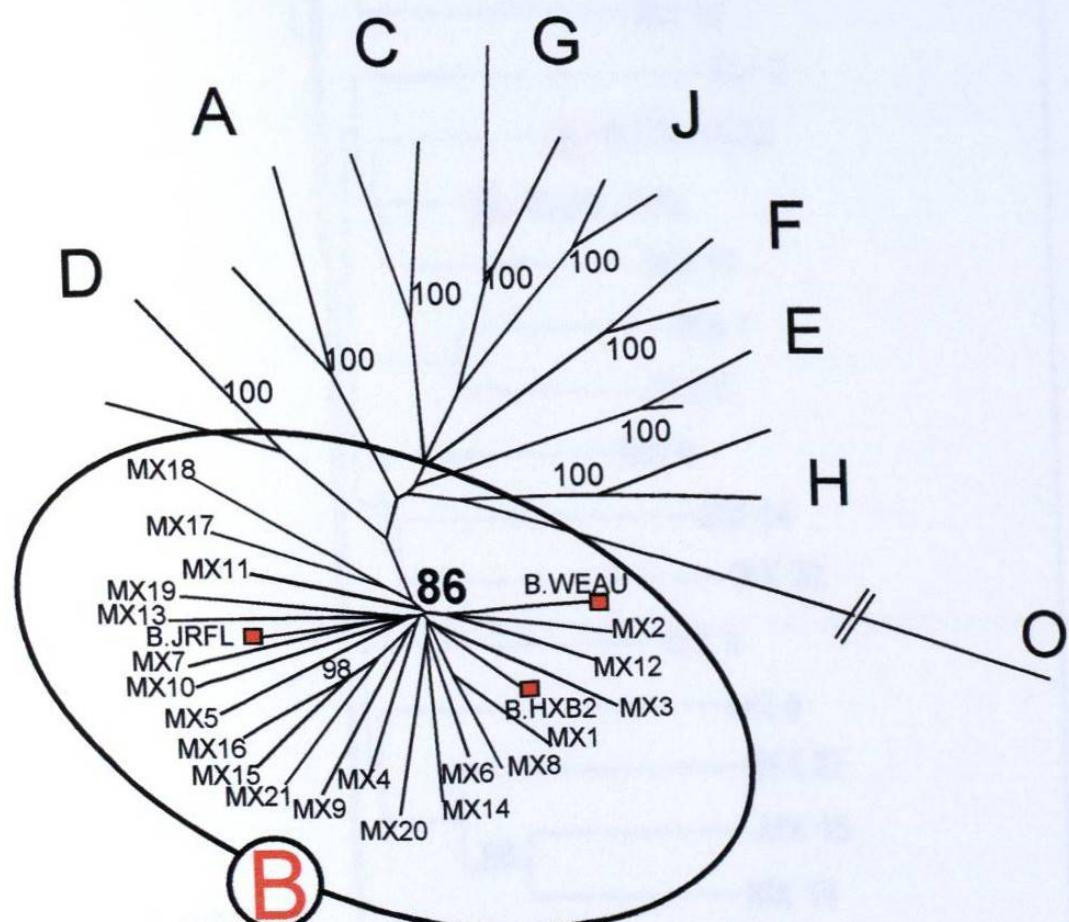
Los análisis filogenéticos se realizaron usando un programa del PHYLIP, 3.5 (21) y CLUSTAL W, v.1.7 (20). Los programas de NJplot y Tree View fueron usados para dibujar los árboles filogenéticos (22,23).

Los análisis filogenéticos revelaron que todas las muestras de México en este estudio se encontraban entre las variantes del VIH-1 subtipo B. El valor obtenido de todas nuestras muestras fue de 95% (valor bootstrap) después de haberlas repetido 100 veces . Los valores obtenidos en cada uno de los estados fue: 86 % para la Ciudad de México (figura 32 a y b), 90 % en Nuevo León (figura 33 a y b), 93 % en Jalisco (figura 34 a y b), 95 % en Puebla (figura 35 a y b) y finalmente 90 % para el estado de Yucatán (figura 36 a y b), siendo estos valores altamente significativos.

No se encontraron evidencias de subgrupos geográficos dentro de este subtipo entre las secuencias mexicanas en base a los análisis de la región C2-V5 del gen *env* como se muestra en las figuras 37a y b. Los análisis filogenéticos amplificados, incluyendo las referencias de las secuencias del subtipo B de la base de datos del GenBank (10) no revelaron ninguna asociación específica con la de las secuencias mexicanas (datos no mostrados). Los pares relacionados epidemiológicamente de las muestras de México (MX15/MX16, J7/J9, NL7/NL10, Y6/Y10) fueron filogenéticamente confirmados con valores porcentuales altos (valor bootstrap).

Figura 32a

Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de la Ciudad de México basadas en el gene *env* region C2-V5



MX México

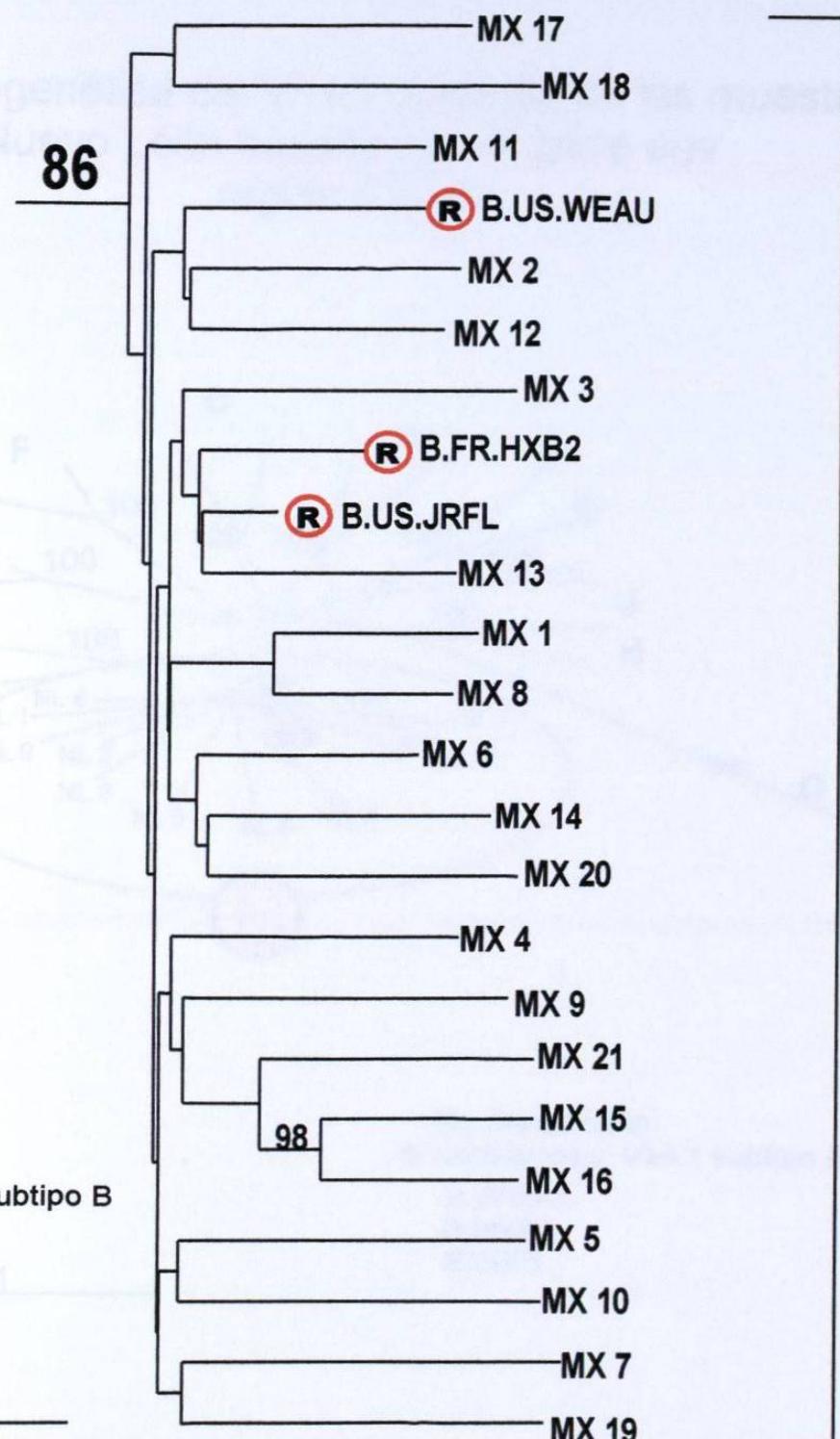
■ Referencias VIH-1 subtipo B

B.WEAU

B.HXB2

B.JRFL

Figura 32b
Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de la Ciudad de México basadas en el gene *env*
region C2-V5



MX México
B.US.WEAU
B.FR.HXB2
B.US.JRFL

Figura 33a

Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de Nuevo León basadas en el gene *env* región C2-V5

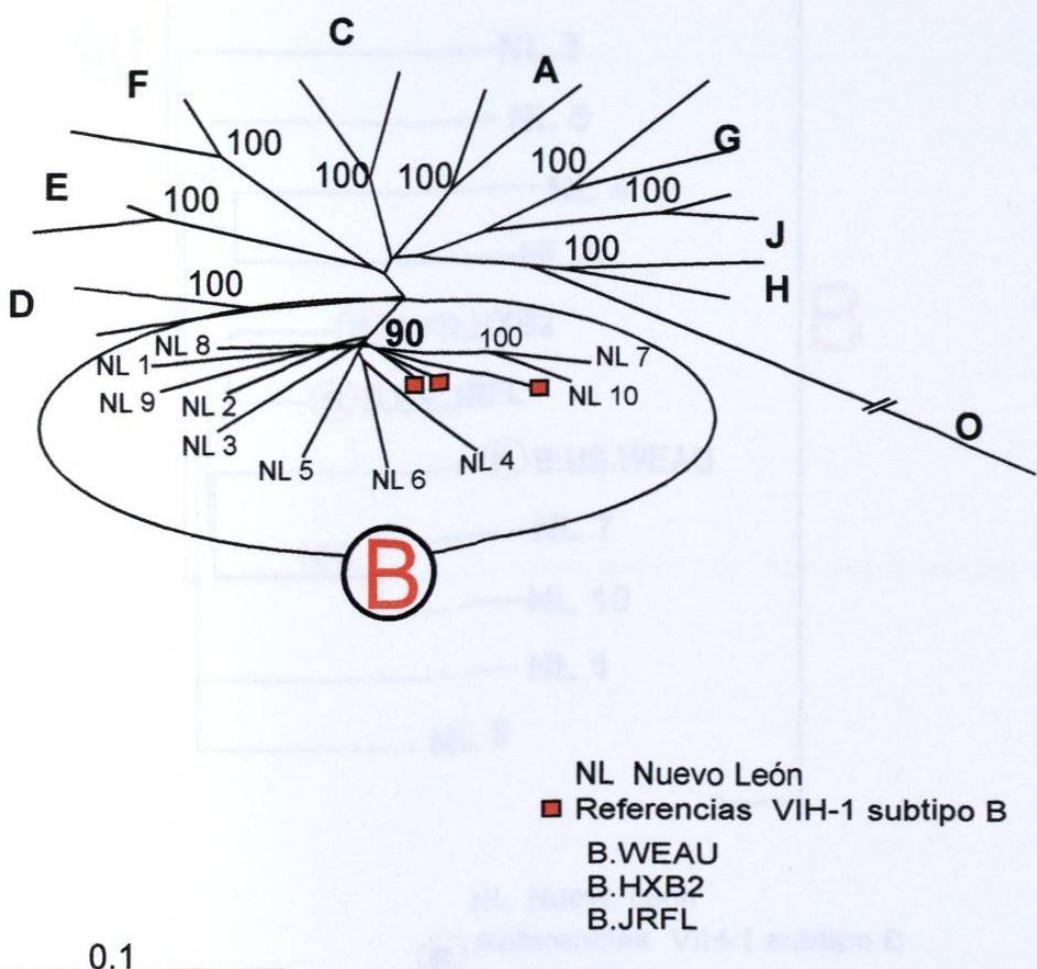


Figura 33b

Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de Nuevo León basadas en el gene *env* región C2-V5

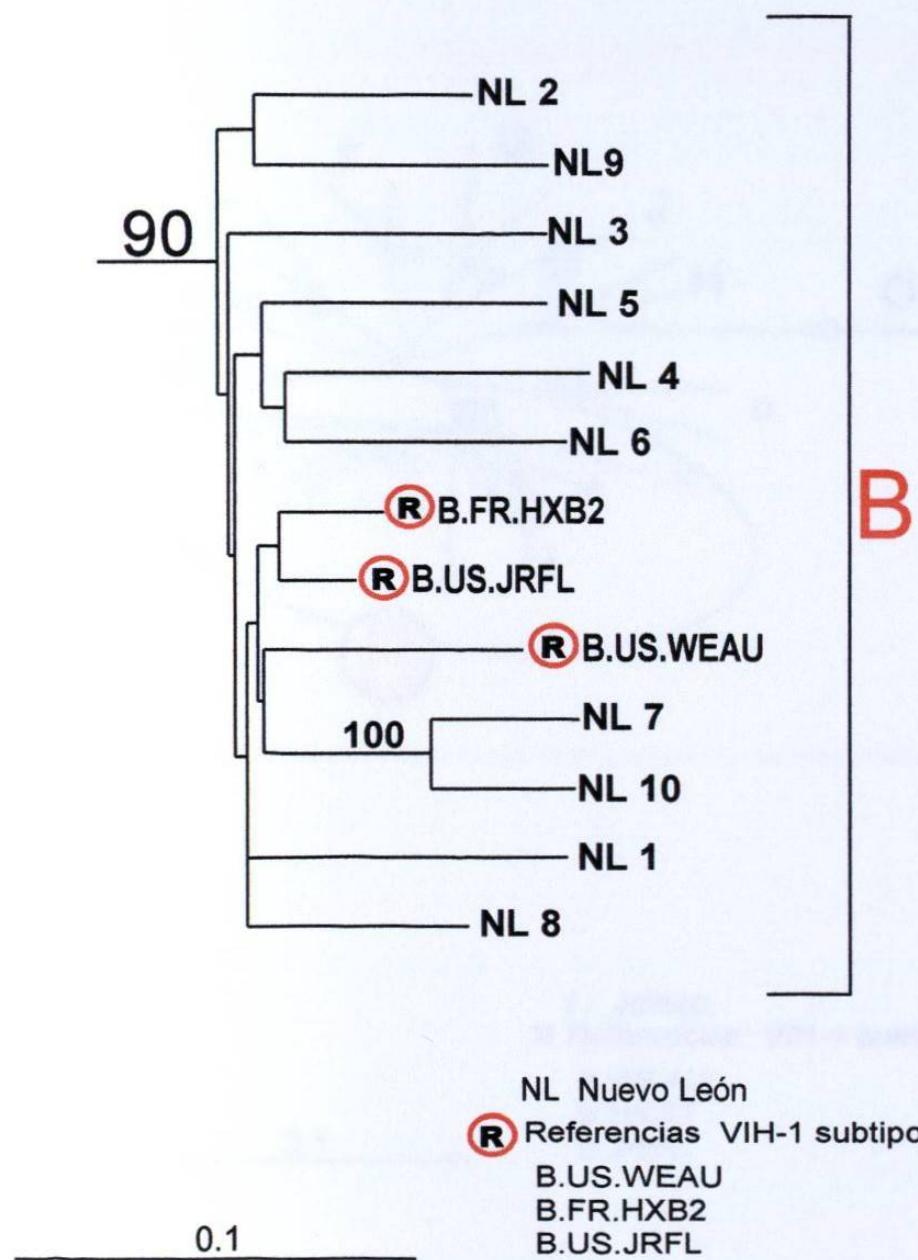


Figura 34a

Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las

Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las
muestras de Jalisco basadas en el gene *env*
region C2-V5

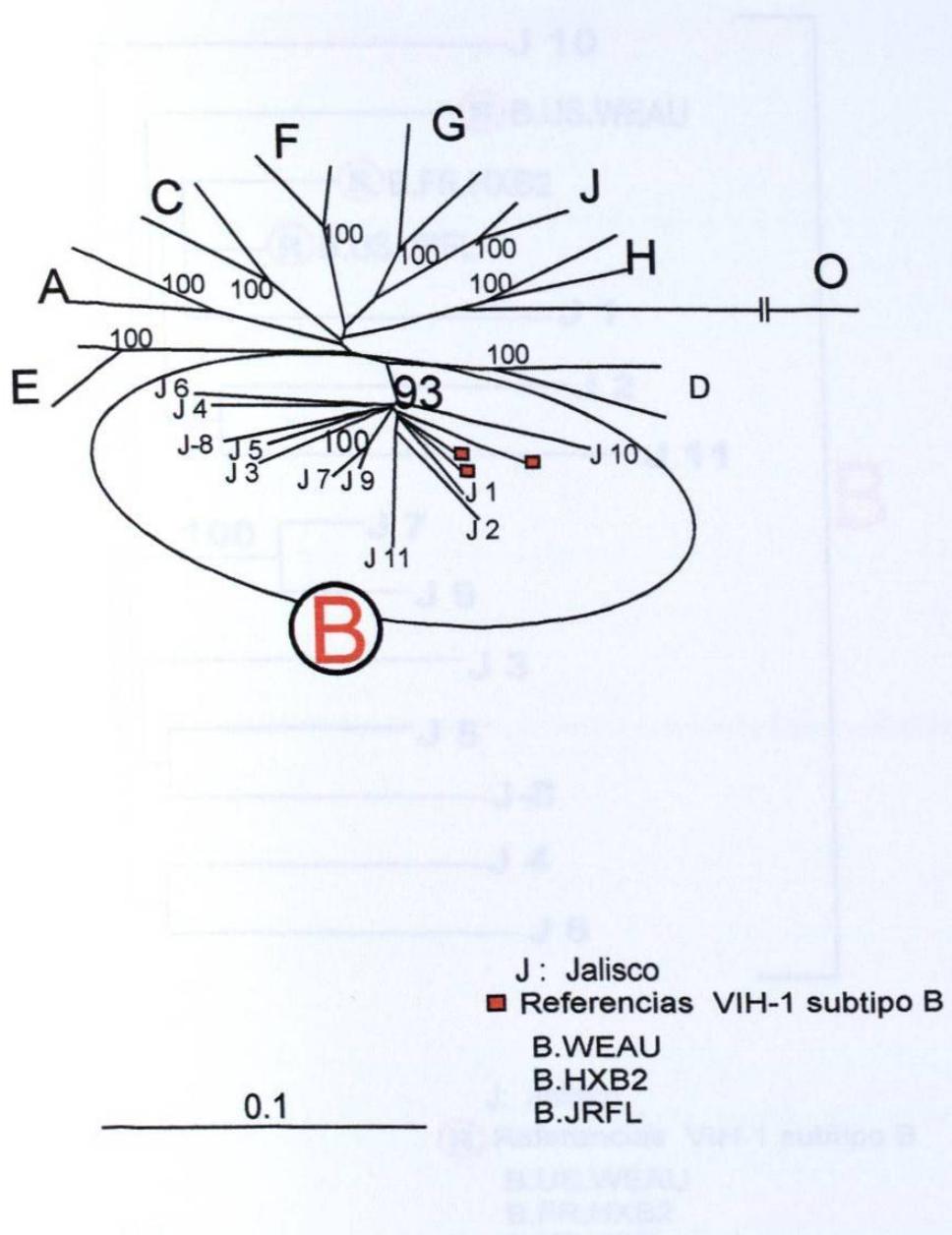
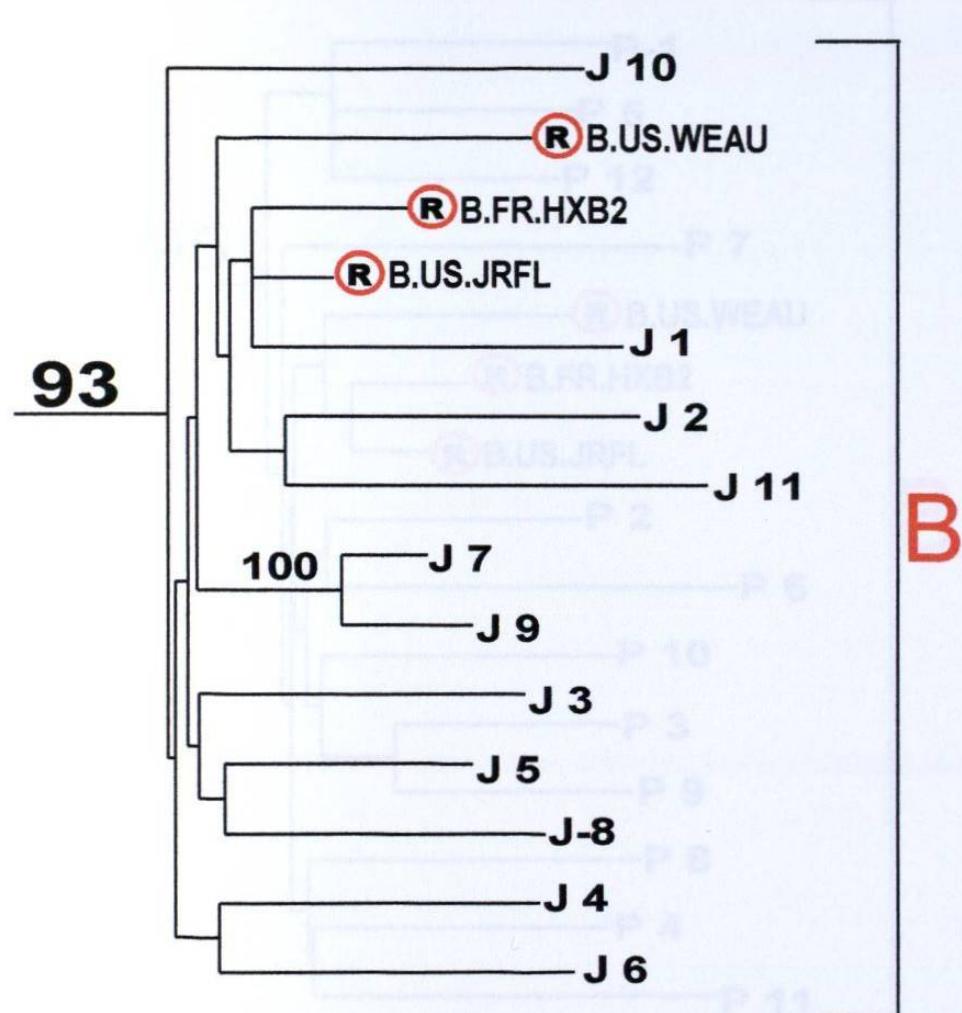


Figura 34b
Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las
muestras de Jalisco basadas en el gene *env*
region C2-V5



J: Jalisco

R: Referencias VIH-1 subtipo B

B.US.WEAU

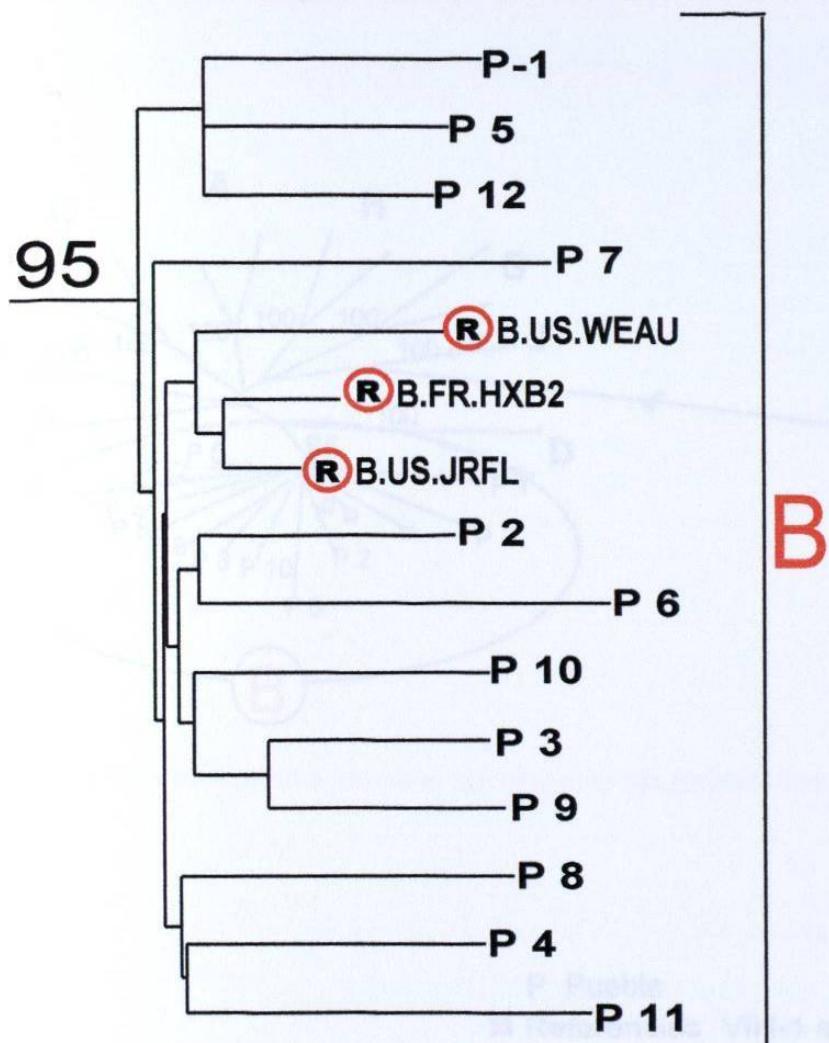
B.FR.HXB2

B.US.JRFL

0.1

Figura 35a

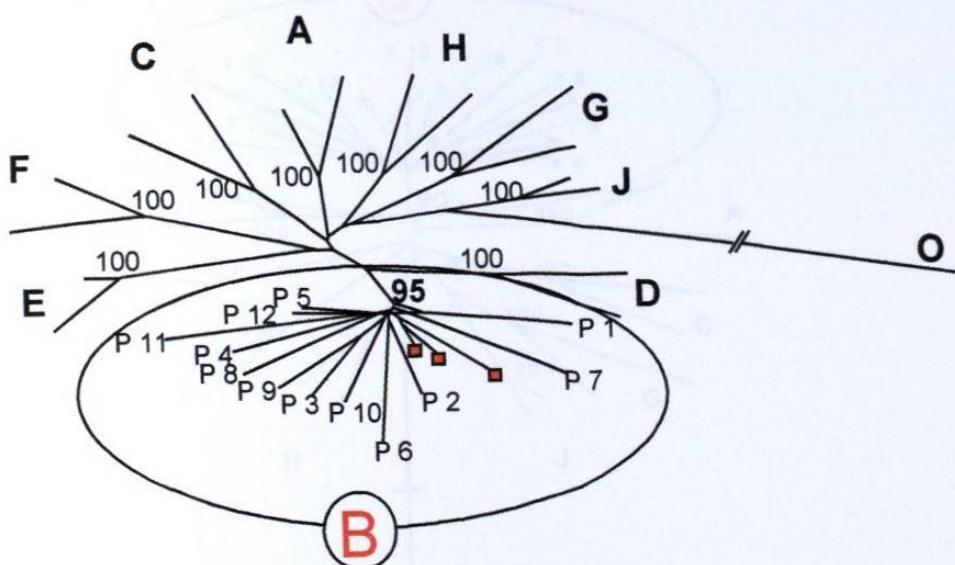
Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de Puebla basadas en el gene *env*
y las referencias de VIH-1 subtipo B de la región C2-V5



P Puebla
R Referencias VIH-1 subtipo B
B.US.WEAU
B.FR.HXB2
B.US.JRFL

Figura 35b

Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de Puebla basadas en el gene *env*
región C2-V5



P Puebla

■ Referencias VIH-1 subtipo B

B.WEAU

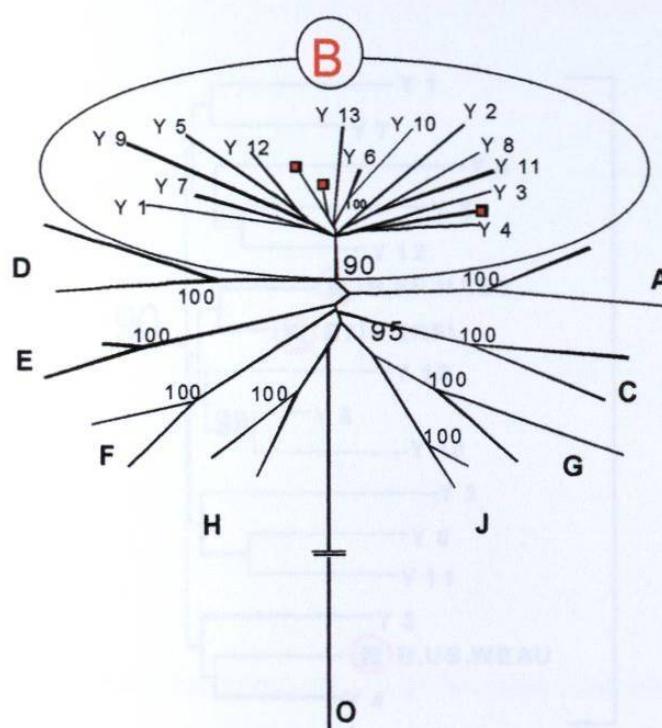
B.HXB2

B.JRFL

0.1

Figura 36a

Relación Filogenética del virus obtenido de las muestras
de Yucatán basadas en el gene env
Yucatán
región C2-V5



Y Yucatán

■ Referencias VIH-1 subtipo B

B.WEAU

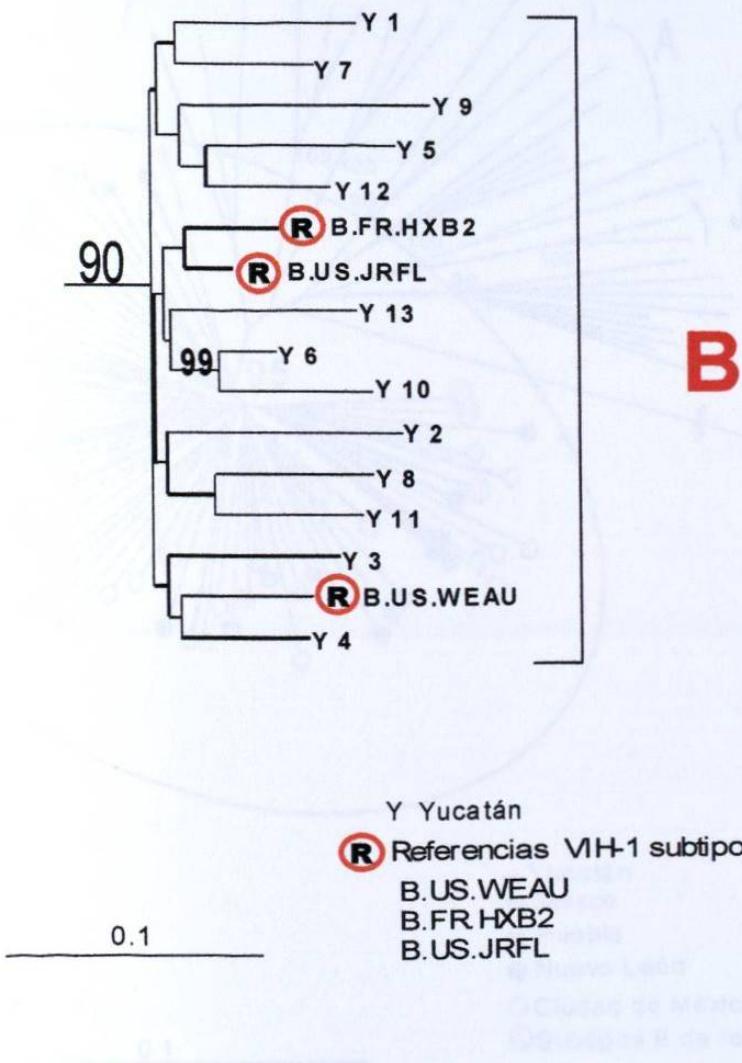
B.HXB2

B.JRFL

0.1

Figura 36b

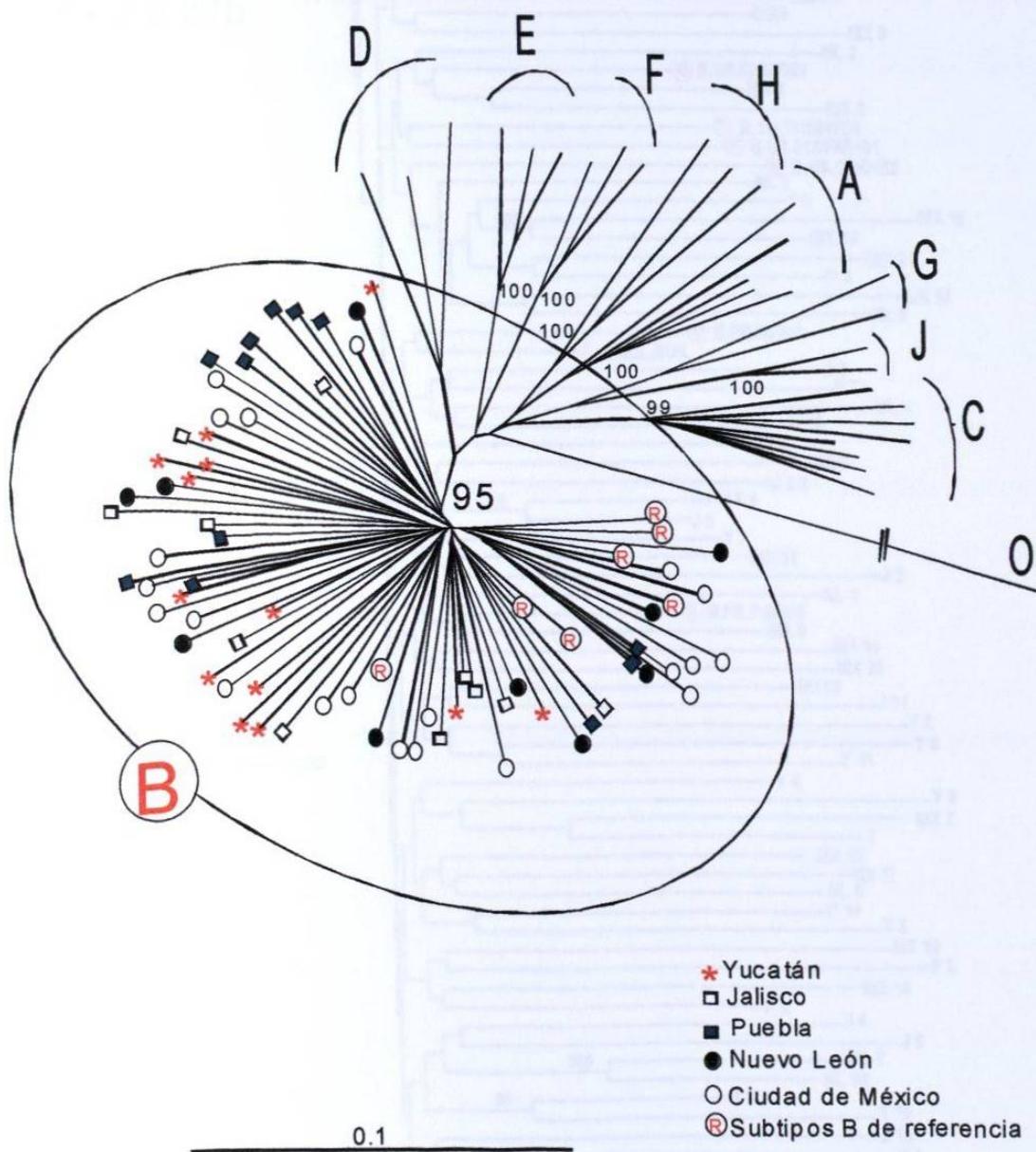
Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras
de Yucatán basadas en el gene *env*
región C2-V5



Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de cinco estados de México basadas en el gene env

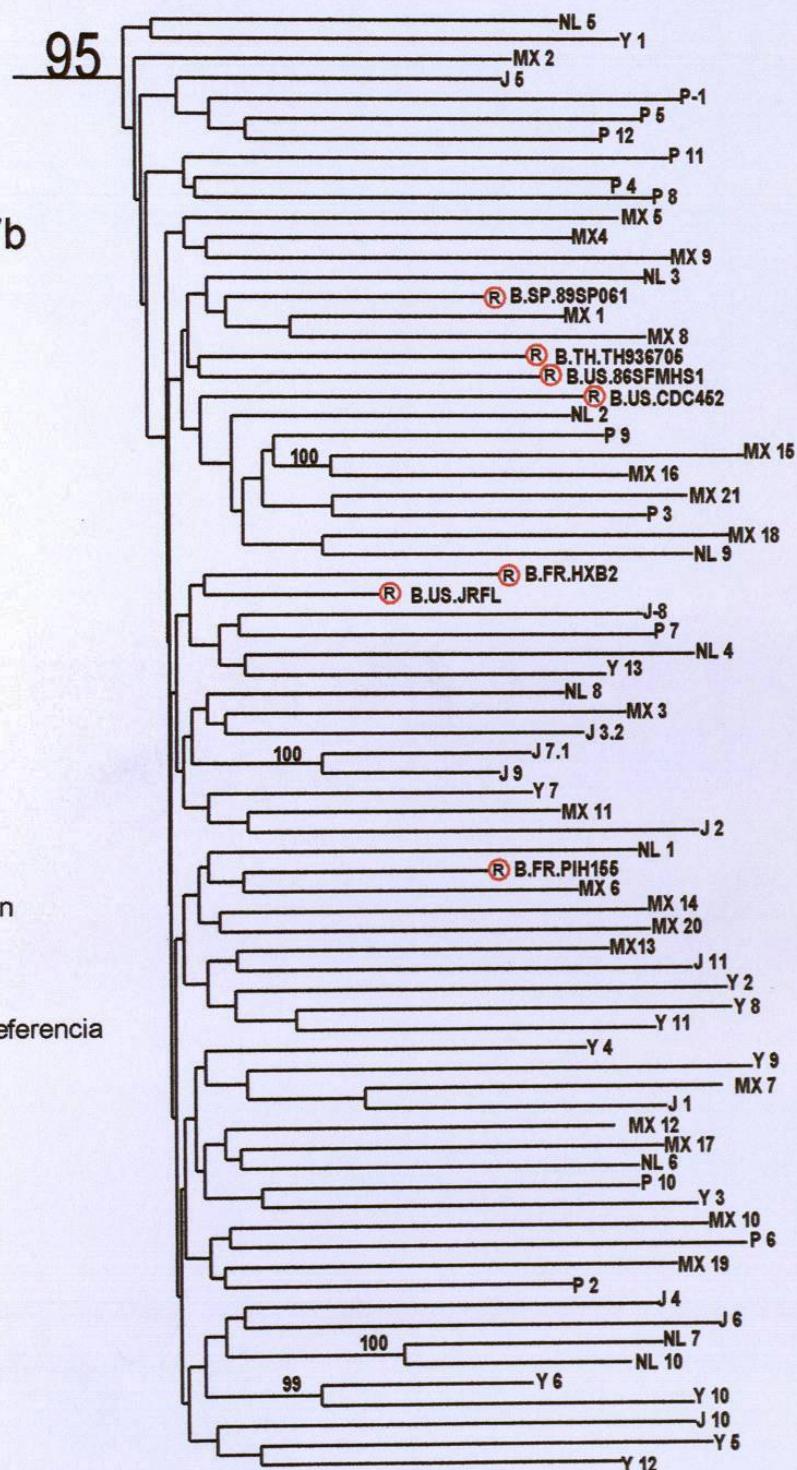
Figura 37a

Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de cinco estados de México basadas en el gene *env*
región C2-V5



Relación Filogenética del VIH-1 obtenido de las muestras de cinco estados de México basadas en el gene env región C2-V5

Figura 37b



La diversidad de los nucleótidos entre los 67 aislados de México fue más alta que la diversidad observada entre las 74 secuencias de referencia del subtipo B obtenidas de la base de datos del Banco de Genes (10). Las secuencias de referencia empleadas en este análisis fueron originarias de 14 países: Estados Unidos (50 secuencias con el subtipo B), Australia (2), Brasil (3), Canadá (2), Alemania (2), Francia (1), Italia (1), Gabon (1), Gran Bretaña (2), Haití (3), Japón (2), Holanda (2), Tailandia (2), Zaire (1). Para comparar los niveles de diversidad entre los aislados de México y las secuencias del subtipo B no mexicanas se realizo el siguiente análisis de 3 pasos. Primero, se construyó una secuencia consenso para cada grupo basada en la secuencia de los nucleótidos. Segundo, se computaron las distancias aparentes de cada aislado para la secuencia consenso dentro del grupo. Finalmente se compararon los valores promedios entre los dos grupos y se evaluaron estadísticamente. El alineamiento de este análisis fue limitado a 896 nucleótidos que es la posición del nucleótido de 6860 a 7756 del mapa HXB2 (26). El valor promedio de diversidad entre el grupo de los 67 aislados mexicanos fue de 8.9% (rango de 5.1-11.8%) mientras que entre el grupo de las secuencias de referencia del subtipo B el valor promedio fue del 6% (rango de 2.9 a 10.3%). Las diferencias fueron estadísticamente significativas (valor de $p<0.001$). Los valores de diversidad obtenidos en los 67 virus se muestra en la tabla 8.

Tabla 8 . Datos sobre los valores de diversidad obtenidos de los 67 individuos infectados.

Pacientes	Región Geográfica	Año de Positividad del VIH	Estado de la Enfermedad ¹	Modo de Transmisión ²	Cuenta de CD4 ³	Diversidad ⁴
Mx-1	Cd. de México	92	A2	Ho	660	7.2%
Mx-2	Cd. de México	94	A2	Ho	344	7.6%
Mx-3	Cd. de México	96	B3	Ho	20	7.4%
Mx-4	Cd. de México	91	C3	Ho	230	8.9%
Mx-5	Cd. de México	96	A3	Ho	336	9.1%
Mx-6	Cd. de México	96	B3	Ho/Bi	150	7%
Mx-7	Cd. de México	85	B3	Ho	66	10.6%
Mx-8	Cd. de México	95	A2	Ho	481	7.2%
Mx-9	Cd. de México	98	C3	Ho/Bi	18	9.3%
Mx-10	Cd. de México	94	B3	Ho	145	9.9%
Mx-11	Cd. de México	93	A2	Ho	276	7.8%
Mx-12	Cd. de México	90	A2	Ho	425	9.4%
Mx-13	Cd. de México	98	C3	Ho	20	6.9%
Mx-14	Cd. de México	92	B3	Ho	332	8.5%
Mx-15	Cd. de México	95	A3	Ho/Bi	202	9.8%
Mx-16	Cd. de México	95	A3	He	133	10.1%
Mx-17	Cd. de México	92	A2	Ho	554	9.1%
Mx-18	Cd. de México	91	C3	Ho/Bi	328	10.9%
Mx-19	Cd. de México	94	C3	Ho/Bi	480	9.2%
Mx-20	Cd. de México	98	C3	Ho	200	9.6%
Mx-21	Cd. de México	97	A3	Ho	78	9.4%
NL-1	Nuevo León	90	C3	Ho	143	6.9%
NL-2	Nuevo León	97	C3	Ho/Bi	NA	7.8%
NL-3	Nuevo León	93	C2	Ho/Bi	98	9.6%
NL-4	Nuevo León	95	C3	Ho	55	9.7%
NL-5	Nuevo León	97	C2	Ho	161	8.8%
NL-6	Nuevo León	96	C2	Ho	6	8.8%
NL-7	Nuevo León	97	C3	He	13	8.6%
NL-8	Nuevo León	92	C3	Ho	111	8.8%
NL-9	Nuevo León	98	C3	Ho/Bi	5	10.1%
NL-10	Nuevo León	98	C3	Ho/Bi	38	8.7%
J-1	Jalisco	99	NA	Ho	NA	9.4%
J-2	Jalisco	98	A2	Ho	562	9.1%
J-3	Jalisco	98	B3	Ho	371	6.7%
J-4	Jalisco	90	A2	Ho	537	9.5%
J-5	Jalisco	96	A2	Ho	644	7.2%
J-6	Jalisco	88	B3	Ho	359	10.7%
J-7	Jalisco	99	B3	Ho	380	6.2%
J-8	Jalisco	97	C3	Ho	96	8.4%
J-9	Jalisco	99	A2	Ho	550	5.1%
J-10	Jalisco	99	B3	Ho	272	9.3%
J-11	Jalisco	98	C3	Ho	76	10.1%
P-1	Puebla	95	C2	He	244	11%
P-2	Puebla	97	C3	He	28	7.9%
P-3	Puebla	96	C2	He	235	8.7%
P-4	Puebla	96	C3	He	162	10.4%
P-5	Puebla	94	C3	He	41	10.7%
P-6	Puebla	95	C3	Ho	63	11.7%
P-7	Puebla	94	C3	Ho	105	9.1%
P-8	Puebla	93	C3	Ho	88	10%
P-9	Puebla	96	C2	Ho	335	8.6%
P-10	Puebla	97	C2	Ho	314	9.1%
P-11	Puebla	97	C3	He	2	10.1%
P-12	Puebla	91	C3	He	16	9.2%
Y-1	Yucatán	95	C3	Ho	199	9.5%
Y-2	Yucatán	97	C3	Ho	35	11.5%
Y-3	Yucatán	88	C3	Ho	215	9.1%
Y-4	Yucatán	97	C3	Ho	93	8.9%
Y-5	Yucatán	92	B3	Ho	246	11%
Y-6	Yucatán	98	B2	Ho	244	6.4%
Y-7	Yucatán	98	B2	Ho	230	6.6%
Y-8	Yucatán	91	B3	Ho	433	10.6%
Y-9	Yucatán	92	C3	Ho	7	11.3%
Y-10	Yucatán	98	C2	Ho	125	8.6%
Y-11	Yucatán	95	C3	Ho	107	9.9%
Y-12	Yucatán	95	B3	Ho	57	9%
Y-13	Yucatán	94	B2	Ho	381	7%

¹ De acuerdo a la clasificación del CDC.

² Ho – homosexual, Ho/Bi – homosexual/bisexual, He – heterosexual.

³ Número de CD4⁺/ml de sangre.

⁴ Distancia nucleotídica al sitio consenso del serotipo B del VIH.

DISCUSIÓN

En México, al igual que en el resto de los países del mundo, el VIH/SIDA se ha convertido en un serio problema de salud pública. Hasta el 30 de septiembre de 1999, los casos diagnosticados de SIDA en nuestro país eran 40,743, estimándose 187,621 infectados con el VIH.(1) A pesar de la magnitud de esta epidemia, en la actualidad la información que se tiene acerca de la distribución de subtipos de VIH-1 en México es limitada.(2-7)

El subtipo B es el más estudiado principalmente porque los virus de este subtipo representan la mayoría de los subtipos circulantes en el mundo, es el subtipo predominante en los Estados Unidos, Europa Occidental, Latinoamérica, Australia (10) aunque otros subtipos no pertenecientes al B ya han sido detectados en Estados Unidos(15), Brasil(13), Argentina(14), Honduras(10,11,12), y Uruguay(10).

La predominancia del VIH-1 subtipo B ha sido mostrada en algunas regiones de México por serotipificación con péptidos sintéticos(2,3), ensayo de mobilidad por heteroduplex (4,7) o por determinación por PCR(7). Vazquez-Walls y colaboradores, habían reportaron previamente por ensayos de serotipificación con péptidos sintéticos o por PCR específico del subtipo de la región C2-V3, observándose la presencia del subtipo B en un 89% y, el 11% restante pertenecían a subtipos no B.(3) que no correspondían a los subtipos A, B, C, D y E. Gudino y cols.(4) reportaron el subtipo B mediante el ensayo de mobilidad por heteroduplex, de la región V1-V5 y Vázquez-Walls(2) en otro estudio basado

también en el mismo ensayo reportó el subtipo B , pero únicamente en muestras obtenidas de un solo estado (Guadalajara), sin embargo estos estudios son indeterminados(3), además de limitados en los análisis filogenéticos y en la subtipificación en el país.(2) Por lo anterior, decidimos analizar y caracterizar filogenéticamente el subtipo predominante en México tomando en cuenta las regiones con mas alta incidencia de casos de VIH/SIDA: Ciudad de México(centro), Nuevo león(norte), Jalisco(oeste), Puebla (este) y Yucatán(sur).

La región de envoltura del VIH-1 sigue considerándosele como el blanco principal para la subtipificación(8). El análisis del segmento C2-V5 del gene *env* puede proveer de información acerca de los subtipos de virus circulantes en un área geográfica dada(9). Basados en el análisis de secuencias del gene *env*, el subtipo B fue el virus predominante entre la población estudiada. La clasificación filogenética como subtipo B fué soportada por un alto valor porcentual de 95 %(valor bootstrap) en un análisis global de todas las muestras analizadas y por el análisis individual de cada estado (86 % para Ciudad de México, 90% en Nuevo León, 93% en Jalisco, 95% en Puebla y un 90 % para Yucatán), considerándose estos resultados altamente significativos. Los pares relacionados epidemiológicamente de muestras de México (MX15/MX16, NL7/NL10, J7/J9, y Y6/Y10) fueron filogenéticamente confirmados con valores altos de bootstrap.

Además en base a los análisis de la región C2-V5 del gen *env*, no se encontraron evidencias de subgrupos geográficos dentro de este subtipo entre las secuencias mexicanas. Los análisis filogenéticos amplificados, incluyendo las referencias de las secuencias del subtipo B de la base de datos del GenBank(16) no revelaron ninguna asociación específica con la de las secuencias mexicanas

(datos no mostrados). Ninguna de las muestras de México mostraron evidencias de recombinación intersubtipos (RIP) a lo largo de las regiones del gen *env* analizadas (datos no mostrados).

Se determinó la diversidad de los nucleótidos entre los 67 virus de México y se comparó con 74 subtipos B de referencia, provenientes de 14 países y que están referidos en la base de datos del GenBank (9).

El valor promedio de diversidad entre el grupo de los 67 aislados mexicanos fue de 8.9% (rango de 5.1-11.8%) mientras que entre el grupo de las secuencias de referencia del subtipo B el valor promedio fue del 6% (rango de 2.9 a 10.3%) (valor de $P<0.001$). Este descubrimiento sugiere múltiple introducción de VIH-1 en México y una historia relativamente larga de circulación de este virus en el país. La diversidad de los nucleótidos entre los 67 aislados de México fue más alta que las observadas en las 74 secuencias de referencia del subtipo B referidas de la base de datos del GenBank (9), además como resultado de este trabajo, las secuencias nucleotídicas de los 67 virus obtenidos de pacientes infectados fueron registradas en la base de datos del GenBank, con un número de acceso: AF200855-AF200921, mencionando además que ninguna de las secuencias provenientes de México han sido reportadas y depositadas en la base de datos del GenBank en el tiempo en que se desarrolló este trabajo.

Al analizar las secuencias de cada estado a lo largo de la región C2-V5, encontramos que el tetrapéptido GPGR (Glicina-Prolina-Glicina-Arginina), el cual es predominante en el subtipo B del VIH-1, fue conservado en 47 (70%) de las muestras estudiadas. Fueron observadas un 30% de mutaciones en esta región:

GPGS (6 casos) GPGG (3), APGR (3), GPGK (2), GPGA (1), GPRR (1), HPGG (1), RPGR (1) GPEG (1) y GWGR (1). (Tabla 6)

Además, observamos que los tetrapéptidos HPGG y GPEG, de Jalisco y Yucatán respectivamente, no han sido reportados previamente (9).

Nos centramos en esta región porque el GPGR forma parte del Determinante Principal de Neutralización Viral (PND). Varios estudios han mostrado que el PND de los aislados del VIH-1 reside en el tercer dominio variable (V3) de la gp 120, este dominio V3, es un segmento de 35-37 aminoácidos, que posee dos residuos de cisteína en los extremos, lo que permite que se unan por medio de un enlace disulfuro formando un loop o asa (posición 303-338). La Rosa y cols(17), mostraron que el PND contiene secuencias conservadas, reportó que arriba del 90% de las muestras estudiadas presentaron un tripéptido GPG(Glicina-Prolina-Glicina). Anticuerpos contra los aminoácidos de esta región conservada son capaces de neutralizar a los aislados del VIH-1. De nuestras muestras estudiadas, solo 59 (88%) presentaron este tripéptido característico.

Estudios previos(18) mostraron que las mutaciones en el PND pueden reducir o suprimir la formación de sincitios sin afectar la expresión de la gp160, el procesamiento o la unión a la molécula CD4. Esto sugiere que aunque el PND es distinto de los dominios que participan directamente en la unión de CD4, elementos del PND son requeridos para llevar a cabo el evento de fusión a membranas.

Las mutaciones observadas en el tetrapéptido GPGR de nuestras muestras, sugiere muy probablemente que las funciones de tropismo celular, neutralización por anticuerpos y formación de sincitios pueden encontrarse afectados en las

muestras que presentaron estas substituciones, principalmente el estado de Yucatán, que es el que presentó un mayor porcentaje de variación.

El PND no participa directamente en la unión de CD4, porque los anticuerpos no bloquean la unión gp120-CD4 (20), los resultados presentados por estos investigadores, mostraron delecciones pequeñas, inserciones, o substituciones que no afectan significativamente la unión de la envoltura con CD4. Después de que se llevó a cabo la unión con el CD4, la adición de anticuerpos contra el PND, neutralizó completamente la infectividad viral. Esto demuestra que hay un paso después de que se efectuó la unión que sí es bloqueada por los anticuerpos contra el PND.

El origen de las mutaciones *in vivo* es más debido en parte a la presión selectiva impuesta por los anticuerpos neutralizantes generados durante la infección. Variantes resistentes a los anticuerpos neutralizantes han sido seleccionados *in vitro* e *in vivo* con mutaciones dentro y fuera del PND, además hay evidencia de que los virus aislados de individuos en etapas de SIDA avanzado son más citopáticos, tienen una cinética de crecimiento acelerado y el tropismo celular está incrementado(21-24).

Es importante mencionar que la región C2-V5 a analizar presenta uniones disulfuro importantes para conservar la estructura conformacional de la gp120, los virus provenientes de Nuevo León y Jalisco presentaron los 10 residuos de cisteína presentes en esta región, los otros presentaron substituciones por otro aminoácido, en especial uno de ellos, la muestra DF14 presentó dos substituciones, uno de ellos en la cisteína que forma parte del asa V3, esto nos lleva a pensar que perdió la estructura conformacional importante en donde se

encuentra el PND. En una infección natural por VIH, la respuesta de anticuerpos para la gp120 es dirigida a los epítopos conformacionales que son dependientes de la integridad de los puentes disulfuro, además que probablemente exista alguna alteración en el tropismo celular, inducción de la formación de sincitios o bien en la neutralización por anticuerpos(25,26)

Los carbohidratos presentes en la gp120, representan aproximadamente el 50% de la masa molecular de la glicoproteína. Esta continúa siendo la más divergente entre los genes, se encuentran al menos 24 sitios de glicosilación (NxS/NxT) presentes a lo largo de las secuencias proteínicas de la gp120, en el subtipo de referencia HXB2, cerca de la mitad de estos sitios de glicosilación son altamente conservados. y no están distribuidos al azar en la molécula gp 120(27).

De los 24 sitios de N glicosilación solo 5 sitios pueden ser importantes para la infectividad viral. Estos sitios son representados por: los números del aa presente en el subtipo de referencia HXB2 : 88, 141, 197, 262 y 276; de todos ellos, los números que forman parte de las secuencias de nuestros pacientes a lo largo de la región C2-V5, son los sitios de glicosilación presentes en las posiciones 262 y 276, la posición 262 está localizada fuera de la región hipervariante de la gp120 y la posición 276 está localizada adyacente a la región hipervariante V3. Estos sitios de N-glicosilación son importantes para la infectividad viral(27). Willey y cols (31)estudiaron las mutaciones en varios sitios de N-glicosilación, encontrando que el perteneciente a la posición 262 tuvo severo daño en la infectividad, esta pérdida fue atribuida a la substitución de el aminoácido asparagina (N) por un residuo de glutamina. Muestras de MX

presentaron en forma altamente conservada el sitio de glicosilación localizado en la posición 262. Además de que adquirieron sitios extra de glicosilación.

Uno de las funciones importantes de los azúcares es el procesamiento y el plegamiento de las proteínas de envoltura como se demostró por inhibidores de las glicosidasas(28)

Debe ser considerada la posibilidad de que la presencia de los azúcares enmascaren ciertos epítopos antigenicos presentes en la gp120 a la respuesta inmune. Se ha documentado que los carbohidratos pueden afectar el reconocimiento inmune de antígenos virales, se ha encontrado que una mutante del virus de la influenza produjo un azúcar que se localizó en un sitio que es considerado como el blanco de los anticuerpos neutralizantes, en este caso, la capacidad del virus para evadir a la respuesta inmune es conseguido a través de un enmascaramiento del sitio blanco por los azúcares(29)

Otros estudios han demostrado que la desglicosilación de las proteínas de envoltura del virus de la leucemia murina y el virus de la leucemia felina producen anticuerpos neutralizantes más eficientemente que su contraparte glicosilada(29)

Estos descubrimientos ilustran que las moléculas de carbohidratos de estas glicoproteínas pueden influir en el reconocimiento inmune. Evidencias también indican que ciertas modificaciones en las moléculas de carbohidratos de un virus glicoproteico, tal como la desialización de la gp 160, puede redirigir la respuesta inmune a un epítope antigenico que es expuesto a un segmento proteico noglicosilado(30)

Estas observaciones demuestran que la modificación de las moléculas de carbohidrato de un virus que posee glicoproteínas puede ser capaz de influir en la accesibilidad de epítopes antigenicos por el sistema inmune.

Los resultados de este estudio fueron limitados, por un lado al tamaño de la muestra y por el otro de que la mayoría de los virus fueron aislados de hombres infectados por comportamientos homosexual y bisexual. Las mujeres no estuvieron representadas en este estudio (solo dos muestras de mujeres) incluso cuando la proporción de los hombres: mujeres entre la población infectada por el VIH-1 en México fue de 6:1 (1)

La subtipificación y la caracterización genética nos permite analizar los patrones de la epidemia en el país y en las comunidades, además para identificar grupos de riesgo y ayudar a identificar las vías de transmisión locales e internacionales, se puede usar como una poderosa herramienta a nivel de epidemiología molecular, ya que puede proveer de información más precisa acerca de la epidemiología y transmisión del VIH-1 en la población y en los individuos y puede contribuir a datos esenciales para el diseño y evaluación de los esfuerzos de prevención contra el VIH.

CONCLUSIONES

- Este estudio demostró que el VIH-1 Subtipo B es el virus predominante del SIDA epidémico en México.
- 67 cepas de virus recolectadas en 5 distintas áreas geográficas del país reflejan el modo de transmisión predominante en México.
- Este estudio sugiere un papel relativamente insignificante de los subtipos que no pertenecen al B en la epidemia en México.
- Nuestro estudio ha contribuido con 67 secuencias de VIH-1 en México en la base de datos del Gen Bank por primera vez.
- Nosotros también observamos dos nuevos tetrapéptidos HPGG Y GPEG en el asa V3 que no han sido reportados en estudios previos.
- La identificación de múltiples subtipos genéticos del virus y una mejor comprensión de la diversidad genética del mismo son críticos para fortalecer los esfuerzos internacionales para el control de la pandemia por el VIH.
- Los resultados en este estudio son limitados debido al pequeño tamaño de las muestras de cada sitio y no excluye la presencia de otros subtipos en el País.
- Este estudio representa la primera búsqueda de la infección de VIH usando la epidemiología molecular basada en la secuenciación del genoma viral en México y justifica seguir monitoreando la epidemia del SIDA en todos los estados de República Mexicana, lo cual nos llevará finalmente a conocer el o los tipos de virus existentes así como las secuencias de los mismos que se

encuentran en el país, esto nos permitirá entender la etiología, transmisión y tropismo del VIH-1 en México..

PERSPECTIVAS

Una de las principales aportaciones del presente estudio es haber contribuído a las primeras 67 secuencias genómicas del Virus de Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH-1) de México en ser registrados en la base de datos del GenBank, además de que dos nuevos tetrapéptidos HPGG y GPEG presentes en el asa V3 fueron observados y que no habían sido reportados previamente.

Con el incremento de la infección por el VIH en los países en desarrollo, la implementación de una vacuna efectiva permanece como prioridad.

Elegimos estudiar la gp 120 (región C2-V5) del gene env , porque es la glicoproteína más externa del VIH y porque en esta región se encuentra el asa V3, el cuál es el blanco de anticuerpos neutralizantes y además porque posee un papel esencial en la infectividad y en el tropismo viral.

El análisis de las secuencias de nucleótidos de la región gp 120 del gene env en cinco distintas áreas geográficas de nuestro país contribuyó a nuestro entendimiento de la evolución y diseminación del VIH-1 . La diversidad vista en la población en estudio , el conocimiento actual de las secuencias particulares en especial de la región V3 , es esencial para el diseño de vacunas efectivas y estrategias de inmunización pasiva.

Estos hechos abren desde nuestro punto de vista las siguientes perspectivas:

- Genotipificar cepas de VIH circulantes en otros estados de nuestro país con alta incidencia por VIH, así como genotipificar las infecciones adquiridas por otras vías de transmisión como la heterosexual y las adquiridas por transmisión vertical madre-hijo.
- Es también clara la importancia de continuar el esfuerzo para identificar regiones altamente conservadas, epítopes neutralizantes fuera de la región V3 que puedan servir como blanco adicional para el desarrollo de vacunas.
- Diseñar vacunas alternativas desarrollada en base a las propiedades únicas de la epidemiología y patogenicidad del VIH-1 en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

INTRODUCCIÓN

Origen e Historia del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

1. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981;305:1425.
2. Mildvan D, Mathur U, Enlow RW, et al. Opportunistic Infections and immune deficiency in homosexual men. *Ann Intern Med* 1982;96:700-704
3. Sonnabend J, Witkin SS, Purtlo DT, Acquired immunodeficiency syndrome, opportunistic infectious and malignancies in male homosexuals: a hypothesis of etiologic factors in pathogenesis. *JAMA* 1983;249:2370-2374.
4. Centers for Disease Control. Epidemiologic aspects of the current outbreak of Kaposi's sarcoma and opportunistic infections. *N Engl J Med* 1982;306:248-252
5. Curran J W, Lawrence DN, Jaffe H, et al. Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) associated with transfusions. *N Engl J Med* 1984; 310:69.
6. Jaffe HW, Francis DP, McLane MF, et al. Transfusion-associated AIDS: serologic evidence of human T-cell leukemia virus infection of donors. *Science* 1984;223:1309.

7. Rubinstein A, Sicklick M, Gupta A, et al. Acquired immunodeficiency with reversed T4/T8 ratios in infants born to promiscuous and drug-addicted mothers. *JAMA* 1983;249:2350.
8. Oleske J, Minnefor A, Cooper R Jr, et al. Immune deficiency syndrome in children, *JAMA* 1983; 249:2345.
9. Piot P, Quinn TC, Taelman H, et al. Acquired immunodeficiency syndrome in a heterosexual population in Zaire. *Lancet* 1984;2:65.
10. Masur H, Michelis MA, Greene JB, et al. An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii* pneumonia: initial manifestation of cellular dysfunction. *N Engl J Med* 1981;305:1431
11. Essex M, McLane MF TH, Lee TH, et al. Antibodies to cell membrane antigens associated with human T-cell leukemia virus in patients with AIDS. *Science* 1983;220:859
12. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS), *Science* 1983;220:865.
13. Barre-Sinoussi F, Chermann J-C, Rey F et al. Isolation of T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983; 220, 868.
14. Essex Myron E. Origin of acquired immunodeficiency syndrome. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, Curran J, Essex M, Fauci AS, eds. *AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention*, 4th ed. Philadelphia: Lippincott –Raven Publishers., 1997;45-74

15. Essex M, Kanki P. Origins of the AIDS virus. *Sci Am* 1988;259:64.

Características de los Retrovirus

1. Barre-Sinoussi F, Cherman JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-871.
2. Gallo RC, Salahuddin Sz, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and a risk for AIDS. *Science* 1984;224:497-500.
3. Clavel F, Mansinho K, Charmaret S, et al. Human immunodeficiency virus type 2 infection associated with AIDS in West Africa. *N Engl J Med* 1987;316:1180-1185.
4. Kanki PJ, Barin F, M'Boup S, et al. New human T-lymphotropic retrovirus related to simian T-lymphotropic virus type III (STLV-III AGM). *Science* 1986;232:238-243.
5. Wong-Staal F. Human Immunodeficiency Viruses and Their Replication. Fields BN. ed. Fundamental Virology. 2nd ed. Raven Press.Ltd. New York.1991;709-723
6. Essex M. Origin of AIDS. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, Curran J, Essex M, Fauci AS, eds. AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention, 4th ed. Philadelphia: Lippincott –Raven Publishers., 1997;1-20

Estructura Viral y Genética

1. Wong-Staal F. Human Immunodeficiency Viruses and Their Replication. Fundamental Virology. 2nd ed. Raven Press.Ltd. New York.1991;709-723
2. Korber B, Kuiken C, Foley B, Hahn B, McCutchan F, Mellors J, and Sodroski J (ed): Human Retroviruses and AIDS 1998. Los Alamos: Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory;1998.
3. Pavlakis GN, The Molecular Biology of Human Immunodeficiency Virus Type 1. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, Curran J, Essex M, Fauci AS, eds. AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention, 4th ed. Philadelphia: Lippincott –Raven Publishers., 1997;45-74
4. Haseltine W, Wong-Staal F. The molecular biology of the AIDS virus. Sci Am 1988;259:52-63
5. HIVInSite.1997. Structure, Expression, and Regulation of the HIV-1 Genome.<http://hivinsite.ucsf.edu/akb/1997/03genome/index.html>
6. Subramanian RA, and Cohen EA. Molecular Biology of the Human Immunodeficiency Virus Accesory Proteins.J.Virology,1994;68:6831-6835.
7. Abbas AB, Lichtman AH, and Pober JS. Inmunología Celular y Molecular. 2da. Ed.McGraw-Hill. Interamericana.1999.505-515.

Ciclo de vida del VIH-1

1. HIV Mode of infection http://www.brown.edu/Courses/Bio_160/hiv/moi.html

2. Dalgleish AG, Beverly PC, Clapham PR, et al. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984; 312:763.
3. Arthos J, Deen KC, Chaikin MA, et al. Identification of the residues in human CD4 critical for the binding of HIV. *Cell* 1989; 57: 469.
4. Lasky LA, Nakamura G, Smith DH, et al. Delineation of a region of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 glycoprotein critical for interaction with the CD4 receptor. *Cell* 1987; 50:975.
5. Klatzmann D, Barre-Sinoussi F, Nugeyre MT, et al. Selective tropism of lymphadenopathy-associated virus (LAV) for helper-inducer T-lymphocytes. *Science* 1984; 225:59.
6. Essex Myron E. The Life Cycle of Human Immunodeficiency Virus Type 1In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, Curran J, Essex M, Fauci AS, eds. AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention, 4th ed. Philadelphia: Lippincott –Raven Publishers., 1997;45-74
7. Freed EO, Myers DJ, Risser R. Characterization of the fusion domain of the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4650.
8. <http://hivinsite.ucsf.edu/akb/1997/03genome/index.html>

Inmunopatogénesis de la infección por HIV-1

1. Fauci AS: Host factor and the pathogenesis of HIV-induced disease. *Nature* 1996;384:529-534.

2. Pantaleo G, Graziosi C, and Fauci AS: The Immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Eng J Med* 1993;328:327.
3. Fauci AS: The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanisms of pathogenesis. *Science* 1988;239:617.
4. Haynes BF, Pantaleo G, Fauci A. Toward an Understanding of the Correlates of Protective Immunity to HIV Infection. *Science* 1996;271:324-328
5. Levy JA: HIV pathogenesis and long-term survival. *AIDS* 1993;7:1401.
6. Easterbrook PJ: Non-progression in HIV infection. *AIDS* 1994;8:1179.
7. Emilie D, Peuchmaur M, Maillot M, Crevon M, Brousse N, Delfraissy J, Dormont J, and Galanaud P: Production of interleukins in human immunodeficiency virus-1 replicating lymph nodes. *J Clin Invest* 1990;86:148-159.
8. Dragic T, Litwin V, Allaway GP, Martin SR, Huang Y, Nagashima KA, Cayanan C, Madden PJ, Koup RA, Moore JP, and Paxton WA: HIV-1 entry into CD4⁺ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature (London)* 1996;381:667-673.
9. Alkhatib G, Combadiere C, Broder CC, Feng Y, Kennedy PE, Murphy PM, and Berger EA: CC CKR5: A RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 1996;272:1955-1958.
10. Choe H, Farzan M, Sun Y, Sullivan N, Rollins B, Ponath PD, Wu L, Mackay CR, LaRosa G, Newman W, Gerard N, and Sodroski J: The beta-chemokine

- receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell* 1996;85:1135-1148.
11. Doranz BJ, Rucker J, Yi Y, Smyth RJ, Samson M, Peiper SC, Parmentier M, Collman RG, and Doms RW: A dual-tropic primary HIV-1 isolates that uses fusin and the beta-chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactors. *Cell* 1996;85:1149-1158.

Características Clínicas de la infección

1. Fauci AS: Multifactorial nature of human immunodeficiency virus diseases: Implications for therapy. *Science* 1993;262:1011-1018.
2. Cooper DA, Gold J, Maclean P, et al: Acute AIDS retrovirus infection: definition of a clinical illness associated with seroconversion. *Lancet* 1985;i:537-540.
3. Tindall B, Barker S, Donovan B: Characteristics of the acute clinical illness associated with human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med* 1988;148:945-949.
4. Tindall B, and Cooper DA: Primary HIV infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* 1991;5:1.
5. Cameron P, Pope M, Granelli-Piperno A, and Steinman RM: Dendritic cells and the replication of HIV-1. *J Leukocyte Biol* 1996;59:158-171.
6. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al: *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men:

- evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981;305:1425-1431.
7. Seigal FP, Lopez C, Hammer GS, et al: Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals, manifested by chronic perianal ulcerative *herpes simplex* lesions. *N Engl J Med* 1981;305:1439-1444.
 8. Mildvan D, Mathur U, Enlow RW, et al: Opportunistic infections and immune deficiency in homosexual men. *Ann Intern Med* 1982;96:700-704.
 9. Friedman-Kien AE, Laubenstein LJ, Rubinstein P, et al: Disseminated Kaposi's sarcoma in homosexual men. *Ann Intern Med* 1982;96:693-700.
 10. Wei X, Chosh SK, Taylor ME, et al: Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373:117.
 11. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Marakowitz M: Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV/1 infection. *Nature* 1995;373:123.
 12. MMWR. 1993 Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults December 18, 1992 / 41(RR-17)

Respuesta inmune al VIH

1. Gaines H, von Sydow M, Sonnerborg A, et al: Antibody response in primary human immunodeficiency virus infection. *Lancet* 1987;i:1249-1253.

2. Barin F, McLane MF, Allan JS, Lee TH, Groopman JE, Essex M: Virus envelope protein of HTLV-III represents major target antigen for antibodies in AIDS patients. *Science* 1985;228:1094-1096.
3. Prince AM, Pascual D, Kosolapov LB, Kurokawa D, Baker L: Prevalence, clinical significance, and strain specificity of neutralizing antibody to the human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 1987;156:268-272.
4. Romagnani S, and Maggi R: Th1 versus Th2 responses in AIDS. *Current Opinion in Immunology* 1994;4:616-622.
5. Wei X, Chosh SK, Taylor ME, et al: Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373:117.
6. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Marakowitz M: Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV/1 infection. *Nature* 1995;373:123.
7. Piatak M, Saag MS, Yang LC, et al: High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* 1993;259:1749.
8. Phipps RE, Rowland-Jones S, Nixon DF, Gotch FM, Edwards JP, Ogunlesi AO, Elvin JG, Rothbard JA, Bangham CR, Rizza CR, and McMichael A: Human immunodeficiency virus genetic variation that can escape cytotoxic T cell recognition. *Nature (London)* 1991;354:453-459.
9. Borrow P, Lewicki H, Wei X, Horwitz MS, Peffer N, Meyers H, Nelson JA, Gairin JE, Hahn BH, Oldstone MB, and Shaw GM: Antiviral pressure exerted by HIV-1 specific citotoxic T lymphocytes (CTLs) during primary

- infection demonstrated by rapid selection of CTL escape virus. *Nature Med* 1997;3(2):205-211.
10. Pantaleo G, Soudeyns H, Demarest JF, Vaccarezza M, Graziosi C, Paolucci S, Daucher MB, Cohen OJ, Denis F, Biddison WE, Seakaly RP, and Fauci AS: Evidence for rapid disappearance of initially expanded HIV-specific CD8⁺ T cell clones during primary infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:9848-9853.
11. Pantaleo G, Soudeyns H, Demarest JF, Vaccarezza M, Graziosi C, Paolucci S, Daucher MB, Cohen OJ, Denis F, Biddison WE, Seakaly RP, and Fauci AS: Accumulation of human immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes away from the predominant site of virus replication during primary infection. *Eur J Immunol* 1997;27:3166-3173.

Epidemiología

Epidemiología del VIH/SIDA a nivel Mundial y en México

1. CONASIDA. 1999. México Web Site, <http://www.cenids.ssa.gob.mx/conasida>
2. Uribe_Zuñiga P, Magis_Rodríguez C, and Bravo_García E. 1998. AIDS in México, Journal of the International Association of Physicians in AIDS care (IAPAC), <http://www.thebody.com/iapac/mexico/mexico.html>, vol. November.
3. HIVInSite. 1997. México Health: Church under attack for its war on AIDS, <http://hivinsite.ucsf.edu/ads/9709/97090304.html>, IPS Wire.
4. HIVInSite. 1998. México, http://HIVInSite.ucsf.edu/international/latin_america/2098.3be2.html, vol. 1999.

5. MAP. 1998. The Status and Trends of the HIV/AIDS Epidemics in the World. Comprehensive report from MAP (Monitoring the AIDS Pandemic) Network.
6. Valdespino-Gómez JL, García-García ML, Río-Chiriboga C, Cruz-Palacios C, Loo-Méndez E, y López-Sotelo A. Las Enfermedades de Transmisión Sexual y la Epidemia de VIH/SIDA. Salud Pública de México. 1995;37:549-555.
7. Martínez-Aguilar G, Vázquez-De Kartzow R, Nava-Frías M, Santos-Preciado JI, Infección por VIH en Niños Mexicanos. . Salud Pública de México. 1995;37:572-580
8. Río-Zolezzi A, Liguori AL, Magis-Rodríguez C, Valdespino-Gómez JL, García-García ML, Sepúlveda-Amor J, La Epidemia del VIH/SIDA y la Mujer en México... Salud Pública de México. 1995;37:581-591.
9. Uribe-Zúñiga P, Hernández-Tepichín G, Río-Chiriboga C, Ortiz V, Prostitución y SIDA en la Ciudad de México. . Salud Pública de México. 1995;37:592-601.
10. Magis-Rodríguez C, Río-Zolezzi A, Valdespino-Gómez JL, García-García ML, Casos de SIDA en el Área Rural en México. . Salud Pública de México. 1995;37:615-623
11. <http://www.aids.sida.org> .Amigos contra el SIDA. 1999.
12. Magis-Rodríguez C, Bravo-García E, Anaya-López L, Uribe-Zúñiga P. La Situación del SIDA en México a finales de 1998. Enfermedades Infecciosas y Microbiológicas.1998;18:236-244.

- 13.Kuri —Morales P, Fortalecimiento de la Vigilancia Epidemiológica del VIH/SIDA. Boletín Epidemiológico Semanal. 1999.
- 14.Pérez-Bias A, Explican Cifras sobre el SIDA.1999.
<http://wwwcenids.ssa.gob.mx/conasida/cifras.htm>
- 15.Anaya L, Subestimación de la Incidencia de SIDA en México, debida al retraso en la notificación. 1998.
<http://www.ssa.gob.mx/conasida/revista/1997/>
- 16.Anaya L, Subestimación de la Incidencia de SIDA en México, debida al retraso en la notificación. SIDA-ETS.1997;3:35-38
- 17.Avila C, Stetler H, Sepúlveda J, Dickinson E, Castro K, Ward J, Romero G, Valdespino JL. The Epidemiology of HIV Transmission among paid Plasma Donors, Mexico City, Mexico, AIDS 1989;3:631-633.
- 18.Izazola-Licea JA, Valdespino-GómezJL, Gortmaker SL, Townsend J, Becker J, Palacios-Martinez M, Mueller NE, Sepulveda-Amor J. HIV-1 Seropositivity and Behavioral and Sociological Risks Among Homosexual and Bisexual Men in Six Mexican Cities.J Acquired Immune Def 1991;4:614-622.
- 19.Hernandez M, Uribe P, Gortmaker S, Avila C, De Caso LE, Mueller N, Sepulveda J. Sexual Behavior and Status for Human Immunodeficiency Virus Type 1 among Homosexual and Bisexual Males in mexico City. J Epidemiol. 1992;135:883-894.
- 20.Olivares-López. SIDA Asociado con Transfusión de Sangre. Salud Pública de México. 1993;35:351-356.

Subtipos de VIH-1

1. Korber B, Kuiken C, Foley B, Hahn B, McCutchan F, Mellors J, and Sodroski J (ed): Human Retroviruses and AIDS 1998. Los Alamos: Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory; 1998.
2. Korber B, Theiler J, Wolinsky S. Limitations of a Molecular Clock Applied to Considerations of the Origin of HIV-1. *Science* 1998;280:1868-1871.
3. Brodine S, Mascola JR, McCutchan FE. Genotypic Variation and Molecular Epidemiology of HIV. *Infect Med* 1997;14:739-748
4. Balter M. New HIV Strain Could Pose Health Threat. *Science* 1998;281: 1425-1426
5. Simon F, Mauclere P, Roques P, Loussert-Ajaka I, Müller-Trutwin M, Saragosti S, Georges-Courbot MC, Barre-Sinoussi F, and Brun-Vezinet F. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nature Med* 1998;4:1032-1037
6. Burke DS and McCutchan FE. Global Distribution of Human Immunodeficiency Virus-1 Clades. AIDS. Biology, Diagnosis, Treatment and Prevention, Fourth edition. Edited by Vincent T. De Vita Jr., Samuel Hellman, and Steven a. Rosenberg. Lippincott-Raven Publishers.1997
7. Vázquez-Valls E, Cheingsong-Popov R, Sierra-Quevedo JJ, Lister S, Lopez Marquez F, Weber J, Zuniga-Gonzalez L, Campos-Lopez P, and Esparza J. 1996. Monotypic HIV-1 subtype B in Guadalajara, Mexico (Abstract 2070). XI International AIDS Conference, Vancouver (Canada).

8. Vázquez-Valls E, Sierra-G JJ, Lopez-Marquez FC, Escoto-Delgadillo M, Lopez-Lomeli MC, and Campos-Lopez PI. 1998. No differences in Mexico between HIV-1 subtype B, sexual preferences and routes of transmission (Abstract 11180). 12th World AIDS Conference, Geneva (Switzerland).
9. Gudino JC, Martinez F, Alcantara P, and Soler C. 1996. Genotyping of Mexican HIV-1 isolates (Abstract 2071). XI International AIDS Conference, Vancouver (Canada).
10. Soto-Ramirez L, Renjifo B, Marlink R, and Essex M. 1996. Mexican HIV-1 V3 loop sequences grouped according to route of transmission (Abstract 2081). XI International AIDS Conference, Vancouver (Canada).
11. Soler Claudin C, and Gudino Rosales JC: [11 years since the discovery of the human immunodeficiency virus]. Salud pública Mex 1995;37:499-509.
12. Soler Claudin C, and Gudino Rosales JC. 1998. Subtyping of HIV-1 in Mexico by envHMA and gagPCR-FLP (Abstract 11198). 12th International AIDS Conference, Geneva (Switzerland).
13. Renjifo B, Blackard J, Klaskala W, Chaplin B, Shah P, McLane MF, Barin F, Esparza J, Zelaya JE, Osmanov S, Soto R, Fernandez JA, Baum M, Essex HIV-1 subtype B in Honduras. Virus Res.60: 191-197 (1999).
14. Lara C, Sallberg M, Johansson B, Rivera I, and Sonnerborg. The Honduran Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Epidemic is Dominated by HIV-1 Subtype B as determined by V3 Domain Sero-and Genotyping.J Clin Microbiol. 35: 783-784.(1997)

15. Candal DH, Pau CP, Luo C-C, Granade T, Stetler H, Amador L, Meza R, Nuñez C, Schochetman G, George JR. 1997. Genetic Variability of HIV type 1 in Honduras. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 13:1349-1350 (1997)
16. Sabino E, Diaz R, Brígido L, Learn G, Mullins J, Reingold A, Duarte A, Mayer A, and Bush M. Distribution of HIV-1 subtypes seen in AIDS clinic in São Paulo City, Brazil. *AIDS*. 10:1579-1584 (1996)
17. Campodonico M, Janssens W, Heyndrickx L, Fransen K, Leonaers A, Fay FF, Taborda M, Van Der Groen G, and Fay O. HIV Type 1 in Argentina and Genetic Heterogeneity of the V3 Region. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 12:79-81 (1996)
18. Warren R, Wong M, Melcher G, Blatt S, Cahn P, Perez H, Zapiola I, Bouzas MB, Muchinik G, Anderson S, and Kennedy R. Serologic Evaluation of Human Immunodeficiency Virus Type 1- Infected Individuals from Argentina and the United States Indicates a Similar Distribution of Subgroup B Isolates. *J Clin Microbiol*. 33:481-483.. 1995.
19. Cabello A, Cabral M, Vera ME, Kiefer R, Azorero R, Eberle J, Gürtler L, and Von Brunn A. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 11: 1135-1137. .1995.
20. Essex, M. Confronting the AIDS vaccine Challenge. *Technol. Rev.* 97: 23-29. 1994.
21. Van Harmelen, J, Wood R, Lambrick M, Rybicki E, Williamson A, Williamson C. An Association between HIV-1 subtypes and Mode of Transmission in Cape Town, South Africa. *AIDS*. 11:81-87. 1997.

- 22.Kunansont C, Foy H, Kreiss J, et al. HIV-1 Subtypes and Male to Female Transmission in Tailandia. Lancet. 345: 1078-1083.. 1995.
- 23.Artenstein A, Coppola AE, Brown JK, Carr E, Sanders-Buellk E, Galbarini Jr, Mascola TC, VanCott P, Schonbrood and McCutchan. Multiple Introductions of HIV-1 subtype E into the Western Hemisphere. Lancet. 346:1197-1198.
- 24.Brodine SK, Mascola PJ, Weiss SI, Ito KR, Porter AW, Artenstein FC, Garland FE, McCutchan and Burke DS. Detection of diverse HIV-1 Genetic Subtypes in USA. Lancet. 346: 1198-1199.1995.
- 25.Clewley JP, Arnold KL, Barlow PR, Grant and Parry JV. Diverse HIV-1-1 Subtypes in the UK. Lancet. 347:1487. 1996.
- 26.Fransen k, Buve JN, Nkengasong M, Laga and Van der Groen G. Longstanding presence in Belgians of multiple non-B HIV-1 Subtypes. Lancet 347: 1403.1996.
- 27.Pieniazek D, Yang C, and Lal RB: *Phylogenetic analysis of gp41 envelope of HIV-1 groups M, N, and O*, p. III-112-117. In B. Korber and C. Kuiken and B. Foley and B. Hahn and F. McCutchan and J. Mellors and J. Sodroski (ed.): Human Retroviruses and AIDS 1998. Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory: Los Alamos, 1998.
- 28.Moore JP and Nara PL, The role of the V3 loop of gp 120 in HIV infection. AIDS 1991;5 (Suppl.2):S21_S33.

29. Goudsmit J, Boucher CA, Meloen RH, Epstein LG, Smith L, van der Hoek L, and Bakker M. Human antibody response to a strain-specific HIV-1 gp120 epitope associated with cell fusion inhibition. *AIDS* 1988;2:157-164.
30. Grimalia RJ, Fuller BA, Rennert PD, Nelson MB, HammarSKJOLD M, Potts B, Murray M, Putney SD, and Gray G. Mutations in the principal neutralization determinant of human immunodeficiency virus type 1 affect syncytium formation, virus infectivity, growth kinetics and neutralization. *J Virol* 1992;66:1875-1883.
31. Chesebro B, Wehrly K, Nishio J, and Perryman S. Macrophage-tropic human immunodeficiency virus isolates from different patients exhibit unusual V3 envelope sequence homogeneity in comparison with T cell tropic isolates: definition of critical amino acids involved in cell tropism. *J Virol* 1992;66:6547-6554.

MATERIALES Y METODOS

1. Delwart EL, Shpaer EG, McCutchan FE, Louwagie J, Grez M, Rubsamen-Waigmann H, and Mullis JI: Genetic relationships determines by a DNA Heteroduplex mobility assay: Analysis of HIV-1 env genes. *Science* 1993;262:1257-1261
2. Novitsky VA, Montano MA, and Essex M: Molecular epidemiology of an HIV-1 subtype A subcluster among injection drug users in the southern Ukraine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14:1079-1085

3. Tompson JD, Higgins DG and Gibson TJ: CLUSTAL W. Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 1994;22:4673-4680.
4. Felsenstein J: PHYLIP . phylogeny inference package, 3.572c. University of Washington:Seattle, WA, 1996.
5. Perriere G, and Gouy M: WWW-query:an on-line retrieval system for biological sequence banks. *Biochimie* 1996;78:364-369.
6. Page RDM: TREVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comp Appl Biosciences* 1996;12:357-358.
7. Siepel AC, Halpern AL, Macken C, and Korber BT: A computer program designed to screen rapidly for HIV type 1 intersubtype recombinant sequences. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1995;11:1413-1416.

RESULTADOS

1. <http://www.cenids.ssa.gob.mx/conasida>, CONASIDA. 1999. Mexico Web Site, vol. 1999.
2. CONASIDA. 1997. Programa de fortalecimiento para la Prevencion y Control del VIH/SIDA y otras enfermedades de transmision sexual.
3. Delwart EL, Shpaer EG, McCutchan FE, Louwagie J, Grez M, Rubsam-Waigmann H, and Mullins JI: Genetic relationships determined by a DNA heteroduplex mobility assay: Analysis of HIV-1 env genes. *Science* 1993;262:1257-1261.

4. Novitsky VA, Montano MA, and Essex M: Molecular epidemiology of an HIV-1 subtype A subcluster among injection drug users in the Southern Ukraine. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14:1079-1085.
5. Korber BT, Foley BT, Kuiken CL, Pillai SK, and Sodroski JG: *Numbering positions in HIV relative to HXB2CG*, p. III-102-111. In B. Korber and C. Kuiken and B. Foley and B. Hahn and F. McCutchan and J. Mellors and J. Sodroski (ed.): *Human Retroviruses and AIDS 1998. Theoretical Biology and Biophysics*, Group T-10, Los Alamos National Laboratory: Los Alamos, 1998.
6. Tompson JD, Higgins DG, and Gibson TJ: CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 1994;22:4673-4680.
7. Felsenstein J: *PHYLIP: phylogeny inference package, 3.572c*. University of Washington: Seattle, WA, 1996.
8. Perriere G, and Gouy M: WWW-query: an on-line retrieval system for biological sequence banks. *Biochimie* 1996;78:364-369.
9. Page RDM: TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comp Appl Biosciences* 1996;12:357-358.
10. Korber B, Kuiken C, Foley B, Hahn B, McCutchan F, Mellors J, and Sodroski J (ed.): *Human Retroviruses and AIDS 1998. Los Alamos: Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory*; 1998.

11. Korber BT, Foley BT, Kuiken CL, Pillai SK, and Sodroski JG: *Numbering positions in HIV relative to HXB2CG*, p. III-102-111. In B. Korber and C. Kuiken and B. Foley and B. Hahn and F. McCutchan and J. Mellors and J. Sodroski (ed.): Human Retroviruses and AIDS 1998. Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory: Los Alamos, 1998.

DISCUSION

1. <http://www.cenids.ssa.gob.mx/conasida>, CONASIDA 1999 Mexico Web Site, vol. 1999.
2. Vázquez-Valls E, Cheingsong-Popov R, Sierra-Quevedo JJ, Lister S, Lopez Márquez F, Weber J, Zuniga-Gonzalez L, Campos-Lopez P, and Esparza J. 1996. Monotypic HIV-1 subtype B in Guadalajara, Mexico (Abstract 2070). XI International AIDS Conference, Vancouver (Canada).
3. Vázquez-Valls E, Sierra-G JJ, Lopez-Marquez FC, Escoto-Delgadillo M, Lopez-Lomeli MC, and Campos-Lopez PI. 1998. No differences in Mexico between HIV-1 subtype B, sexual preferences and routes of transmission (Abstract 11180). 12th World AIDS Conference, Geneva (Switzerland).
4. Gudino JC, Martinez F, Alcantara P, and Soler C. 1996. Genotyping of Mexican HIV-1 isolates (Abstract 2071). XI International AIDS Conference, Vancouver (Canada).
5. Soto-Ramirez L, Renjifo B, Marlink R, and Essex M. 1996. Mexican HIV-1 V3 loop sequences grouped according to route of transmission (Abstract 2081). XI International AIDS Conference, Vancouver (Canada).

6. Soler Claudin C, and Gudino Rosales JC: [11 years since the discovery of the human immunodeficiency virus]. Salud pública Mex 1995;37:499-509.
7. Soler Claudin C, and Gudino Rosales JC. 1998. Subtyping of HIV-1 in Mexico by envHMA and gagPCR-FLP (Abstract 11198). 12th International AIDS Conference, Geneva (Switzerland).
8. Pieniazek D, Yang C, and Lal RB: *Phylogenetic analysis of gp41 envelope of HIV-1 groups M, N, and O*, p. III-112-117. In B. Korber and C. Kuiken and B. Foley and B. Hahn and F. McCutchan and J. Mellors and J. Sodroski (ed.): Human Retroviruses and AIDS 1998. Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory: Los Alamos, 1998.
9. Korber B, Kuiken C, Foley B, Hahn B, McCutchan F, Mellors J, and Sodroski J (ed.): Human Retroviruses and AIDS 1998. Los Alamos: Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory; 1998.
10. Renjifo B, Blackard J, Klaskala W, Chaplin B, Shah P, McLane MF, Barin F, Esparza J, Zelaya JE, Osmanov S, Soto R, Fernandez JA, Baum M, Essex HIV-1 subtype B in Honduras. Virus Res.60: 191-197 (1999)
11. Lara C, Sallberg M, Johansson B, Rivera I, and Sonnerborg. The Honduran Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Epidemic is Dominated by HIV-1 Subtype B as determined by V3 Domain Sero-and Genotyping. J Clin Microbiol. 35: 783-784.(1997)

- 12.Candal DH, Pau CP, Luo C-C, Granade T, Stetler H, Amador L, Meza R, Nuñez C, Schochetman G, George JR. 1997. Genetic Variability of HIV type 1 in Honduras. AIDS Res Hum Retroviruses. 13:1349-1350 (1997)
- 13.Sabino E, Diaz R, Brigido L, Learn G, Mullins J, Reingold A, Duarte A, Mayer A, and Bush M. Distribution of HIV-1 subtypes seen in AIDS clinic in Sao Paulo City, Brazil. AIDS .10:1579-1584 (1996)
- 14.Campodonico M, Janssens W, Heyndrickx L, Fransen K, Leonaers A, Fay FF, Taborda M, Van Der Groen G, and Fay O. HIV Type 1 in Argentina and Genetic Heterogeneity of the V3 Region. AIDS Res Hum Retroviruses. 12:79-81 (1996)
- 15.Warren R, Wong M, Melcher G, Blatt S, Cahn P, Perez H, Zapiola I, Bouzas MB, Muchinik G, Anderson S, and Kennedy R. Serologic Evaluation of Human Immunodeficiency Virus Type 1- Infected Individuals from Argentina and the United States Indicates a Similar Distribution of Subgroup B Isolates.J Clin Microbiol. 33:481-483.. 1995.
- 16.Korber B, Kuiken C, Foley B, Hahn B, McCutchan F, Mellors J, and Sodroski J (ed.): Human Retroviruses and AIDS 1998. Los Alamos: Theoretical Biology and Biophysics, Group T-10, Los Alamos National Laboratory; 1998.
- 17.LaRosa GJ, Davide JP, Weinhold K, Waterbury JA, Profy AT, Lewis JA, Langlois AJ, Dreesman GR, Boswell RN, Shadduck P, Holley LH, Karplus M, Bolognesi DP, Matthews TJ, Emini EA, and Putney SD: Conserved

- sequence and structural elements in the HIV-1 principal neutralizing determinant. *Science* 1990;249:932-935.
18. Freed EO, Myers DJ, and Risser, R: Identification of the principal neutralizing determinant of human immunodeficiency virus type 1 as a fusion domain. *J Virol* 1991;65:190-194.
19. Javaherian K, Langlois AJ, LaRosa GJ, Profy AT, Bolognesi DP, Herlihy WC, Putney SD, and Matthews TJ: Broadly neutralizing antibodies elicited by the hypervariable neutralizing determinant of HIV-1. *Science* 1990;250:590-593.
20. Leonard CK, Spellman MW, Riddle L, Harris RJ, Thomas JN, Gregory T. Assignment of intrachain disulfide bonds and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant human immunodeficiency virus envelope glycoprotein (gp120) expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1990;265:10373-10382.
21. Cheng-Mayer C, Seto D, Tateno M, and Levy J: Biological features of HIV-1 that correlate with virulence in the host. *Science* 1988;240:80-82
22. Fenyö EM, Morfeldt-Manson L, Chiodi F, Lind B, vonGegerfelt A, Albert J, Olausson E, and Asjö, B: Distinct replicative and cytopathic characteristics of human immunodeficiency virus isolates. *J Virol* 1988;62:4414-4419.
23. Sakai K, Dewhurst S, Ma X, and Volsky DJ: Differences in cytopathogenicity and host cell range among infectious molecular clones of human immunodeficiency virus type 1 simultaneously isolated from an individual. *J Virol* 1988;62:4078-4085.

- 24.Tersmette N, Lange JMA, DeGoede REY, DeWolf F, Eeftink-Schattenkerk JKM, Schellekens PTA, Coutinho RA, Huisman JG, Goudsmit J, and Miedema F: Association between biological properties of human immunodeficiency virus variants and risk for AIDS and AIDS mortality. Lancet 1989;i:983-985.
- 25.Chou MJ, Lee TH, Hatzakis A, Mandalaki T, Mc Lane MF, Essex M, Antibody responses in early human immunodeficiency virus type 1 infection in hemophiliacs. J Infect Dis 1988;157:805
- 26.Moore JP, Ho DD, Antibodies to discontinuous or conformationally sensitive epitopes on the gp120 glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1 are highly prevalent in sera of infected humans. J.Virol 1993;67:863
- 27.Lee WR, Syu W, Du B, Matsuda M, Tan S, Wolf A, Essex M and Lee T: Nonrandom distribution of gp 120 N-linked glycosylation sites important for infectivity of human immunodeficiency virus type 1. Proc. Natl Acad. Sci USA 1992;89:2213-2217.
- 28.Gruters RA, Neefjes JJ, Tersmette M, et al. Interference with HIV-induced syncytium formation and viral infectivity by inhibitors of trimming glucosidase. Nature 1987;330:74.
- 29.Elder JH, McGee JS, Alexander S, Carbohydrate side chains of Rauscher leukemia virus envelope glycoprotein are not required to elicit a neutralizing antibody response. J Virol 1986;57:340

30. Benjourad A, Gluckman J-C, Rochat H, Montagnier L, Bahraoui E, Influence of carbohydrate moieties on the immunogenicity of human immunodeficiency virus type 1 recombinant gp160. *J virol* 1992;66:2473
31. Willey RL, Smith DH, Lasky LA, Theodore TS, Earl PL, Moss B, Capon DJ, and Martin MA. In Vitro Mutagenesis Identifies a Region within the Envelope Gene of the Human Immunodeficiency Virus that is Critical for Infectivity. *J Virology* 1998;62:139-147.



