

La entrada viral como diana terapéutica. Situación actual de los inhibidores de la entrada

Fernando Arenzana-Seisdedos

Unidad de Patogenia Viral Molecular. Instituto Pasteur. París. Francia.

La entrada viral representa una etapa precoz y específica de la infección en la que distintas dianas virales y celulares son accesibles a la intervención terapéutica. En este proceso, CXCR4 y CCR5 actúan como moléculas correceptoras del VIH para su entrada en la célula huésped. El papel preponderante que desempeña el correceptor CCR5 en la transmisión y la propagación del VIH hace de esta molécula la diana de elección para el bloqueo de este mecanismo. En los últimos años se han generado distintos inhibidores específicos de los correceptores del VIH de los que sólo uno, maraviroc, ha sido aprobado para su uso clínico. Los inhibidores sintéticos desarrollados actúan como antagonistas alostéricos que inducen un estado o conformación del correceptor no permisiva para la unión de las glucoproteínas de la envuelta viral. Los antagonistas de CCR5 actúan en un amplio espectro de virus con afinidad o tropismo por este receptor (virus R5), se absorben por vía oral y tienen una potente actividad antiviral. Sin embargo, la perspectiva optimista que ofrecen estas nuevas moléculas inhibitoras hay que moderarla por la posible y esperada aparición de resistencias virales, por una parte, y la propagación de especies virales con afinidad o tropismo por el receptor CXCR4 (virus X4), por otra. Esta situación es una realidad constatada en los primeros ensayos clínicos con estos fármacos y plantean de manera aguda y urgente la necesidad de disponer de inhibidores eficaces y no tóxicos de CXCR4 para bloquear esta vía alternativa de replicación y de escape viral.

Palabras clave: VIH. Correceptores. Entrada viral. Quimioterapia antiviral.

Viral entry as therapeutic target. Current situation of entry inhibitors

Viral entry is an early stage and specific of the infection in which different viral and cellular targets are accessible to therapeutic treatment. CXCR4 and CCR5 act in this process as coreceptor molecules of HIV for its entry into the host cell. The predominant role played by the CCR5 coreceptor

in the transmission and spreading of HIV makes this molecule the target of choice for blocking this mechanism. In the last few years, different specific inhibitors of HIV coreceptors have been generated of which only one, Maraviroc, has been approved for clinical use. The synthetic inhibitors developed act as allosteric antagonists that induce a non-permissive state or configuration of the coreceptor for binding viral envelope-glycoproteins. The CCR5 antagonists act on a wide spectrum of viruses with affinity or tropism for this receptor (virus R5), are absorbed orally and have powerful antiviral activity. However, the optimistic perspective offered by these new molecules has to be moderated due to the possible and expected appearance of viral resistances, on the one hand, and the propagation of viral species with affinity or tropism for the CXCR4 receptor (virus X4). This situation is a reality verified in the first clinical trials with these drugs and they acutely and urgently show the need to have effective and non-toxic CXCR4 inhibitors available to block this alternative viral replication and escape route.

Key words: HIV. Coreceptors. Viral entry. Antiviral chemotherapy.

Introducción

El tratamiento antirretroviral de gran actividad (TAR-GA), que actúa de manera combinada en dianas virales como la transcriptasa inversa, la proteasa y más recientemente la integrasa, reduce la replicación viral a valores indetectables. Sin embargo, y aunque la instauración de estos tratamientos ha mejorado radicalmente las condiciones y expectativas de vida de los pacientes infectados por el VIH, los problemas ligados a su toxicidad, la aparición de resistencias virales y la imposibilidad de erradicar la infección hacen necesario y apremiante el desarrollo de nuevos fármacos. La etapa inicial del ciclo vital del VIH ofrece unas posibilidades de acción terapéutica teóricamente inmejorables, ya que a su especificidad y precocidad en el ciclo viral hay que añadir la localización extracelular de la diana farmacológica, lo que permite reducir los riesgos de toxicidad de los fármacos empleados en su bloqueo.

Mecanismo de entrada del VIH

La entrada del VIH es un proceso cooperativo iniciado por la unión de la glucoproteína de la envuelta viral (Env)

Correspondencia: Dr. F. Arenzana-Seisdedos
Unité de Pathogénie Virale. Instituto Pasteur.
28, rue Dr. Roux. 75724 Paris Cedex 15. Francia.
Correo electrónico: farenzan@pasteur.fr

a sus receptores celulares y que culmina con la fusión de las membranas celular y viral, que permite la liberación de la cápside viral en el citosol.

Estructura y función de las glucoproteínas Env del VIH

Las glucoproteínas Env del VIH son sintetizadas a partir de un precursor de 160 kDa que forma oligómeros y es intensamente glucosilado (gp160). En el aparato de Golgi, durante su transporte intracelular, el precursor es cortado por proteasas celulares en 2 subunidades, gp41 y gp120¹. La primera, o subunidad transmembrana, se ancla en la membrana viral mediante una región hidrófuga en la zona carboxiterminal, y su ectodominio se asocia de manera no covalente con la subunidad gp120, o de superficie, a través de las extremidades amino (Nt) y carboxiterminal (Ct) de esta última. En la superficie del virus los complejos heterodiméricos gp120/gp41 se disponen en trímeros, donde las subunidades gp120 ocupan una posición exterior con sus cuerpos en una orientación divergente que las aleja del eje central en torno del cual, y en su interior, se disponen las subunidades gp41. La subunidad gp120 se compone de 5 regiones variables (V) y 5 regiones constantes (C). Esta subunidad causa la unión inicial del VIH a CD4², que conduce seguidamente, según la afinidad de Env, a la interacción con uno de los 2 correceptores, CXCR4 o CCR5. La estructura cristalográfica de la gp120 del VIH, parcialmente resuelta formando un complejo con CD4, revela en este estado una conformación de la proteína en 2 grandes dominios (fig. 1): uno es interno y orientado hacia la subunidad gp41, mientras que el otro es externo y se encuentra ampliamente glucosilado. Ambos dominios están unidos por una estructura laminar de tipo β (*bridging sheet*)³. En el ectodominio de la subunidad gp41 se distinguen 2 estructuras helicoidales separadas, de las que la más distal (Nt) se continúa por un péptido hidrófugo causante de la fusión de la membrana viral y celular.

Interacción de Env con los correceptores de CD4

CXCR4 y CCR5 son receptores de quimiocinas^{4,5} y pertenecen a la gran familia de los receptores asociados a

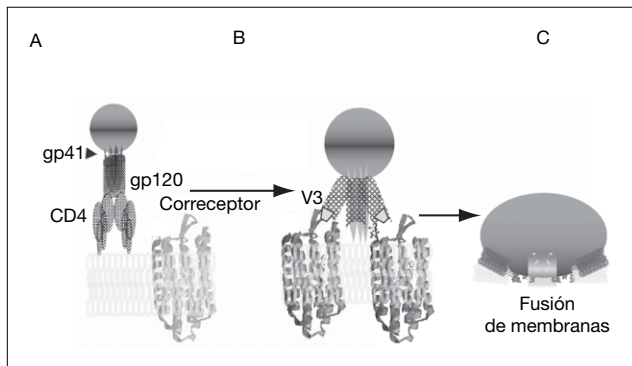


Figura 1. Esquema de la interacción entre la envuelta del VIH y los receptores virales. Tras la interacción con CD4 (A) se produce un primer cambio estructural de la gp120 que permite la interacción con los correceptores CCR5 y/o CXCR4 (B). Los péptidos hidrófugos de las subunidades gp41 se insertan en la membrana celular y se produce el repliegue de los dominios helicoidales que permiten que se aproximen la membrana celular y viral facilitando así el proceso de fusión (C).

proteínas G heterotriméricas (GPCR). Su estructura está formada por una extremidad Nt libre y 7 dominios transmembrana con estructura de hélice (TM1 a TM7) unidos entre ellos por bucles extracelulares (ECL1 a ECL3) e intracelulares, de los cuales el último se prolonga como un largo segmento intracelular (extremidad Ct)⁶ (fig. 2). Los dominios de unión de CXCR4 o CCR5 con las gp120 virales se superponen en parte con sus ligandos naturales o quimiocinas, lo que explica el poder inhibitor de estas moléculas sobre la infección por el VIH^{7,8} y el mimetismo de quimiocina de algunas Env⁹. Mediante experimentos de mutagénesis y de neutralización con anticuerpos se han cartografiado con cierta precisión, tanto para CXCR4 como para CCR5, los residuos críticos para la unión de las gp120. Concretamente, estos resultados subrayan la importancia del dominio Nt y de sus residuos Tyr sulfatados, en particular para CCR5, así como del bucle ECL2¹⁰⁻¹². Otros residuos localizados en la intersección de ECL2 y ECL3 con los dominios TM, próximos de la superficie celular, contribuyen también a la estabilidad de la unión de gp120 con los correceptores¹³. La unión a CD4 induce modificaciones profundas en la estructura de la gp120 que determinan que la región V3 y la lámina β (*bridging sheet*) se propulsen hacia el exterior del complejo trimérico. La exposición de estas estructuras permitiría la interacción con el correceptor¹⁴ (fig. 1). La región V3 de gp120 contiene los determinantes estructurales esenciales que permiten la asociación de la gp120 al correceptor y que determinan la especificidad de la unión a CCR5 o CXCR4, o tropismo de una cepa viral¹⁵. La región V3 está formada por una treintena de aminoácidos y se distinguen en ésta una base y una corona. La base posee la capacidad de unirse al dominio

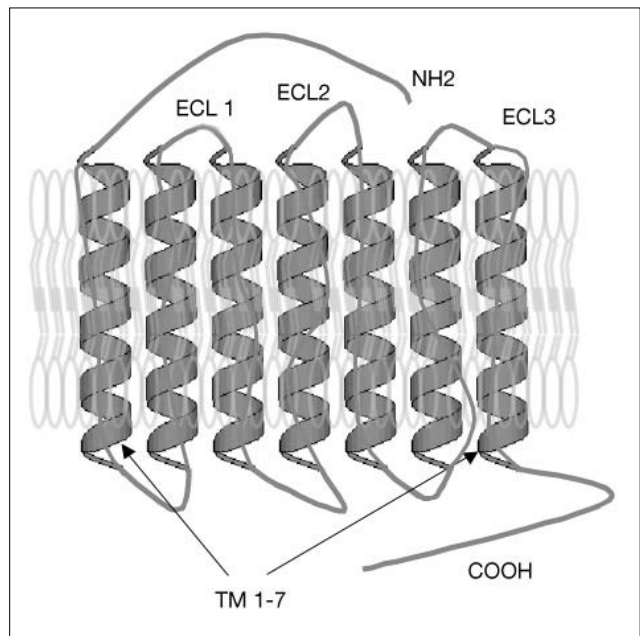


Figura 2. Esquema de los correceptores CCR5 y CXCR4. La proteína atraviesa la membrana plasmática formando sietedominios transmembrana (TM) y tres asas extracelulares (ECL). Su extremo amino-terminal (NH2) se encuentra libre en el medioextracelular mientras que el extremo carboxilo (COOH) se asocia en el citosol con proteínas G.

Nt del correceptor, mientras que la corona está implicada esencialmente en la interacción con el bucle ECL2. El hecho que diferentes Env, que divergen por sus secuencias V3, compartan la utilización de un mismo correceptor indica la existencia en la gp120 de un sitio o determinante estructural altamente conservado y esencial para esta función. A este respecto, un dominio adyacente a V3 contiene epítomos, que aparecen expuestos como consecuencia de la unión previa a CD4, son reconocidos por anticuerpos neutralizantes y están altamente conservados entre cepas virales. Esta estructura conservada entre las cepas virales de tipo X4 o R5 hace concebible que una conformación postunión a CD4 de este determinante interactúe tanto con CXCR4 como con CCR5^{3,16}. La naturaleza precisa del mecanismo por el cual esta estructura contribuye a la estabilidad de la unión entre la gp120 y el correceptor no es aún conocida. Podría tratarse de una interacción física directa con el receptor, de la creación de un nuevo sitio de unión o bien de una modificación inducida en el cambio conformacional que experimenta la región V3 tras la unión de CD4 y gp120.

El correceptor en la activación del mecanismo de fusión VIH-célula

La unión de la gp120 a CD4 determina un debilitamiento de la interacción entre las unidades gp120 y gp41 en el seno de los trímeros de Env que permite un cambio de estructura de la gp41 de una conformación nativa a una conformación de transición (estructura de pre-*hair-pin*) donde el péptido hidrófugo de su ectodominio aparece expuesto y orientado hacia la membrana celular¹⁷. La interacción gp120-CD4 contribuye a la eficacia de este mecanismo mientras que el papel específico desempeñado por el correceptor es permitir, a través de su unión a la gp120, el acercamiento entre las membranas virales y celulares, y el anclaje de los péptidos hidrófugos de las subunidades gp41 en la membrana celular. Se produce entonces en el seno del trímero de gp41 el repliegamiento de las hélices proximales y distales, formando una estructura termoestable y compacta, en horquilla (*six-helix bundle*) que conduce a la yuxtaposición de las membranas virales y celulares, y posteriormente a su fusión¹⁸ (fig. 1).

Los correceptores como determinantes del tropismo viral

Según la afinidad de la subunidad gp120 por CXCR4 o CCR5, las cepas virales se clasifican en virus de tipo X4 o R5. Un número limitado de virus muestra un tropismo doble, a la vez por CXCR4 y CCR5, y éstos reciben el nombre de R5X4 o duales. La glucosilación y en particular la carga eléctrica de V3 son determinantes importantes del tropismo viral^{19,20}. Así, la presencia de residuos básicos y una polaridad positiva en el dominio V3 favorecen la interacción con los dominios extracelulares de CXCR4 que poseen una carga neta negativa. El intercambio de regiones V3 o en algunos casos las sustituciones puntuales de ciertos aminoácidos permiten el cambio del tropismo viral. Sin embargo, conviene tener en cuenta que, a pesar de la importante contribución de V3 al tropismo viral, otros dominios de gp120 también lo condicionan y por tanto no es fiable hacer predicciones del tropismo viral en función de la secuencia nucleotídica de la región V3. En la práctica,

sólo el estudio del tropismo en un ensayo de infección o de fusión inducida por el VIH permite la caracterización del tropismo viral.

Fisiopatología de CXCR4 y CCR5

Los correceptores y sus ligandos

La expresión de CXCR4 es constitutiva en la mayoría de los tejidos y órganos del organismo. CXCR4 forma una pareja única con la quimiocina SDF-1/CXCL12 que desempeña un papel esencial y no redundante en la organogénesis (corazón, sistema vascular, gónadas, cerebro) y maduración del sistema linfóide durante el desarrollo embrionario²¹. Sorprendentemente, *CXCR4*, un gen indispensable durante la organogénesis, es el único de la familia de los quimiorreceptores del que se conoce una anomalía genética causante de una patología humana, el síndrome de WHIM, que se traduce en una inmunodeficiencia que cursa con infecciones masivas y resistentes por el virus del papiloma humano²². En la vida adulta, *CXCR4* ejerce una función reguladora del tráfico linfocitario y de las células precursoras de un gran número de linajes y es, en consecuencia, un elemento esencial de la reparación tisular. En patología, el eje de activación celular CXCL12/CXCR4 destaca por su papel en el desarrollo de tumores y la generación de metástasis por sus efectos en la viabilidad celular, la neovascularización y la quimiotaxis. En lo que concierne a la infección por el VIH, CXCL12 posee la notable capacidad de bloquear la infección de las cepas X4⁵. Su expresión particularmente abundante en los epitelios mucosos digestivos y vaginales ha conducido a postular para esta quimiocina un papel de barrera natural y constitutiva en la transmisión y la diseminación de la infección por el VIH²⁴.

CCR5 se expresa principalmente en los linfocitos T activados y de fenotipo memoria/efector e igualmente en los macrófagos, las células dendríticas inmaduras y las células microgliales del sistema nervioso central. CCR5 participa en el reclutamiento de leucocitos en diferentes enfermedades inflamatorias y en las reacciones de rechazo de órganos trasplantados²⁵. CCR5 es el paradigma de la apa-

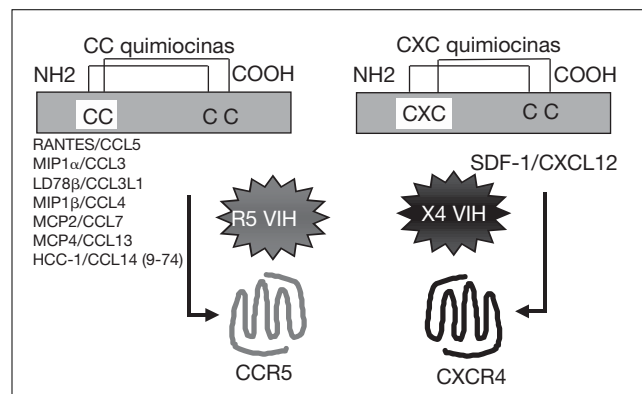


Figura 3. Correceptores del VIH y sus ligandos naturales. La clasificación de las quimiocinas en las familias CC o CXC se establece según la posición de las primeras dos cisteínas en su extremo N-terminal. Se indican quimiocinas que se unen a CCR5 y CXCR4, y que inhiben específicamente la entrada de virus R5 o X4, respectivamente.

rente promiscuidad y redundancia del sistema formado por las quimiocinas y sus receptores. Así, CCR5 se une a 9 quimiocinas identificadas (fig. 3), de las cuales una actúa como antagonista (MCP-3/CCL8) y 8 como agonistas (RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 y MIP-1 β /CCL4 y sus variantes no alélicas CCL3L1 y CCL4L1, HCC-1/CCL14 [9-74] –un producto de degradación de HCC-1/CCL14–, MCP-2/CCL7 y MCP-4/CCL13). Con la excepción de MIP-1 β /CCL4 el resto de los ligandos se une a otros quimiorreceptores²⁵. La mayoría de los ligandos, y en particular CCL3L1 y CCL4, son inhibidores potentes de la infección de las cepas VIH R5. Hay un polimorfismo de CCR5 muy marcado en su cuadro abierto de lectura que contrasta con la conservación y el carácter esencial de CXCR4. La variante genética de CCR5 mejor caracterizada es la que da origen al genotipo *CCR5 Δ 32* que comporta la delección de 32 pares de bases e impide en el plano funcional la expresión del receptor²⁶. Los sujetos homocigotos para este genotipo (*CCR5 Δ 32/ Δ 32*) se desarrollan y viven normalmente. Sin embargo, en el ratón, la delección de *CCR5* se asocia a una respuesta disminuida del animal frente a determinadas infecciones por parásitos, hongos y bacterias patógenas²⁷. En el caso del hombre, la ausencia de patología manifiesta en los sujetos *CCR5 Δ 32/ Δ 32* ha llevado a sugerir que la función deficiente de CCR5 podría ser compensada por otros receptores de la misma familia. No obstante, datos recientes prueban que el gen de CCR5 condiciona de manera crítica la respuesta del huésped, tanto en el ratón como en el hombre, a la encefalitis provocada por la infección por el virus del Nilo occidental y su mortalidad. En estos sujetos se constata una disminución de la acumulación de linfocitos efectoros T CD8+ CCR5+ en el sistema nervioso central²⁸. El mecanismo implicado sería de origen inmune y reposaría en la función demostrada de CCR5 en la migración y el desarrollo de los linfocitos T CD8+ de memoria²⁹.

Los correceptores en la patogenia del sida

La identificación y la caracterización del papel de los correceptores han clarificado nuestra comprensión de la fisiopatología de la infección por el VIH. Aunque más de una docena de quimiorreceptores pueden actuar como receptores del VIH o de su equivalente en simios (SIV), sólo CXCR4 y CCR5 participan en la transmisión y la evolución de la infección natural del VIH y son también, con algunas excepciones, los únicos que permiten la infección de células primarias³⁰. El protagonismo exclusivo de estos 2 receptores en la infección por el VIH y la patogenia del sida es reforzado por el hecho de que los individuos portadores de la mutación homocigota *CCR5 Δ 32* poseen una altísima resistencia a contraer la infección²⁶, y en los raros casos en los que estos individuos se infectan los virus que se propagan son siempre de tropismo X4²⁵. La mayoría de las cepas clínicas del VIH que se replican inicialmente en el organismo y que predominan durante los primeros años de la infección son de tropismo R5. Durante la evolución de la infección las cepas de tipo X4 emergen progresivamente, coexisten con los virus R5 en aproximadamente el 50% de los sujetos infectados y, más raramente, quedan como tipo único o predominante³¹. La propagación precoz de los virus X4 es un fenómeno poco frecuente que a menudo se acompaña de una pérdida rápida de CD4 asociada a una evolución clínica desfavorable, de la cual se ignora si

es la causa o su consecuencia³². La replicación del VIH y la depleción de CD4 se producen principalmente en el tejido linfoide asociado al tubo digestivo³³. Se postula que los virus X4 se replican principalmente en los linfocitos CXCR4+ de tipo *naive*, mientras que los virus R5 lo harían principalmente en los linfocitos de memoria, y en particular en aquellos que responden específicamente a los antígenos VIH³⁴. Es posible, sin embargo, que en estas últimas células, huéspedes privilegiados de la infección por el VIH, que expresan simultáneamente CXCR4 y CCR5, ambos tipos virales puedan replicarse. En este contexto, y teniendo en cuenta la expresión constitutiva de CXCR4, la predominancia de los virus R5 aparece como una paradoja. Se han propuesto diversas hipótesis para explicar este fenómeno sin que ninguna sea plenamente satisfactoria. Así, la hipótesis de una barrera selectiva formada por la quimiocina CXCL12 expresada en las mucosas sexuales y digestivas que bloquearía selectivamente los virus X4 choca con el hecho bien probado de que la predominancia de los virus R5 es independiente de la ruta de transmisión. La hipótesis de una supresión inmunológica selectiva de los virus X4 no se apoya en datos objetivados. Quizá la clave de este fenómeno podría residir en la interferencia de los virus R5 en la replicación de los virus X4, como sugieren las observaciones recientes recogidas de los pacientes tratados con los antagonistas de CCR5.

Inhibidores de la interacción entre la envuelta del VIH y los correceptores

Las moléculas inhibitoras de la interacción VIH-correceptor pueden reagruparse en 3 grandes categorías: los ligandos naturales y sus derivados; los anticuerpos que reconocen los dominios extracelulares de los correceptores, y los antagonistas de síntesis de bajo peso molecular.

Ligandos naturales de CCR5 o de CXCR4 y anticuerpos inhibidores

Las quimiocinas que se unen a CCR5 o CXCR4 bloquean selectivamente la infección por virus de tipo VIH R5 o X4 mediante un doble mecanismo que comprende la competición con la proteína viral Env y la internalización del correceptor³⁵. A veces, la disminución de la capacidad agonista de estas quimiocinas es compatible con el mantenimiento de una capacidad elevada de inhibición antiviral. Éste es el caso de un derivado de RANTES/CCL5 (RANTES 9-68) truncado en la extremidad Nt de sus primeros 8 aminoácidos, que genera un agonista parcial que conserva una afinidad elevada por CCR5 e induce eficazmente su endocitosis³⁶. Por modificación química de la extremidad Nt de RANTES se han obtenido los derivados AOP-RANTES y PSC-RANTES con una capacidad bloqueadora de la infección por el VIH superior a la de la molécula natural³⁷. Conviene señalar que el poder anti-VIH de estos derivados se correlaciona estrechamente con su capacidad para fosforilar el correceptor e inducir su internalización.

Varios anticuerpos que reconocen CCR5 han sido objeto de ensayos preliminares como inhibidores de la infección por el VIH. Éste es el caso del anticuerpo humanizado (IgG4) PRO140 (Progenics) que ha alcanzado la fase de ensayos clínicos Ib³⁸. Este anticuerpo bloquea la unión de Env en CCR5, es bien tolerado, es activo en un número

elevado de virus de tipo R5, y actúa en sinergia con los inhibidores de CCR5. Se dispone de otras tentativas con otros anticuerpos dirigidos contra CCR5, como la desarrollada por Genome Sciences con el anticuerpo mAb004³⁹. A pesar de las esperanzas terapéuticas que ofrecen estos ligandos de CCR5, el desarrollo de quimiocina y anticuerpos como moléculas inhibidoras de la infección por el VIH de utilidad clínica es improbable, sobre todo si se tiene en cuenta su relación coste/eficacia.

Inhibidores no peptídicos de CXCR4 o de CCR5

Antagonistas de CXCR4

AMD3100 (Bicyclam) es el primer inhibidor de CXCR4 que ha alcanzado la fase de desarrollo clínico. La unión de AMD3100 a CXCR4 depende críticamente de los residuos D171 y D262, y su mutación conlleva la pérdida de esta interacción⁴⁰. Administrado en perfusión continua, AMD3100 posee una potente actividad inhibidora sobre los virus X4, pero la toxicidad cardíaca limita su utilización. El futuro de este fármaco será probablemente su utilización como movilizador de células progenitoras CD34+ de la médula ósea, donde ha demostrado poseer eficacia sin toxicidad aparente⁴¹. Moléculas derivadas de AMD3100 (AMD070 y AMD3451) y nuevos inhibidores de estructura diferente (KRH3955 y KRH3140) con capacidad bloqueadora sobre los virus VIH X4 están en fase de desarrollo, y poseen la interesante propiedad de poder ser absorbidos por la vía oral⁴². A pesar de los esfuerzos, el desarrollo de este tipo de inhibidores ha tenido un retraso importante respecto a los inhibidores de CCR5, debido a los efectos secundarios al bloqueo de las funciones homeostáticas que dependen de CXCR4.

Antagonistas de CCR5

Los inhibidores de CCR5 recientemente desarrollados son moléculas de bajo peso molecular, que comparten analogías de estructura, farmacodinámicas y farmacocinéticas (fig. 4). El primer producto de síntesis disponible en este género de inhibidores fue TAK779 desarrollado por Takeda Chemical Industries, Ltd., que actúa como un inhibidor alostérico y posee una actividad de agonista inverso ya que provoca la disociación de CCR5 de las proteínas G efectoras heterotriméricas causantes de la transmisión de la señal inducida por la unión del ligando⁴³. La ocupación de CCR5 por TAK779 ha sido modelizada sobre la base del modelo de la rodopsina, y los datos obtenidos permiten concluir que la molécula se une a CCR5 en una cavidad formada por los TM1, 2, 3 y 7, con interacciones adicionales con TM5 y TM6, pero sin participación de los bucles extracelulares. Así, a partir de este conjunto de pruebas, se ha podido proponer un modelo de unión de CCR5 que podría ser aplicable a otros antagonistas de CCR5. La utilización terapéutica de TAK779 no ha sido posible dada su elevada toxicidad, aunque nuevos derivados de la molécula están aún en desarrollo (TAK652). Otros compuestos, como TAK220, administrable por vía oral y que presenta una estructura diferente de TAK779, también se encuentran en fase de desarrollo⁴⁴.

Tras esta molécula pionera, se han generado nuevos antagonistas sintéticos de CCR5 y han alcanzado la fase de desarrollo clínico. Por orden cronológico, se encuentran, en primer lugar, los fármacos desarrollados por la compañía Schering Plough. Un primer compuesto, SHC-C, fue utilizado como monoterapia en pacientes infectados en ensayos de fase I, pero se abandonó debido a su toxicidad cardíaca. Una molécula derivada de SHC-C, SHC-D,

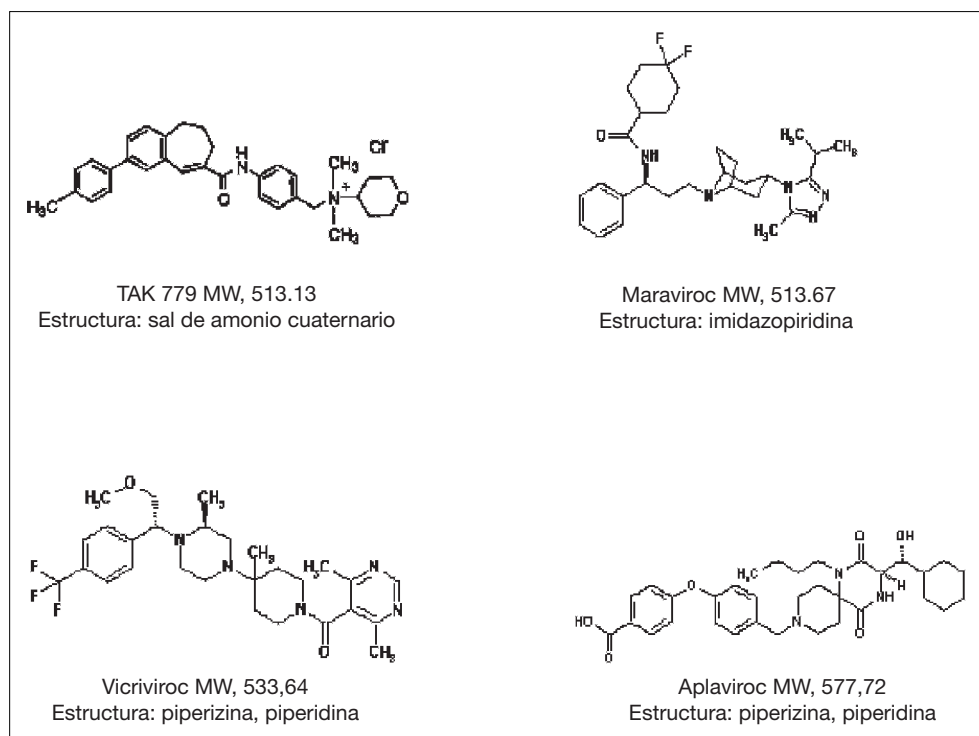


Figura 4. Estructura de los principales antagonistas de síntesis de CCR5.

SHC417690 o vicriviroc, ha alcanzado la fase de ensayo II-III. Como monoterapia administrada por vía oral durante 14 días (50 mg/2 veces al día), en sujetos infectados que habían interrumpido el TARGA el fármaco indujo una disminución de aproximadamente 1,6 log₁₀ en la carga viral y fue bien tolerada⁴⁵. Sin embargo, en ensayos de fase II la asociación de vicriviroc con lamiduvina y zidovudina no demostró superioridad frente a la combinación de lamiduvina, zidovudina y efavirenz. Además, la administración de vicriviroc se asoció a la aparición de linfomas y adenocarcinomas⁴⁶, aunque no se ha demostrado una relación causa-efecto. Una observación muy importante que se desgraja de este ensayo es que el uso de vicriviroc a dosis subóptimas se acompañó de la emergencia de virus X4 no detectados antes del inicio del tratamiento. Nuevos estudios con vicriviroc a dosis más elevadas están en marcha para elucidar su actividad y toxicidad (<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=vicriviroc>).

Aplaviroc (GW873140) es una espirodiquetopiperazina originalmente descubierta por Ono Pharmaceutical y desarrollada por Glaxo-SmithKline. Muy prometedor por su potencial inigualado como inhibidor de la infección por el VIH R5 *in vitro* y la compatibilidad de la acción antiviral con la unión de ligandos naturales, su estudio ha revelado algunos datos interesantes para el diseño futuro de este tipo de moléculas. Así se ha comprobado que, contrariamente a otros inhibidores de CCR5, aplaviroc interacciona con residuos expuestos en la superficie del bucle ECL2, lo que podría contribuir a su elevada afinidad de orden subnanomolar por CCR5⁴⁷. Por desgracia, el desarrollo de este fármaco ha sido definitivamente abandonando por su hepatotoxicidad (insuficiencia hepática aguda)⁴⁸.

Maraviroc es una molécula desarrollada por Pfizer de la que se dispone ya de un buen número de resultados clínicos y que ha sido aprobada para el tratamiento de la infección por el VIH en pacientes previamente tratados⁴⁹. La primera buena noticia que ofrece este fármaco es su excelente tolerancia. Utilizado en monoterapia en pacientes infectados con virus de tipo R5 este fármaco induce un descenso de la carga viral de 1,6 órdenes de magnitud cuando se administra a dosis de 200 mg/día por vía oral⁵⁰. En el estudio 1029, un ensayo de fase IIB, aleatorizado, asociado a tratamiento antirretroviral de fondo optimizado, en pacientes entre los que figuraban sujetos portadores de virus X4 y R5, los resultados obtenidos subrayan la buena tolerancia de maraviroc, pero muestran también que el fármaco no mejora sustancialmente el grado de inhibición de la replicación obtenido con la combinación antirretroviral sola⁵¹. Sin embargo, y sin que pueda aportarse una explicación, el tratamiento con maraviroc incrementó significativamente las cifras de linfocitos T CD4 circulantes. Se ha constatado en un porcentaje de casos (10-15%) tratados con maraviroc la aparición del virus X4 que probablemente corresponde a la expansión de poblaciones virales minoritarias no detectadas antes del inicio del tratamiento. La interrupción de la administración de maraviroc conlleva la desaparición aparente de esos virus emergentes⁵². Es interesante señalar que este fármaco se acumula hasta valores más elevados que los plasmáticos en las secreciones y los tejidos vaginales, lo que ha llevado a postular que maraviroc podría tener una aplicación preventiva en la transmisión del VIH⁵³.

Perspectivas

De los datos disponibles en la actualidad se puede concluir que los inhibidores de bajo peso molecular de CCR5 actúan a través de un mecanismo alostérico, no competitivo, lo que quiere decir que estas moléculas se unen a CCR5 en un dominio diferente del de la interacción con gp120, induciendo así en el receptor una conformación no permisiva para la unión de la glucoproteína viral. Este mecanismo de acción permite considerar el desarrollo de moléculas que inhiben la unión del VIH sin afectar las funciones fisiológicas de CCR5. La acción de estos fármacos en una amplia diversidad de cepas primarias VIH R5, la administración por vía oral y su farmacodinámica y farmacocinética favorables hacen concebir buenas esperanzas de futuro.

Para disminuir el riesgo de la aparición de resistencias virales contra los antagonistas de síntesis de CCR5 (y de CXCR4 en el futuro) sería ideal poder combinar varias funciones inhibitoras sobre una misma molécula. Por ejemplo, sería deseable que el fármaco actuase como un agonista parcial que reúna el poder de bloquear la unión de Env y de producir la internalización de los correceptores en la superficie celular. El diseño de un fármaco de estas características no es una quimera si se tiene en cuenta que la endocitosis de CCR5 es disociable de la inducción de las proteínas G heterotriméricas asociadas⁹. Los avances realizados en la modelización *in silico* en itálica los GPCR hacen que en el futuro el diseño de nuevos inhibidores de CCR5 (y de CXCR4) puedan beneficiarse de estos logros. El desafío en este campo es el de poder resolver la estructura cristalina de CCR5 y CXCR4 para conocer todos los detalles de la conformación espacial de los correceptores. Esto permitiría optimizar el diseño y el desarrollo de nuevos ligandos.

Declaración de conflicto de intereses

El autor ha declarado no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Geyer H, Holschbach C, Hunsmann G, Schneider J. Carbohydrates of human immunodeficiency virus. Structures of oligosaccharides linked to the envelope glycoprotein 120. *J Biol Chem.* 1988;263:11760-7.
- McDougal JS, Kennedy MS, Sligh JM, Cort SP, Mawle A, Nicholson JK. Binding of HTLV-III/LAV to T4+ T cells by a complex of the 110K viral protein and the T4 molecule. *Science.* 1986;231:382-5.
- Kwong PD, Wyatt R, Robinson J, Sweet RW, Sodroski J, Hendrickson WA. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature.* 1998;393:648-59.
- Samson M, Labbe O, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning and functional expression of a new human CC-chemokine receptor gene. *Biochemistry.* 1996;35:3362-7.
- Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science.* 1996;272:872-7.
- Bockaert J, Pin JP. Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success. *Embo J.* 1999;18:1723-9.
- Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science.* 1995;270:1811-5.
- Oberlin E, Amara A, Bachelier F, Bessia C, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, et al. The CXCR4 chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature.* 1996;382:833-5.
- Balabanian K, Harriague J, Decroix C, Lagane B, Shorte S, Baleux F, et al. CXCR4-tropic HIV-1 envelope glycoprotein functions as a viral chemokine in unstimulated primary CD4+ T lymphocytes. *J Immunol.* 2004;173:7150-60.

10. Farzan M, Mirzabekov T, Kolchinsky P, Wyatt R, Cayabyab M, Gerard NP, et al. Tyrosine sulfation of the amino terminus of CCR5 facilitates HIV-1 entry. *Cell*. 1999;96:667-76.
11. Farzan M, Babcock GJ, Vasilieva N, Wright PL, Kiprilov E, Mirzabekov T, et al. The role of post-translational modifications of the CXCR4 amino terminus in stromal-derived factor 1 alpha association and HIV-1 entry. *J Biol Chem*. 2002;277:29484-9.
12. Samson M, LaRosa G, Libert F, Paindavoine P, Detheux M, Vassart G, et al. The second extracellular loop of CCR5 is the major determinant of ligand specificity. *J Biol Chem*. 1997;272:24934-41.
13. Wang Z, Lee B, Murray JL, Bonneau F, Sun Y, Schweickart V, et al. CCR5 HIV-1 coreceptor activity. Role of cooperativity between residues in N-terminal extracellular and intracellular domains. *J Biol Chem*. 1999;274:28413-9.
14. Huang CC, Tang M, Zhang MY, Majeed S, Montabana E, Stanfield RL, et al. Structure of a V3-containing HIV-1 gp120 core. *Science*. 2005;310:1025-8.
15. Hwang SS, Boyle TJ, Lyerly HK, Cullen BR. Identification of the envelope V3 loop as the primary determinant of cell tropism in HIV-1. *Science*. 1991;253:71-4.
16. Rizzuto CD, Wyatt R, Hernández-Ramos N, Sun Y, Kwong PD, Hendrickson WA, Sodroski J. A conserved HIV gp120 glycoprotein structure involved in chemokine receptor binding. *Science*. 1998;280:1949-53.
17. Chan DC, Fass D, Berger JM, Kim PS. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell*. 1997;89:263-73.
18. Eckert DM, Kim PS. Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition. *Annu Rev Biochem*. 2001;70:777-810.
19. Hoffman TL, Doms RW. HIV-1 envelope determinants for cell tropism and chemokine receptor use. *Mol Membr Biol*. 1999;16:57-65.
20. Pollakis G, Kang S, Kliphuis A, Chalaby ML, Goudsmit J, Paxton WA. N-linked glycosylation of the HIV type-1 gp120 envelope glycoprotein as a major determinant of CCR5 and CXCR4 coreceptor utilization. *J Biol Chem*. 2001;276:13433-41.
21. Lataillade JJ, Domenech J, Le Bousse-Kerdiles MC. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)\CXCR4 couple plays multiple roles on haematopoietic progenitors at the border between the old cytokine and new chemokine worlds: survival, cell cycling and trafficking. *Eur Cytokine Netw*. 2004;15:177-88.
22. Balabanian K, Lagane B, Pablos JL, Laurent L, Planchenault T, Verola O, et al. WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitization to CXCL12. *Blood*. 2005;105:2449-57.
23. Zlotnik A. Chemokines and cancer. *Int J Cancer*. 2006;119:2026-9.
24. Agace WW, Amara A, Roberts AI, Pablos JL, Thelen S, Ugucioni M, et al. Constitutive expression of stromal derived factor-1 by mucosal epithelia and its role in HIV transmission and propagation. *Curr Biol*. 2000;10:325-8.
25. Arenzana-Seisdedos F, Parmentier M. Genetics of resistance to HIV infection: Role of co-receptors and co-receptor ligands. *Semin Immunol*. 2006;18:387-403.
26. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature*. 1996;382:722-5.
27. Zhou Y, Kurihara T, Ryseck RP, Yang Y, Ryan C, Loy J, et al. Impaired macrophage function and enhanced T cell-dependent immune response in mice lacking CCR5, the mouse homologue of the major HIV-1 coreceptor. *J Immunol*. 1998;160:4018-25.
28. Glass WG, McDermott DH, Lim JK, Lekhong S, Yu SF, Frank WA, et al. CCR5 deficiency increases risk of symptomatic West Nile virus infection. *J Exp Med*. 2006;203:35-40.
29. Castellino F, Huang AY, Altan-Bonnet G, Stoll S, Scheinecker C, Germain RN. Chemokines enhance immunity by guiding naive CD8+ T cells to sites of CD4+ T cell-dendritic cell interaction. *Nature*. 2006;440:890-5.
30. Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:657-700.
31. Moore JP, Kitchen SG, Pugach P, Zack JA. The CCR5 and CXCR4 coreceptors—central to understanding the transmission and pathogenesis of human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004;20:111-26.
32. Richman DD, Bozzette SA. The impact of the syncytium-inducing phenotype of human immunodeficiency virus on disease progression. *J Infect Dis*. 1994;169:968-74.
33. Guadalupe M, Reay E, Sankaran S, Prindiville T, Flamm J, McNeil A, et al. Severe CD4+ T-cell depletion in gut lymphoid tissue during primary human immunodeficiency virus type 1 infection and substantial delay in restoration following highly active antiretroviral therapy. *J Virol*. 2003;77:11708-17.
34. Grivel JC, Penn ML, Eckstein DA, Schramm B, Speck RF, Abbey NW, et al. Human immunodeficiency virus type 1 coreceptor preferences determine target T-cell depletion and cellular tropism in human lymphoid tissue. *J Virol*. 2000;74:5347-51.
35. Amara A, Gall SL, Schwartz O, Salamero J, Montes M, Loetscher P, et al. HIV coreceptor downregulation as antiviral principle: SDF-1alpha-dependent internalization of the chemokine receptor CXCR4 contributes to inhibition of HIV replication. *J Exp Med*. 1997;186:139-46.
36. Arenzana-Seisdedos F, Virelizier JL, Rousset D, Clark-Lewis I, Loetscher P, Moser B, et al. HIV blocked by chemokine antagonist. *Nature*. 1996;383:400.
37. Hartley O, Gaertner H, Wilken J, Thompson D, Fish R, Ramos A, et al. Medicinal chemistry applied to a synthetic protein: development of highly potent HIV entry inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:16460-5.
38. Olson W, Doshan H, Zhan C, Mezzatesta J, Assumma A, Czarnecky R, et al. Prolonged coating of CCR5 lymphocytes by PRO 140, a humanized CCR5 monoclonal antibody for HIV-1 therapy. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2006. Denver.
39. Giguel F, Beebe L, Migone TS, Kuritzkes D. The anti-CCR5 mAb004 inhibits HIV-1 replication synergistically in combination with other antiretroviral agents but does not select for resistance during in vitro passage. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2006. Denver.
40. Hatse S, Princen K, Gerlach LO, Bridger G, Henson G, De Clercq E, et al. Mutation of Asp(171) and Asp(262) of the chemokine receptor CXCR4 impairs its coreceptor function for human immunodeficiency virus-1 entry and abrogates the antagonistic activity of AMD3100. *Mol Pharmacol*. 2001;60:164-73.
41. Liles WC, Broxmeyer HE, Rodger E, Wood B, Hubel K, Cooper S, et al. Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood*. 2003;102:2728-30.
42. Tanaka KO, Tanaka R, Kumakura S, Shimoyamada A, Hirose K, Yanaka M, et al. Development of novel orally bioavailable CXCR4 antagonists, KRH-3955 and KRH-3140: binding specificity, pharmacokinetics and anti-HIV-1 activity in vivo and in vitro. 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2006. Denver.
43. Baba M, Nishimura O, Kanzaki N, Okamoto M, Sawada H, Iizawa Y, et al. A small-molecule, nonpeptide CCR5 antagonist with highly potent and selective anti-HIV-1 activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:5698-703.
44. Baba M, Miyake H, Wang X, Okamoto M, Takashima K. Isolation and characterization of human immunodeficiency virus type 1 resistant to the small-molecule CCR5 antagonist TAK-652. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:707-15.
45. Strizki JM, Tremblay C, Xu S, Wojcik L, Wagner N, Gonsiorek W, et al. Discovery and characterization of vicriviroc (SCH 417690), a CCR5 antagonist with potent activity against human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:4911-9.
46. Gulick SZ, Flexner C, Hughes M, Skolnik P, Godfrey C, Greaves W, et al. ACTG 5211: phase II study of the safety and efficacy of vicriviroc in HIV-infected treatment-experienced subjects. Sixteenth International AIDS Conference; 2006. Toronto.
47. Maeda K, Nakata H, Koh Y, Miyakawa T, Ogata H, Takaoka Y, et al. Spiroketopiperazine-based CCR5 inhibitor which preserves CC-chemokine/CCR5 interactions and exerts potent activity against R5 human immunodeficiency virus type 1 in vitro. *J Virol*. 2004;78:8654-62.
48. Crabb C. GlaxoSmithKline ends aplaviroc trials. *AIDS*. 2006;20:641.
49. Dorr P, Westby M, Dobbs S, Griffin P, Irvine B, Macartney M, et al. Maraviroc (UK-427,857), a potent, orally bioavailable, and selective small-molecule inhibitor of chemokine receptor CCR5 with broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:4721-32.
50. Fätkenheuer G, Pozniak AL, Johnson MA, Plettenberg A, Staszewski S, Hoepelman AI, et al. Efficacy of short-term monotherapy with maraviroc, a new CCR5 antagonist, in patients infected with HIV-1. *Nat Med*. 2005;11:1170-2.
51. Mayer H, Van der Ryst E, Saag M, Clotet B, Fätkenheuer G, Clumeck N, et al. Safety and efficacy of maraviroc, a novel CCR5 antagonist, when used in combination with optimized background therapy for the treatment of antiretroviral-experienced subjects infected with dual/mixed-tropic HIV-1: 24-week results of a phase 2b exploratory trial. Sixteenth International AIDS Conference; 2006. Toronto.
52. Westby M, Smith-Burchnell C, Mori J, Lewis M, Mosley M, Stockdale M, et al. Reduced maximal inhibition in phenotypic susceptibility assays indicates that viral strains resistant to the CCR5 antagonist maraviroc utilize inhibitor-bound receptor for entry. *J Virol*. 2007;81:2359-71.
53. Dumond J, Patterson K, Pecha A, Werner R, Andrews E, Damle B, et al. Maraviroc (MVC) pharmacokinetics (PK) in blood plasma (BP), genital tract (GT) fluid and tissue in healthy female volunteers. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2008. Boston [abstract 135 LB].