

Conclusiones y perspectivas

José Alcamí

Unidad de Inmunopatología del Sida. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

Se discuten los aspectos más destacados de maraviroc expuestos en esta monografía, las perspectivas de desarrollo y aplicación de este fármaco, así como las principales preguntas planteadas en su utilización. Maraviroc es el primer antagonista de CCR5 aprobado para el tratamiento de la infección por el VIH. Su estructura imidazopiridina interactúa con CCR5 e induce una conformación del correceptor que impide la unión de las glucoproteínas de la envuelta viral. Tiene una potente actividad antiviral y actúa sobre un amplio espectro de virus con afinidad por este receptor. Esta circunstancia obliga a realizar un test de tropismo previo al tratamiento para definir si el paciente es portador de variantes R5. Maraviroc está indicado en pacientes infectados por el VIH que han recibido tratamiento antirretroviral previo. Presenta una baja toxicidad y, según los datos preliminares, una alta barrera genética. El mecanismo de resistencia se relaciona con cambios en la región V3 que permiten al virus reconocer el correceptor CCR5 unido a la molécula de maraviroc. La causa principal de fallo terapéutico es la selección de cepas X4 preexistentes no detectadas por la prueba de referencia. Maraviroc puede asociarse con cualquier antirretroviral comercializado o en desarrollo clínico avanzado. Las indicaciones de maraviroc en fases tempranas de la infección no es recomendada en el momento actual y dependerá de la demostración de no inferioridad respecto a otros tratamientos o de un beneficio en otros aspectos patogénicos como la recuperación de linfocitos CD4 o la reducción de los reservorios virales.

Palabras clave: CCR5. Agonista inverso. Resistencia. Tropismo viral.

Conclusions and perspectives

This monograph discusses most important aspects Maraviroc, the development and application perspectives of this drug, as well as main questions raised in its use. Maraviroc is the first CCR5 antagonist approved for treating HIV infection. Its imidazopyridine structure interacts with CCR5 and induces a co-receptor

conformation that prevents glycoproteins binding to the viral envelope. It has powerful antiviral activity and acts on a wide spectrum of viruses with affinity for this receptor. This situation means that a tropism test has to be done before treatment to define whether the patient is a carrier of R5 variants. Maraviroc is indicated in HIV infected patients who have received previous antiretroviral treatment. It has a low toxicity and, according to preliminary data, a high genetic barrier. The resistance mechanism is associated with changes in the V3 region which allow the virus to recognise the CCR5 co-receptor bound to the Maraviroc molecule. The main cause of treatment failure is the selection of pre-existing X4 strains not detected by the reference test. Maraviroc can be combined with any other antiretroviral on the market or in clinically advanced development. The indication of Maraviroc in the early phases of the infection is not currently recommended and will depend whether it is shown to be inferior when compared other treatments or a benefit in other pathogenic aspects, such as recovery of CD4 lymphocytes or a reduction in viral reservoirs.

Key words: CCR5. Inverse agonist. Resistance. Viral tropism.

Mecanismo de acción de maraviroc

El bloqueo de la entrada viral representa una diana preferente de intervención terapéutica. Se trata de un proceso complejo en el que se encuentran directamente implicadas las proteínas gp120 y gp41 del VIH y los receptores celulares CD4, CCR5 y CXCR4¹. Dentro de este complejo molecular, CCR5 representa una diana de elección ya que es el principal correceptor viral implicado en la transmisión y propagación del VIH en las fases temprana y crónica de la infección².

Maraviroc es una imidazopiridina de pequeño tamaño, que se une de forma altamente selectiva y reversible al receptor de quimiocinas CCR5 y es, por tanto, un inhibidor de las variantes que utilizan este receptor para su entrada en la célula. Maraviroc presenta una alta actividad intrínseca o potencia antiviral in vitro que se sitúa en el rango nanomolar bajo (< 10 nmol para la CI_{90})³. Maraviroc, al igual que otros inhibidores de los correceptores, actúa como un antagonista alostérico no competitivo que se ancla en una cavidad del receptor CCR5 formada por los dominios transmembrana⁴. Esta unión provoca un estado o conformación del correceptor, especialmente en el dominio ECL2, no permisiva para la unión de las glucoproteínas de la envuelta viral. Debido a este cambio inducido en el re-

Correspondencia: Dr. J. Alcamí.
Unidad de Inmunopatología del Sida. Instituto de Salud Carlos III.
Sinesio Delgado, 6. 28029 Madrid. España.
Correo electrónica: ppalcamí@isciii.es

ceptor, maraviroc bloquea la interacción de CCR5 con sus ligandos fisiológicos. Desde el punto de vista del mecanismo de acción y de la fisiopatología de los correceptores, ¿qué desarrollos farmacológicos permitirían aumentar la potencia o reforzar la seguridad de este tipo de compuesto? Dado que los dominios de interacción de maraviroc y las quimiocinas que se unen a CCR5 son diferentes, podrían desarrollarse en el futuro moléculas capaces de inhibir la unión del VIH sin afectar las funciones fisiológicas de CCR5, lo que disminuiría la potencial toxicidad inmunológica o hematológica⁵ del compuesto. Otra estrategia iría dirigida a aumentar la potencia del fármaco y disminuir el riesgo de la aparición de resistencias virales. Para esto sería importante combinar varias funciones inhibitorias en una misma molécula. Por ejemplo, podría generarse un agonista parcial que reúna el poder de bloquear la unión de Env al mismo tiempo que provoca 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 heterotriméricas⁶. El desafío final en este campo es poder resolver la estructura cristalina de CCR5 y CXCR4 para conocer todos los detalles de la conformación espacial de los correceptores, lo que permitiría optimizar el diseño y el desarrollo de nuevos ligandos.

En resumen, por su mecanismo de acción maraviroc es un fármaco único y original en el tratamiento de la infección por el VIH ya que a diferencia de otros antirretrovirales actúa por un mecanismo de inhibición no competitiva. Por otra parte, es el primer fármaco antiviral dirigido frente a una diana celular, lo que representa una importante prueba de concepto de que la inhibición de proteínas del hospedador es una estrategia válida en el tratamiento de la infección por el VIH.

Indicaciones de maraviroc. Combinación con otros antirretrovirales

Los estudios MOTIVATE han demostrado la capacidad de maraviroc para actuar en virus de pacientes en fracaso terapéutico⁷. Sin embargo, el ensayo MERIT no ha podido demostrar la no inferioridad de maraviroc en comparación con un tratamiento estándar de inicio, por lo que el fármaco no está aprobado para su utilización en pacientes *naive*⁸. Los subanálisis virológicos sugieren que el fracaso en alcanzar el criterio de no inferioridad es debido a la inclusión de pacientes portadores de variantes X4 o R5X4 que no fueron detectadas por la prueba de tropismo convencional durante el cribado⁹.

Es importante recordar que maraviroc es potencialmente más útil en el tratamiento de pacientes en estadios tempranos de la infección y con menor tiempo de evolución ya que en este contexto la mayoría de los pacientes presentan virus de tropismo R5. Reservar maraviroc para estadios finales de la infección supone la pérdida de su beneficio terapéutico para los pacientes en los que se produzca el *switch* o cambio de tropismo R5 a X4¹⁰. Por este motivo, es previsible que la indicación de maraviroc se desplace en el futuro hacia el tratamiento de pacientes menos evolucionados o incluso *naive*. Esto sería posible en base a un nuevo ensayo en fase III que demuestre su no

inferioridad frente a un tratamiento estándar o a partir de la experiencia obtenida en el tratamiento de pacientes con fracaso terapéutico con combinaciones que incluyen maraviroc. Si, por ejemplo, una combinación de maraviroc con un inhibidor de la integrasa y un nuevo NNRTI o IP consigue reducir la carga viral a valores indetectables en pacientes en fracaso terapéutico de forma prolongada, esta observación soportaría la indicación de maraviroc en pacientes *naive*. La extensión de las indicaciones de maraviroc también podría justificarse en el caso de que demostrara un efecto beneficioso adicional, como podría ser una mayor recuperación inmunológica o la disminución de los reservorios virales. Se ha observado, sin que el mecanismo sea comprendido, un incremento en el número de linfocitos CD4 respecto a otras pautas terapéuticas incluso en pacientes que no presentan una respuesta virológica a maraviroc¹¹. Es posible que maraviroc altere el tráfico y recirculación de determinadas subpoblaciones linfocitarias y el incremento de linfocitos CD4 observado en sangre periférica no refleje un incremento en el número total de linfocitos CD4. Sin embargo, también es posible que maraviroc tenga per se un efecto positivo sobre la recuperación inmunitaria o evite la destrucción linfocitaria mediada por el VIH y sus productos. Se ha descrito que la interacción entre la envuelta viral y CD4 o los correceptores puede desencadenar señales de activación incompletas o aberrantes, que induzcan apoptosis celular. En este escenario, el bloqueo del receptor CCR5 podría contribuir a disminuir la destrucción inmunológica mediada por este mecanismo. Para evaluar el beneficio de maraviroc en el sistema inmunitario sería interesante realizar un ensayo controlado de intensificación con maraviroc en pacientes con lenta recuperación del número de linfocitos CD4, a pesar de controlar la carga viral en valores indetectables.

Otro efecto postulado para maraviroc es la disminución de los reservorios virales. Esta hipótesis se basa en una doble observación. En primer lugar, es conocido que a pesar de que el tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) disminuya rápidamente la carga viral plasmática, la carga proviral definida por los valores de ADN intracelular experimenta una tasa de caída muy lenta y en ocasiones inapreciable. La segunda observación viene de un estudio en que se analizó la posibilidad de inducir los reservorios virales mediante una estrategia de reactivación con ácido valproico, un inhibidor de deacetilasas que incrementa la replicación viral en presencia de TARGA. En este estudio piloto se demostró una caída en el número de células productivamente infectadas tras el tratamiento con ácido valproico¹². Sin embargo, este trabajo no ha sido corroborado, y en el reanálisis de éste se valoró el hecho de que los pacientes fueron tratados simultáneamente con el inhibidor de la fusión enfuvirtida, al que todos eran *naive*. Trabajos recientes muestran que es en realidad el tratamiento con enfuvirtida lo que disminuye el reservorio de células que albergan virus viables¹³. Esto sugiere que el bloqueo de la entrada viral puede ser una diana que disminuya el «rellenado» del compartimento linfoide por los virus producidos en el contexto de una replicación sostenida a bajo nivel, en presencia de TARGA. Es, por tanto, importante valorar el impacto de maraviroc sobre la carga proviral de los pacientes tratados con este fármaco respecto a otros tratados con TARGA. Un impac-

to del tratamiento con maraviroc sobre los reservorios virales o la reconstitución inmune apoyaría su utilización en otros escenarios clínicos.

Un tema abierto en las indicaciones de maraviroc es su combinación con otros antirretrovirales. A priori no hay ninguna incompatibilidad o antagonismo con ningún antirretroviral, por lo que maraviroc podría entrar en cualquier combinación de TARGA. Esto permite su inclusión en pautas de tratamiento de rescate con cualquier otro compañero de viaje con lo que aumenta las posibilidades de tener 2 fármacos activos en la combinación. Una pregunta que se planteará en un futuro es la posibilidad de tratar simultáneamente con dos antagonistas de CCR5. A partir de los datos que conocemos sobre el mecanismo de acción de las moléculas de pequeño tamaño y la modelización de sus interacciones con CCR5, no es previsible que 2 fármacos con estructuras similares se fijen simultáneamente al mismo receptor, debido a lo angosto de la cavidad que forman los dominios transmembrana que alojan estas moléculas. Además, los datos iniciales de resistencia a los antagonistas de CCR5 muestran que cuando se desarrolla una resistencia el virus es capaz de entrar en la célula con el fármaco unido al receptor¹⁴. Por tanto, no es previsible que la utilización simultánea de dos antagonistas de CCR5 tengan un efecto sinérgico a menos que actúen sobre dominios diferentes del receptor CCR5. Un efecto aditivo sería posible si se aumentara el porcentaje de ocupación de CCR5, pero en principio es deseable que un único antagonista presente constantes farmacocinéticas que le permitan bloquear la totalidad de los receptores.

Por último, un objetivo prioritario en el momento actual es el desarrollo de antagonistas de CXCR4, objetivo frustrado hasta el momento debido a la alta toxicidad de los prototipos utilizados. La administración simultánea de 2 fármacos con actividad frente a los dos grandes correceptores del VIH es una combinación muy deseable especialmente para pacientes con fases avanzadas de la infección y que portan virus R5 y X4 ya que permitiría bloquear la infección por ambas variantes y se beneficiarían de estas familias de compuestos.

Resistencias a antagonistas de CCR5

El gran temor cuando se inició el tratamiento con los antagonistas de CCR5 fue que el bloqueo del receptor CCR5 indujera el cambio de tropismo a X4, proceso denominado a veces como «la amenaza del *switch*»¹⁵. Afortunadamente este escenario no se ha producido por el momento. La aparición de cepas X4 en los pacientes tratados con maraviroc es debido a la emergencia de variantes X4 que ya existían antes de iniciar el tratamiento y no a una inducción de cambio de tropismo inducido por el fármaco¹⁶. En otras palabras, la vía de resistencia a los antagonistas de CCR5 que el virus puede elegir no es el cambio de receptor sino la adaptación a la nueva conformación del receptor CCR5¹⁷. Esta situación plantea 2 preguntas: ¿por qué no se produce este cambio de uso de correceptor y por qué emerge el virus X4 cuando se bloquea el virus R5? Respecto a la primera pregunta, es interesante señalar que cuando se muta artificialmente el asa V3 en la gp120 hay un número relativamente escaso de combinaciones para conseguir el cambio de tropismo. Es probable que el re-

ceptor CXCR4 sea más «rígido» que el CCR5 y por tanto presente al virus unas condiciones más «restrictivas» a su envuelta para poder interactuar con éste¹⁸. Una indicación de esta diferencia de flexibilidad entre ambos correceptores es que los polimorfismos en CCR5 son abundantes, mientras que CXCR4 es una molécula extraordinariamente conservada. Otro aspecto que sugiere esta diferencia es el hecho de que mientras 10 quimiocinas son capaces de interactuar con CCR5, sólo 2 interactúan con CXCR4. Si esta situación de rigidez estructural de CXCR4 es correcta, la vía de escape a través del cambio de tropismo sería menos probable, ya que el número de combinaciones permitidas para poder conseguirlo sería restringida y requeriría más pruebas de «ensayo-error» por parte del virus que generar cambios en la envuelta que permitan la entrada a través del receptor CCR5 modificado por el fármaco. En resumen, a una variante con tropismo R5 sometida a la presión de maraviroc le sería más fácil alcanzar la combinación de mutaciones para ser resistente manteniendo su tropismo por CCR5 que para cambiar su tropismo a CXCR4.

La pregunta de por qué emerge un virus X4 preexistente en una baja proporción cuando frenamos la replicación de las variantes R5 apunta a un mecanismo de competición entre virus R5 y X4. Las variantes R5 de los estadios inicial y crónico de la infección deben presentar una ventaja en las variantes X4, cuyo mecanismo es desconocido en el momento actual. Que esta competición se produce se ve confirmado por el hecho de que cuando ante la emergencia de un virus X4 suprimimos el tratamiento con el antagonista de CCR5, el virus R5 vuelve a predominar sobre el virus X4.

El número de auténticos virus resistentes a maraviroc es escaso a pesar del número de pacientes ya tratados con el fármaco. Esto sugiere una alta barrera genética del fármaco y de hecho las variantes resistentes generadas in vivo presentan numerosos cambios en la envuelta viral, muchos de ellos en el asa V3 pero no restringidos exclusivamente a este dominio¹⁹. Los virus resistentes a maraviroc, al igual que los observados frente a otros antagonistas no comercializados como aplaviroc y vicriviroc, mantienen el tropismo por el receptor CCR5²⁰. En otras palabras, adquieren resistencia manteniendo su tropismo. Las características de los virus resistentes a antagonistas de CCR5 difieren de los mecanismos de resistencia generados por otras familias de antirretrovirales. Esto se debe al mecanismo de acción no competitivo de los antagonistas de CCR5 y a su interacción con dominios del receptor diferentes de los que utiliza el VIH. En consecuencia, la aparición de virus resistentes, a diferencia de lo que ocurre frente a otros antirretrovirales, no implica un aumento de la afinidad de la envuelta que desplaza el fármaco del receptor. El mecanismo de resistencia conlleva, por lo contrario, un cambio de la envuelta que le permite «anclarse» a la nueva conformación de CCR5 inducida por el receptor.

¿Es previsible que exista resistencia cruzada entre antagonistas de CCR5? Dependerá de la interacción con los dominios transmembrana del receptor. Si 2 antagonistas se unen a residuos diferentes en la región transmembrana, originarán conformaciones diferentes en los dominios extracelulares del receptor y en consecuencia el virus deberá modificarse para adaptarse a la nueva modificación de CCR5. Por el contrario, 2 compuestos que interactúen con

residuos similares en CCR5 probablemente induzcan resistencias cruzadas. Los pocos datos generados en pacientes tratados sugieren que podría existir resistencia cruzada entre vicriviroc y maraviroc, aunque no existe unanimidad en este punto, mientras que virus resistentes a aplaviroc mantenían la sensibilidad a maraviroc, y viceversa¹⁴. Sin embargo, necesitaremos más experiencia en los pacientes tratados para poder concluir acerca de la existencia o no de resistencia cruzada entre distintos antagonistas de CCR5.

Por último, ¿cuál sería el test de resistencias a utilizar en el futuro? En el momento actual no disponemos de pruebas estandarizadas para evaluar la susceptibilidad a maraviroc. Ante esta situación probablemente debamos realizar test fenotípicos ante los repuntes de carga viral en pacientes tratados con maraviroc para descartar al mismo tiempo un cambio o emergencia de variantes X4. Los datos preliminares sugieren que en las pruebas fenotípicas de dosis-respuesta un porcentaje máximo de inhibición (MPI) < 95% sería indicativo de resistencia al compuesto. En cuanto a los tests genotípicos, se ha descrito que las variantes resistentes presentan mutaciones en V3 pero también en otros dominios de la gp120, lo que sugiere diferentes patrones de resistencia. Se requiere todavía mucha experiencia y una acumulación de información de datos tanto de genotipo como de fenotipo para poder definir en el futuro las mutaciones canónicas de resistencia y generar algoritmos de genotipificación.

Toxicidad

Al igual que el *switch* era el gran temor del tratamiento con antagonistas de CCR5 cuando se planteaba la resistencia a éstos, había 2 amenazas a priori cuando se analizaba la potencial toxicidad de maraviroc: que muchas moléculas similares hubieran presentado toxicidades intolerables en fases clínicas avanzadas y la incertidumbre que suponía bloquear un receptor fisiológico. Respecto al primer riesgo, afortunadamente la toxicidad no es una toxicidad de grupo sino de fármaco. Por ejemplo, no todos los antagonistas de CCR5 por el hecho de bloquear el coreceptor son hepatotóxicos, éste fue un efecto propio de aplaviroc²¹. De hecho, maraviroc presenta un perfil de seguridad excelente que como todo fármaco novedoso deberá ser seguido mediante los sistemas de farmacovigilancia.

El segundo temor venía del hecho de que se bloqueara un receptor natural implicado en procesos muy importantes como la migración linfocitaria y el reclutamiento celular a los sitios de inflamación. Frente a esta amenaza se oponía el hecho de que sujetos que presentan una variante genética que impide la expresión de CCR5 no presentaban aparentemente ningún déficit inmunológico o enfermedad asociada²². Sin embargo, este punto debe matizarse, y el seguimiento de los pacientes tratados con maraviroc a largo plazo es importante para descartar efectos secundarios raros o ligados a situaciones especiales. Es completamente cierto que el déficit de CCR5 no supone ninguna inmunodeficiencia grave, debido esencialmente a la redundancia y promiscuidad en el sistema de receptores y sus quimiocinas. Sin embargo, no se puede descartar que frente a determinadas situaciones de estrés o agresión inmunológica CCR5 desempeñe un papel importante²³. Un

dato llamativo en los estudios genéticos es que el polimorfismo $\Delta 32$ en CCR5 es prácticamente inexistente en África, lo que podía explicarse por una presión selectiva del ambiente que haría a estos sujetos menos aptos para la supervivencia. Esta hipótesis se ha visto parcialmente confirmada en la emergencia de casos de la fiebre del valle del Nilo en un entorno no habitual como Estados Unidos. Esta epidemia emergente tuvo una gran agresividad y cuando se analizaron los casos más graves, todos ellos presentaban el rasgo o el fenotipo $\Delta 32$ en el receptor CCR5²⁴. Por tanto, es posible que ante determinadas situaciones de desafío del sistema inmunitaria, el bloqueo del receptor CCR5 por antagonistas farmacológicos conlleve un cierto déficit en la respuesta inmunitaria.

En este contexto, sería deseable desarrollar antagonistas de CCR5 que a la vez que impiden la unión del VIH permitan la unión de algunos ligandos naturales del receptor, lo que permitiría tener receptores funcionales a pesar de estar unidos a antagonistas. Esta perspectiva es viable ya que en el caso de aplaviroc se ha descrito que el receptor modificado era capaz de unirse a RANTES y transducir señales a través de CCR5, lo que muestra la posibilidad de desarrollar en el futuro moléculas que inhiban la unión del VIH sin afectar las funciones fisiológicas de CCR5^{5,25}.

Problemas planteados en la definición del tropismo viral

La ficha técnica de maraviroc requiere que como paso previo a la indicación del fármaco se realice un test que permita definir con seguridad que el paciente se encuentra infectado por un virus R5²⁶. En el momento actual el único test que se oferta en la práctica es TrofileTM desarrollado por la compañía Monogram Biosciences²⁷, aunque se están realizando progresos importantes tanto en tests alternativos como en la definición del tropismo viral por métodos genotípicos²⁸.

Los test genotípicos presentan 2 problemas esenciales que limitan su eficacia^{29,30}. El primero es la dificultad en establecer una correlación genotipo-fenotipo dada la hipervariabilidad de la envuelta del VIH y la complejidad de las interacciones entre la envuelta viral y los distintos receptores. Aunque el bucle V3 es un determinante importante del tropismo no es el único y cambios en otros dominios influyen en la utilización de los distintos correceptores^{31,32}. Los tests genotípicos propuestos son de 2 tipos. Los primeros están basados en reglas como el 11/25 o de carga neta que valoran características en V3 que se asocian con una mayor afinidad por CXCR4 o CCR5. Estas reglas no definen con la sensibilidad o especificidad adecuadas las variantes X4 que son las que tienen mayor interés clínico, de ahí su limitación. Por otra parte, hay predicciones basadas en algoritmos generados a partir de comparación entre secuencias y fenotipo real. Estos algoritmos presentan como limitación principal que se basan en un número relativamente bajo de comparación de secuencias y fenotipos que apenas supera el millar y obtenidos a partir de bases de datos no siempre correctamente depuradas para evaluar este aspecto. Es probable que en un futuro pueda establecerse un algoritmo de predicción de fenotipo a partir, pero esto requerirá incrementar notablemente las ba-

ses de datos existentes. El segundo gran problema de los tests genotípicos es que, al estar basados en la secuenciación convencional, hay un umbral de detección de poblaciones minoritarias que se encuentran por debajo del 10-20% de la población viral. Este problema no podrá solventarse aumentando el número de muestras en las bases de datos, por lo que se requieren otros abordajes que aumenten la sensibilidad en la detección de variantes minoritarias. Un abordaje recientemente propuesto denominado *ultra deep sequencing* o secuenciación masiva, es una nueva tecnología que permite analizar miles de secuencias de una muestra en una reacción³³. Esta técnica tiene, además, la propiedad de mantener la proporción existente en la población viral con lo que no amplifica de manera preferente las secuencias más abundantes. La aplicación de esta tecnología teóricamente ventajosa, ya que permite detectar variantes minoritarias, tiene dos inconvenientes. Uno es su elevado coste, y el otro, paradójicamente, su potencia casi ilimitada que permite detectar variantes presentes en proporción 1/1.000, 1/10.000 o 1/100.000 según las secuencias amplificadas. Dada la dinámica de las poblaciones de semiespecies, esto supone que en prácticamente todos los pacientes se detectarán variantes X4 si se incrementa el número de secuencias, lo que plantea una nueva pregunta en cuanto a la interpretación de resultados³⁴. ¿Cuál es el umbral para considerar que una población minoritaria es relevante en la respuesta al tratamiento? Hay que recordar que maraviroc va a administrarse en combinación con otros fármacos y que la resistencia a varios compuestos de manera simultánea requiere que las mutaciones se encuentren en el mismo genoma por lo que se necesita una masa crítica de variantes con resistencia natural para que el tratamiento fracase. A partir de los resultados del estudio MERIT en que la no detección de variantes por debajo del 10% repercutió en el fracaso terapéutico, es probable que sea necesario incrementar la sensibilidad de los tests fenotípicos, pero es dudoso a priori que poblaciones presentes por debajo del 1% sean relevantes en cuanto al fracaso terapéutico de una combinación que incluya maraviroc. Sin embargo, todos estos datos y especialmente la definición del umbral «tolerable» de proporción de variantes X4 en la población que no compromete la respuesta terapéutica tendrán que corroborarse en estudios que comparen los resultados obtenidos con técnicas de secuenciación masiva, tests fenotípicos y respuesta terapéutica.

En cuanto a los tests fenotípicos sus limitaciones son de dos tipos: en primer lugar, de índole práctico, ya que al ser la compañía Monogram la única en ofertarlo comercialmente, esto supone el envío de muestras a Estados Unidos con el elevado coste y demora que esto supone. La implementación de otros tests en los países europeos es una necesidad en esta situación y es previsible que se implementen nuevos tests en un futuro³⁵. El segundo inconveniente es la baja sensibilidad del test actual. Recientemente se ha comunicado una versión mejorada tanto del test Trofile^{36,37} como de otros abordajes³⁵ que aumentan la sensibilidad y permiten detectar entre el 0,3 y el 1% de las variantes minoritarias en la población del paciente. Por último, uno de los desafíos existentes es la determinación del tropismo viral en pacientes con cargas virales bajas (< 1.000 copias ARN/ml) o indetectables con el fin de realizar un cambio de medicación en pacientes que pre-

senten toxicidad a ésta. Para esto deberán optimizarse técnicas fenotípicas y genotípicas que analicen el tropismo a partir del ADN proviral del paciente.

En resumen, en el momento actual los tests fenotípicos son necesarios para definir con seguridad el tropismo viral, especialmente en una proporción de pacientes con resultados dispares en la predicción del tropismo a partir del genotipo entre los distintos algoritmos. Es importante definir los umbrales de variantes X4 que condicionan la respuesta clínica a maraviroc con las combinaciones actuales. Una vez definido este *cut-off* clínico será posible interpretar de una manera más precisa tanto los tests genotípicos como fenotípicos que presenten una buena sensibilidad para detectar variantes X4 y que probablemente deban alcanzar el 1% de las poblaciones minoritarias.

Consideraciones finales

El estudio de la entrada viral representa una de las áreas más complejas y laboriosas en la historia de la investigación sobre el VIH. Hay que recordar que, mientras que sólo unos meses después del primer aislamiento del VIH en 1983 se identifica CD4 como receptor viral, se requiere una década de trabajo para identificar los correceptores del VIH y sus ligandos. Sin embargo, pocos hallazgos como éste nos han ayudado a comprender aspectos tan diferentes e importantes de la patogenia viral: la estructura de la envuelta del VIH y su dinámica durante el proceso de fusión, la identificación de polimorfismos que protegen frente a la infección o progresión de la enfermedad, el papel central que como antivirales naturales representan las quimiocinas y, por último, la generación de nuevos fármacos dirigidos frente a los complejos moleculares implicados en la entrada viral. La generación de antagonistas de CCR5 representa, por tanto, un paradigma de cómo los conocimientos generados por la investigación básica se traducen en el desarrollo de estrategias terapéuticas y fármacos. Sin embargo, este proceso ha sido especialmente laborioso. Así como tras la primera cristalización del complejo virus-receptor realizado en 1998 se generan rápidamente fármacos inhibidores de la fusión, el desarrollo de antagonistas de los correceptores requiere de nuevo casi una década y se encuentra jalonado de fracasos importantes debido a la toxicidad de otros antagonistas de CCR5 y muy especialmente de los inhibidores de CXCR4.

Como se ha señalado a lo largo de esta monografía, el desarrollo de maraviroc, además de su utilidad como fármaco, representa la primera prueba de concepto de cómo el bloqueo de una diana celular representa una estrategia de tratamiento antiviral. La identificación de más de 300 dianas celulares indispensables para que el VIH realice su ciclo biológico representa un hallazgo de enorme trascendencia ya que abre un abanico impresionante en el diseño de nuevos fármacos dirigidos frente a dianas del hospedador³⁸. En la historia de este desafío y de esta estrategia, maraviroc ha sido una molécula pionera y la primera en alcanzar con éxito su objetivo.

Declaración de conflicto de intereses

El autor ha declarado no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Maeda K, Das D, Ogata-Aoki H, Nakata H, Miyakawa T, Tojo Y, et al. Structural and molecular interactions of CCR5 inhibitors with CCR5. *J Biol Chem.* 2006;281:12688-98.
5. 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.
6. Lagane B, Ballet S, Planchenault I, Balabanian K, Le Poul E, Blanpain C, et al. Mutation of the DRY motif reveals different structural requirements for the CC chemokine receptor 5-mediated signaling and receptor endocytosis. *Mol Pharmacol.* 2005;67:1966-76.
7. Hardy D, Reynes J, Konourina I, Wheeler D, Moreno S, Van der Ryst E, et al. Efficacy and safety of maraviroc plus optimized background therapy in treatment-experienced patients infected with CCR5-tropic HIV-1: 48-week combined analysis of the MOTIVATE studies. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008 [abstract 792].
8. Saag M, Iye P, Heera J, Tawadrous M, DeJesus E, Clumeck N, et al. A multicenter, randomized, double-blind, comparative trial of a novel CCR5 antagonist, maraviroc versus efavirenz, both in combination with combivir (zidovudine [ZDV]/lamivudine [3TC]), for the treatment of antiretroviral naive subjects infected with R5 HIV-1: week 48 results of the MERIT study. 4th IAS. Sydney, 2007 [abstract WESS104].
9. Heera J, Saag M, Iye P, Whitcomb J, Lewis M, McFadyen L, et al. Virological correlates associated with treatment failure at week 48 in the phase 3 study of maraviroc in treatment-naive patients. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008 [abstract 40LB].
10. Brumme ZL, Goodrich J, Mayer HB, Brumme CJ, Henrick BM, Wynhoven B, et al. Molecular and clinical epidemiology of CXCR4-using HIV-1 in a large population of antiretroviral-naive individuals. *J Infect Dis.* 2005;192:466-74.
11. 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. Toronto, 2006.
12. Lehrman G, Hogue IB, Palmer S, Jennings C, Spina CA, Wiegand A, et al. Depletion of latent HIV-1 infection in vivo: a proof-of-concept study. *Lancet.* 2005;366:549-55.
13. Archin NM, Eron JJ, Palmer S, Hartmann-Duff A, Martinson JA, Wiegand A, et al. Valproic acid without intensified antiviral therapy has limited impact on persistent HIV infection of resting CD4+ T cells. *AIDS.* 2008;22:1131-5.
14. 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.
15. Waters L, Mandalia S, Randall P, Wildfire A, Gazzard B, Moyle G. The impact of HIV tropism on decreases in CD4 cell count, clinical progression, and subsequent response to a first antiretroviral therapy regimen. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1617-23.
16. Westby M, Lewis M, Whitcomb J, Youle M, Pozniak AL, James IT, et al. Emergence of CXCR4-using human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) variants in a minority of HIV-1-infected patients following treatment with the CCR5 antagonist maraviroc is from a pretreatment CXCR4-using virus reservoir. *J Virol.* 2006;80:4909-20.
17. Trkola A, Kuhmann SE, Strizki JM, Maxwell E, Ketas T, Morgan T, et al. HIV-1 escape from a small molecule, CCR5-specific entry inhibitor does not involve CXCR4 use. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:395-400.
18. Pastore C, Ramos A, Mosier DE. Intrinsic obstacles to human immunodeficiency virus type 1 coreceptor switching. *J Virol.* 2004;78:7565-74.
19. Lewis M, Mori J, Simpson P, Whitcomb J, Li X, Roberston D, et al. Changes in V3 loop sequence associated with failure of maraviroc treatment in patients enrolled in the MOTIVATE 1 and 2 trials. 15th CROI. Boston; February 3-6, 2008.
20. Mori J, Lewis M, Simpson P. Characterization of maraviroc resistance in patients failing treatment with CCR5-tropic virus in MOTIVATE 1 and MOTIVATE 2 (24 week analysis). 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest; March 26-28, 2008.
21. Crabb C. GlaxoSmithKline ends aplaviroc trials. *AIDS.* 2006;20:641.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Maeda K, Das D, Ogata-Aoki H, Nakata H, Miyakawa T, Tojo Y, et al. Structural and molecular interactions of CCR5 inhibitors with CCR5. *J Biol Chem.* 2006;281:12688-98.
26. Celsentri®. Ficha Técnica.
27. Whitcomb JM, Huang W, Fransen S, Limoli K, Toma J, Wrin T, et al. Development and characterization of a novel single-cycle recombinant-virus assay to determine human immunodeficiency virus type 1 coreceptor tropism. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:566-75.
28. Jensen MA, Wout AB. Predicting HIV-1 coreceptor usage with sequence analysis. *AIDS Rev.* 2003;5:104-12.
29. Low AJ, Dong W, Chan D, Sing T, Swanstrom R, Jensen M, et al. Current V3 genotyping algorithms are inadequate for predicting X4 co-receptor usage in clinical isolates. *AIDS.* 2007;21:F17-24.
30. Skrabal K, Low AJ, Dong W, Sing T, Cheung PK, Mammano F, et al. Determining human immunodeficiency virus coreceptor use in a clinical setting: degree of correlation between two phenotypic assays and a bioinformatic model. *J Clin Microbiol.* 2007;45:279-84.
31. Willey RL, Theodore TS, Martin MA. Amino acid substitutions in the human immunodeficiency virus type 1 gp120 v3 loop that change viral tropism also alter physical and functional properties of the virion envelope. *J Virol.* 1994;68:4409-19.
32. Huang W, Toma J, Fransen S, Stawiski E, Reeves JD, Whitcomb JM, et al. Coreceptor tropism can be influenced by amino acid substitutions in the gp41 transmembrane subunit of human immunodeficiency virus type 1 envelope protein. *J Virol.* 2008; Online publication. PMID: 18353956.
33. Margulies M, Egholm M, Altman WE, Attiya S, Bader JS, Bemben LA, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature.* 2005;437:376-80.
34. Daumer MP, Kaiser R, Klein R, Lengauer T, Thiele B, Thielen A. Inferring viral tropism from genotype with massive parallel sequencing: qualitative and quantitative analysis. 17th Workshop on HIV Resistance. Sitges, 2008 [abstract 91].
35. González N, Pérez-Olmeda M, García-Pérez J, Mateos E, Cascajero A, Álvarez A, et al. Evaluation of HIV-1 tropism using a new and sensitive system based on recombinant viruses. 17th Workshop on HIV Resistance. Sitges, 2008 [abstract 109].
36. Trinh I, Han D, Huang W, Wrin T, Larson J, Kiss E, et al. Technical validation of an enhanced sensitivity Trofile HIV coreceptor tropism assay for selecting patients for therapy with entry inhibitors targeting CCR5. 17th International HIV Drug Resistance Workshop. Sitges, 2008 [abstract 118].
37. Su Z, Reeves JD, Krambrink A, Coakley E, Hughes M, Flexner C, et al. Response to vicriviroc in HIV-infected treatment-experienced individuals using an enhanced version of the Trofile HIV co-receptor tropism assays [Trofile (ES)]: reanalysis of ACTG 5211 results. 17th International HIV Drug Resistance Workshop. Sitges, 2008 [abstract 88].
38. Brass AL, Dykxhoorn DM, Benita Y, Yan N, Engelman A, Xavier RJ, et al. Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. *Science.* 2008;319:921-6.