

# Ciclo replicativo del VIH. Dianas terapéuticas consolidadas y dianas potenciales

José Alcamí

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

La investigación realizada sobre la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un paradigma de cómo el conocimiento obtenido mediante la investigación básica se traslada al tratamiento de los pacientes. Gracias al estudio del ciclo viral y de la caracterización estructural y funcional de las proteínas del VIH disponemos en el momento actual de más de 20 fármacos para el tratamiento de los pacientes infectados. En este artículo se realiza una revisión del ciclo biológico del VIH y se destacan los pasos que representan dianas preferentes para la intervención farmacológica. En la segunda parte del trabajo se resumen las características de las principales familias que forman el esqueleto del tratamiento antirretroviral clásico y se revisan los fármacos recientemente introducidos que van dirigidos frente a nuevas dianas. Por último se realiza una aproximación a los nuevos prototipos que se encuentran en fase de desarrollo preclínico y que engrosarán en el futuro el arsenal terapéutico contra la infección por el VIH.

**Palabras clave:** Antirretrovirales. Factores celulares. Proteínas virales. Entrada. Replicación.

The HIV replication cycle. Established therapeutic targets and potential targets

Research carried out on human immunodeficiency virus (HIV) infection illustrates the speed in the transfer of knowledge obtained from basic research to the treatment of patients. Due to studying the viral life cycle and structure and function of HIV proteins, there are currently more than 20 drugs available to treat infected patients. In this article a review is carried out on the biological cycle of HIV, highlighting those steps that represent preferential targets for pharmacological intervention. In the second part of the article, the characteristics of the main antiretroviral families that form the basis of classic antiretroviral treatment are summarised as well as reviewing the recently introduced drugs which are directed at new targets. Finally, an assessment is made of

the new prototypes that are in the pre-clinical development phase and which will strengthen the future therapeutic arsenal against HIV infection.

**Key words:** Antiretrovirals. Cell factors. Viral proteins. Entrance. Replication.

## Estructura del VIH y del genoma viral

Los viriones del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) son partículas esféricas de un tamaño de 100 nm de diámetro. Su estructura está compuesta de una envoltura lipídica y una nucleocápside central denominada *core* de estructura cónica truncada. En su interior se localiza el material genético y las enzimas necesarias para el ciclo viral que no se encuentran en las células: complejo transcriptasa inversa, integrasa y proteasa<sup>1</sup>.

Como todos los retrovirus, el genoma del VIH está constituido por una doble hebra idéntica de ARN de polaridad positiva. Su genoma tiene una longitud de 9.800 pares de bases y está formado por 3 genes estructurales y 6 genes reguladores<sup>2</sup>. Además, en su forma de provirus el genoma viral se encuentra flanqueado por unas secuencias repetidas (LTR) que le permiten la integración en el genoma celular y en las que se localizan los elementos reguladores de la iniciación de la transcripción viral. En la tabla 1 se resumen las funciones de las proteínas codificadas por los distintos genes virales.

## Ciclo biológico del VIH (fig. 1)

### Entrada viral

*Interacción con moléculas diferentes de los receptores en la membrana celular.* El primer fenómeno en el proceso de entrada consiste en la unión del virus a moléculas de membrana en determinados tipos celulares. Estas moléculas interactúan con la envuelta y «anclan» las partículas virales a la superficie de la célula. Algunas de estas interacciones son inespecíficas y tienen una baja afinidad por el VIH, como es el caso de estructuras de tipo glucosaminoglucano presentes en muchos tipos celulares. Otras interacciones tienen mayor importancia patológica como las de las lectinas DC-SIGN y L-SIGN que unen virus con envueltas glucosiladas, entre los que se incluyen el VIH, arbovirus, el virus de la hepatitis C<sup>3</sup> y otros microorganismos como micobacterias. Estas moléculas se expresan de forma diferencial en células dendríticas y no pueden considerarse receptores en sentido estricto ya que su interacción con el virus se produce a través de residuos de hidratos de carbono y no de estructuras conformacionales.

Correspondencia: Dr. J. Alcamí.  
Unidad de Inmunopatología del Sida.  
Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.  
Correo electrónico: ppaleami@isciii.es

TABLA 1. Genes del VIH y propiedades de las proteínas que codifican

Gen	Proteína	Función
<i>env</i>	gp160	Poliproteína precursora
	SU/gp120	Proteína de la envoltura viral Interacción con el receptor CD4 y correceptores CXCR y CCR5
	TM/gp41	Fusión de membranas
<i>gag</i>	p55	Poliproteína precursor
	CA/p24	Proteína de la nucleocápside
	MA/p17	Proteína de la matriz
	NC/p79	Proteína de la nucleocápside. Ribonucleoproteína
	p6	Ribonucleoproteína. Encapsidación viral
<i>pol</i>	Transcriptasa inversa	Retrotranscripción
	Integrasa	Actividad ARNasa H
	Proteasa	Integración
		Procesamiento postransduccional de las poliproteínas gag y gag-pol
<i>tat</i>	Tat	Elongador del ARN mensajero
		Transactivador
		Inducción de apoptosis
<i>rev</i>	Rev	Regulador del transporte y el procesamiento del ARNm
<i>nef</i>	Nef	Incremento de la retrotranscripción
		Regulación negativa de CD4 y HLA clase I
		Inducción de apoptosis en CTL
<i>vif</i>	Vif	Aumenta la infectividad viral Interacción con APOBEC3G
<i>vpr</i>	Vpr	Transactivador viral
		Transporte del complejo de preintegración al núcleo
		Parada del ciclo celular. Inducción de apoptosis
<i>vpu</i>	Vpu	Secuestro de CD4 en el retículo endoplásmico Aumenta la generación y liberación de viriones

Estas moléculas tienen como función fisiológica la fagocitosis de los gérmenes unidos a ellas y la unión a integrinas como ICAM-3 en la membrana de los linfocitos<sup>4</sup>. Mediante estos mecanismos se promueve la endocitosis de anti-

genos, su presentación posterior en moléculas de HLA de clase II y la adhesión intercelular que facilita el reconocimiento por el receptor T de las moléculas HLA de clase II ocupadas por antígenos extraños. Esta «sinapsis inmunológica» se transforma en el curso de la infección por el VIH en una auténtica «sinapsis virológica» en la que se producen los fenómenos de infección de los linfocitos CD4 que entran en contacto con las células dendríticas<sup>5</sup>. La alta afinidad en la unión del VIH a estas lectinas facilita e incrementa enormemente la infección de los linfocitos circundantes mediante varios mecanismos: la concentración de partículas en estas estructuras, la activación de los linfocitos y la propagación a partir de células dendríticas infectadas. Esta función de DC-SIGN que el virus utiliza en su provecho reviste una enorme importancia para explicar la propagación del VIH y hace de los órganos linfoides y, en particular, de las células dendríticas el gran reservorio donde la infección se establece y se transmite a los linfocitos CD4.

*Interacción con los receptores y entrada del virus en la célula.* La entrada del VIH en la célula se produce mediante la interacción con 2 tipos de receptores. Por una parte hay un receptor común a todos los subtipos del VIH, la molécula de CD4<sup>6</sup>, y por otra, se ha caracterizado una serie de correceptores del VIH que corresponden a distintos receptores de quimiocinas<sup>7,8</sup>. Las quimiocinas constituyen una familia de proteínas de bajo peso molecular que incluye al menos 70 proteínas que se clasifican en 4 subfamilias: C, CXXXC, CXC y CC<sup>9</sup>. Estas proteínas son mediadores solu-

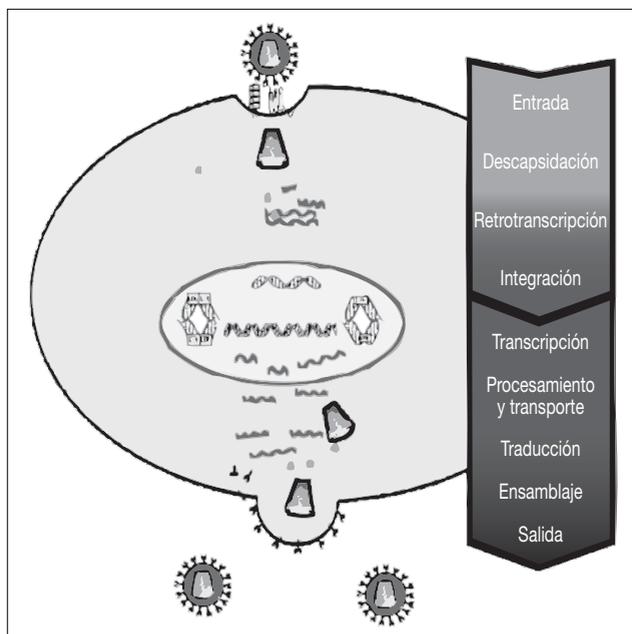


Figura 1. Ciclo del virus de la inmunodeficiencia humana.

bles que actúan en los fenómenos de respuesta inflamatoria atrayendo a los leucocitos a los focos de inflamación. Además de esta función, las quimiocinas están implicadas en otros procesos como la angiogénesis, el desarrollo embrionario, la migración y diferenciación de precursores hematopoyéticos y la formación de metástasis.

Las quimiocinas se unen a receptores de tipo 7M o 7 dominios transmembrana que se clasifican también en función del tipo de quimiocina que unen en receptores de tipo C, CXXXC, CXC o CC. Los receptores de quimiocinas se expresan en múltiples tipos celulares. Sin embargo, como esquema general, podemos considerar que el receptor CXCR4 se expresa de forma constitutiva en un gran número de poblaciones celulares, incluidos linfocitos y monocitos, mientras que los receptores de la familia de las CC-quimiocinas se expresan de forma constitutiva en un porcentaje limitado de células y requieren activación celular para su expresión de novo<sup>10</sup>. Aunque se ha descrito que numerosos receptores de quimiocinas pueden actuar como receptores virales probablemente in vivo, CCR5 y CXCR4 son los más importantes<sup>7,8</sup>, aunque algunos aislados virales son capaces de adaptarse a otros receptores de quimiocinas, especialmente CX3CR1, CCR2, CCR3 y CCR8<sup>9,11,12</sup>. La molécula de CCR5 une, entre otras, a las quimiocinas RANTES, MIP-1 $\alpha$  y MIP-1 $\beta$  y es el principal receptor de las cepas R5. El receptor CXCR4 tiene como ligando natural a la quimiocina SDF1/CXCL12 y es el principal receptor de las cepas denominadas X4. El tropismo de los distintos aislados virales se encuentra en relación con la secuencia de aminoácidos y la conformación de distintas regiones de la gp120, especialmente el bucle V3<sup>13</sup>. Además de los virus con un tropismo estricto por CCR5 o CXCR4, se han descrito variantes virales capaces de entrar en la célula a través de ambos correceptores (cepas de tropismo dual)<sup>12</sup>. Las quimiocinas que se unen a CCR5 y CXCR4, muy especialmente RANTES, MIP y SDF, son capaces de inhibir la infección por el VIH<sup>14,15</sup> debido a un fenómeno de interferencia con el VIH en la unión con sus correceptores y promoviendo su internalización<sup>16</sup>. Con toda probabilidad estos mecanismos constituyen un potente mecanismo de protección contra la infección por el VIH in vivo. En concreto se ha demostrado que hay una alta producción de SDF1/CXCL12 por células epiteliales mucosas y células dendríticas, lo que representa un mecanismo de interferencia en la infección y propagación por variantes X4 del VIH<sup>17</sup>.

La interacción específica entre el receptor CD4 y la envuelta viral (SU) produce un cambio conformacional en la glucoproteína que permite su posterior interacción con los receptores de quimiocinas, CXCR4 o CCR5. Esta interacción de SU con el correceptor probablemente promueve un nuevo cambio conformacional en el oligómero SU/TM que conduce a la exposición del dominio de fusión de la glucoproteína TM. Esta se inserta en la membrana plasmática y promueve la fusión entre la membrana del virus y la célula con lo que se produce permite la internalización de la nucleocápside viral.

### Internalización de la cápside y liberación del ARN genómico viral

El proceso de descapsidación del ARN genómico viral se origina en el citosol y para que este fenómeno se produzca los retrovirus tienen que escapar al bloqueo que genera una serie de proteínas de la célula hospedadora y

que son específicas de especie<sup>18</sup>. Así, por ejemplo, las células humanas no se infectan por el virus de la anemia equina porque el retrovirus es inhibido en el proceso de descapsidación por un factor celular y así ocurre en las infecciones cruzadas de retrovirus con otras especies<sup>19</sup>. La caracterización de estos factores de restricción ha demostrado que todos ellos son variantes de la proteína TRIM5 $\alpha$ , descrita recientemente y que bloquea la apertura de la cápside viral y con ello la salida del ARN genómico viral al citosol<sup>20,21</sup>. Algunos autores consideran estos mecanismos de interferencia y restricción mediados por proteínas celulares como un sistema de inmunidad innata intracelular al que pertenecerían TRIM5 $\alpha$  que interferiría el proceso de descapsidación, ciclofilina A cuyo papel está peor definido pero que podría colaborar con TRIM5 $\alpha$  y APOBEC3G que interfiere en el proceso de retrotranscripción<sup>19</sup>.

### Retrotranscripción, transporte e integración

Una vez realizada la descapsidación del genoma viral se produce en el citosol el proceso de retrotranscripción del ARN viral mediante la acción de la enzima transcriptasa inversa (TI) que es transportada en el propio virión<sup>1</sup>. La retrotranscripción supone un complejo proceso que se produce en el citoplasma celular mediante el cual la TI genera una doble hebra de ADN que duplica los LTR que se sitúan en ambas extremidades del genoma proviral<sup>2</sup>. Una vez sintetizado el ADN es transportado al núcleo y se integra en el genoma celular mediante la acción de la integrasa viral constituyendo lo que se denomina la forma «proviral» del VIH<sup>17</sup> (fig. 1). En el proceso de transporte participan activamente proteínas virales como Vpr y la proteína de la matriz viral p17. Se ha descrito que la proteína Nef, que es transportada también en el virión, aumenta la eficiencia de retrotranscripción<sup>23</sup>. Asimismo, se ha demostrado que el proceso de retrotranscripción e integración es dependiente no sólo de factores virales, sino también de factores celulares inducidos en el curso de procesos de activación celular. En linfocitos CD4 en reposo, una vez internalizado, el genoma viral es retrotranscrito de forma incompleta y no se produce la finalización de la retrotranscripción y la integración a menos que la célula sea activada<sup>24</sup>. De hecho, se ha demostrado en linfocitos de sangre periférica de pacientes seropositivos la existencia de ADN proviral no integrado que es susceptible de integración y replicación si dichas células son activadas<sup>25</sup>. Estas formas provirales no integradas pueden permanecer en el citosol celular hasta una semana y constituyen tanto un reservorio potencial del VIH como un marcador de infección celular reciente<sup>26</sup>.

### Replicación del VIH

Una vez integrado el VIH en el genoma de la célula infectada, éste puede seguir un comportamiento variable: permanecer latente, replicarse de forma controlada o experimentar una replicación masiva con el consiguiente efecto citopático en la célula infectada. La replicación del VIH es un proceso secuencial que depende de la acción de factores celulares y virales y que puede sistematizarse en los siguientes pasos:

– Iniciación de la transcripción. La iniciación de la transcripción supone el comienzo de la síntesis del ARN

mensajero del VIH a partir del ADN proviral integrado en el genoma celular. El paso de la situación de «silencio» a la de «actividad» transcripcional no depende de proteínas virales, sino de factores celulares que interactúan con las secuencias reguladoras localizadas en el LTR viral<sup>17</sup>. Estos factores que actúan en las secuencias de regulación genética *enhancer* y promotor del VIH permiten la formación del complejo transcripcional primario (ARN polimerasa II y factores asociados) que realiza la transcripción génica. Entre estos factores, NF-κB representa el principal elemento regulador de la transcripción del VIH en linfocitos CD4 a partir de su estado de latencia<sup>27</sup>.

– Transcripción completa del genoma viral. La transcripción completa del genoma viral requiere de la participación de la proteína viral Tat, que actúa aumentando del orden de 10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup> veces la tasa de transcripción del genoma del VIH y permite la síntesis de la totalidad del ARN viral. Tat actúa esencialmente como un *enhancer* ARN que permite la elongación completa del ARN viral<sup>22</sup>. En ausencia de Tat no hay elongación completa del ARN viral. Tat puede actuar también como un transactivador directo de la transcripción en cooperación con otros factores celulares, en especial NF-κB y Sp1.

– Procesamiento del ARN mensajero. El ARNm del VIH se sintetiza en forma de un único transcrito que debe ser transportado al citosol y procesado en transcritos de distintos tamaños. Tanto el procesamiento y el transporte del ARNm son realizados fundamentalmente por la proteína reguladora viral, Rev, que tiene una localización preferentemente nuclear. En ausencia de Rev, el ARNm del VIH se acumula en el núcleo y no es procesado en sus diferentes transcritos. Rev participa asimismo en el proceso de ensamblaje de los ARNm con la maquinaria de síntesis proteínica y acelera la síntesis de las proteínas virales por los polisomas<sup>2</sup>.

### Formación y maduración de viriones

Una vez sintetizadas, las proteínas virales deben ser procesadas postraducionalmente antes de ensamblarse en lo que constituirán las partículas virales maduras. En este proceso participan distintas proteínas virales entre las que destacan Vif, Vpu y la proteasa viral<sup>28,29</sup>. El gen *vpu* no es esencial para la replicación viral, pero en su ausencia se produce una acumulación de proteínas en el citoplasma y una menor producción de viriones.

El producto del gen *vif* tampoco es esencial para la replicación viral, pero su delección disminuye la infectividad entre 100 y 1.000 veces. Vif interacciona con una proteína celular, APOBEC3G<sup>30,31</sup>, perteneciente a la familia de enzimas de edición de ADN que aumentan la tasa de mutación en determinados genes como las inmunoglobulinas y actúan así como mecanismos de generación de diversidad. APOBEC3G representa un mecanismo de inmunidad antiviral innata activo contra retrovirus y probablemente otras familias virales. En ausencia de Vif, APOBEC3G se incorpora en el virión e interfiere en el proceso de retrotranscripción en las células que son infectadas en el siguiente ciclo viral. Gracias a su carácter mutagénico, APOBEC3G aumenta la tasa de error de la transcriptasa inversa que sintetiza así moléculas de ADNc defectivas que no pueden integrarse y replicar de forma eficaz<sup>31-34</sup>. La presencia de Vif en la célula infectada promueve la degra-

dación de APOBEC3G impidiendo así su incorporación en los viriones producidos.

La proteasa viral desempeña una función importante en la producción de partículas virales maduras al procesar los precursores proteínicos Gag y Gag-pol en las proteínas de la nucleocápside, la transcriptasa inversa del virus y la propia proteasa viral. Por el contrario, el procesamiento del precursor proteínico de las proteínas de la envuelta (gp160) en sus productos (SU/gp120 y TM/gp41) lo realiza una proteasa celular. La maduración final de los viriones y el ensamblaje correcto de las proteínas virales se produce en el momento final del ciclo infectivo, durante el proceso de gemación de los virus a través de la membrana celular y permite constituir una partícula viral madura.

## Dianas contra el VIH

### Introducción

Quizá no hay otro ejemplo como el de la infección por el VIH para ilustrar la rapidez en la transferencia del conocimiento obtenido mediante la investigación básica al tratamiento de los pacientes. Históricamente el agente causal del sida se aísla y caracteriza entre los años 1983 y 1984. En 1984 ya disponíamos del primer inhibidor de la transcriptasa inversa (TI), la zidovudina. Durante una década se incorporaron nuevos inhibidores de la misma familia de análogos nucleósidos (ITIAN) y no es hasta 1996 cuando se comercializa el primer inhibidor de la proteasa (IP) y se instaura el tratamiento de combinación con 3 fármacos. La introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) mejora de forma radical la supervivencia de los pacientes infectados por el VIH. En 1997 se incorporan al arsenal terapéutico los inhibidores no nucleósidos de la TI (ITINAN) y prácticamente durante un lustro sólo se generan nuevos fármacos pertenecientes a estas 2 familias<sup>35</sup>. En 2002 aparece el primer inhibidor de la entrada viral, el inhibidor de la fusión: enfuvirtida. El año 2007 marca una nueva avalancha de compuestos: los inhibidores de la integración y del corceptor CCR5 que, junto con nuevos IP de nueva generación, vuelven a cambiar de forma radical el tratamiento y el pronóstico de los pacientes que han experimentado múltiples fracasos del tratamiento antirretroviral<sup>36</sup>.

A continuación se resumen las distintas familias de antirretrovirales existentes en el momento actual y sus principales características.

### Dianas clásicas

Se incluyen en este grupo los inhibidores de las enzimas virales transcriptasa inversa y proteasa que constituyen las primeras familias de fármacos desarrollados y que han consolidado su papel en el tratamiento de la infección por el VIH durante 2 décadas<sup>36</sup>.

*Inhibidores de la TI análogos de nucleósidos y nucleótidos.* Forman esta familia zidovudina (AZT), dideoxicitidina (ddC), lamivudina (3TC), emtricitabina (FTC), didanosina (ddI), estavudina (d4T), abacavir (ABC) y tenofovir (TDF). Todos son análogos de nucleósidos, excepto TDF que es un análogo de nucleótido. Actúan mediante un doble mecanismo: por competición con los nucleótidos naturales en su incorporación a la cadena de ADN naciente

generada por la TI y como «terminadores de cadena» en la síntesis del ADN genómico viral. La combinación de 2 fármacos de esta familia y un ITINAN o un PI ha demostrado una alta eficacia en el control de la replicación viral y constituye, por razones esencialmente históricas, el esqueleto básico del TARGA en pacientes *naive*. La toxicidad mitocondrial es uno de sus efectos colaterales más importantes, siendo la acidosis láctica es la manifestación más grave de esta toxicidad. El desarrollo de síndromes de redistribución grasa, lipoatrofia y lipohipertrofia, también se asocia con la utilización de ITIAN, así como con otros antirretrovirales. La generación de resistencias a ITIAN se produce mediante 2 mecanismos: la disminución de la afinidad en la incorporación del fármaco manteniendo la afinidad por el sustrato nucleotídico natural y la escisión del análogo nucleótido incorporado. El primer mecanismo se produce en las mutaciones M184V, K65R y L74V que confieren resistencia a 3TC/FTC, tenofovir y ddI, respectivamente. El complejo de multiresistencia Q151M también desarrolla resistencia mediante este mecanismo a todos los antirretrovirales, con la excepción de tenofovir. El mecanismo de escisión del análogo incorporado se produce en presencia de ATP y es generado por una serie de mutaciones agrupadas con el termino NAM o mutaciones asociadas al uso de nucleósidos que incluyen los cambios M41L, D67N, K70R, L210W, T215F/Y y K219Q/E. Estas mutaciones generan resistencia en distinto grado a los ITIAN, excepto 3TC/FTC. La inserción de 2 aminoácidos en la posición 69/70 también genera resistencia a todos los ITIAN por este mecanismo.

*Inhibidores de la TI no análogos de nucleósidos.* Este grupo de fármacos está representado por 3 compuestos: nevirapina, efavirenz y delavirdina, aunque únicamente los 2 primeros están autorizados en la Unión Europea. Interaccionan con la RT uniéndose a un dominio cercano al sitio catalítico. Como se ha mencionado, su asociación con 2 ITIAN representa una pauta de inicio de pacientes con infección por VIH. Esta familia de fármacos no presenta actividad contra el VIH-2 o el grupo O de VIH-1 debido a que la TI de estos virus tiene resistencia natural a los ITINAN existentes. Su toxicidad esencial es que produce reacciones cutáneas de tipo exantemático graves y en el caso del efavirenz, efectos en el sistema nervioso con alteraciones del sueño y de la concentración, así como mareos. Los ITINAN presentan una baja barrera genética ya que una mutación aislada en las posiciones K103N, V106M o Y188L confiere resistencia cruzada a efavirenz y nevirapina. Para bloquear la actividad de la RT los ITINAN establecen interacciones hidrófugas y electrostáticas con aminoácidos situados en la proximidad del centro catalítico de la enzima. Dado que estos aminoácidos no son críticos para la actividad de la RT, se toleran cambios en estas posiciones que impiden la estabilización de la interacción entre el ITINAN y la RT, generándose así resistencia al fármaco. Algunos ITINAN en fase de desarrollo, como el TMC-125, no presentan perfiles de resistencia cruzada con nevirapina y efavirenz lo que puede ser especialmente útil en el rescate de pacientes en fracaso terapéutico.

*Inhibidores de la proteasa.* Los IP se unen al sitio catalítico configurado por los 2 monómeros que constituyen la proteasa del VIH bloqueando la acción de la enzima que

procesa las poliproteínas precursoras gag/pol en sus productos finales. La inhibición de esta enzima origina un procesamiento incompleto de las proteínas del core viral y genera partículas virales no infectivas. Su asociación con 2 ITIAN es una de las combinaciones recomendadas en el tratamiento inicial de pacientes con infección por el VIH. La utilización de los compuestos más activos de la familia, lopinavir, tipranavir y duranavir, está especialmente indicada en pacientes con fracaso terapéutico a una combinación previa de antirretrovirales. A largo plazo todos los IP tienen efectos secundarios, especialmente metabólicos, por lo que uno de los desafíos planteados en esta familia es el desarrollo de nuevos IP desprovistos de estos efectos, como es el caso de atazanavir que tiene un efecto favorable en los lípidos plasmáticos. Otros efectos secundarios específicos del fármaco es la nefrolitiasis producida por indinavir, el incremento de la bilirrubina conjugada en el tratamiento con atazanavir. Una de las grandes ventajas de los IP, además de su potencia intrínseca, es su alta barrera genética para el desarrollo de resistencias que requiere entre 4 y 8 mutaciones para generar resistencia cruzada entre los miembros de la familia.

#### Nuevas familias de fármacos

Se incluyen en este apartado los nuevos fármacos desarrollados en el último lustro y que tienen como característica que están dirigidos frente a nuevas dianas tanto virales como celulares.

*Inhibidores de la fusión entre el VIH y la célula.* La enfuvirtida o T-20 es el único fármaco de este grupo. Es un péptido sintético homólogo a los 36 aminoácidos conservados de la región HR2 lo que le permite interaccionar con el dominio complementario en la región HR1 bloqueando la formación de la estructura necesaria en el proceso de fusión. Tiene una alta potencia intrínseca pero su administración subcutánea limita su indicación al tratamiento de rescate de pacientes que han sufrido múltiples fracasos y que disponen de escasas alternativas terapéuticas<sup>37</sup>. En los pacientes tratados con enfuvirtida se ha descrito la emergencia de mutaciones en las posiciones V38A, Q39H, Q40H y N43D/S y L45M que modifican la afinidad por sus dianas y la actividad del fármaco. La resistencia a enfuvirtida no es cruzada con otros inhibidores de la fusión, lo que permitiría en un futuro el tratamiento alternativo en pacientes resistentes a T-20 o realizar tratamientos con mezclas de péptidos dirigidos frente al dominio de fusión de la gp41.

*Antagonistas del correceptor CCR5.* Maraviroc es el único antagonista de CCR5 que ha sido aprobado para el tratamiento de la infección por el VIH. Es una molécula no peptídica derivada de piperidina que actúa mediante un mecanismo alostérico no competitivo. Maraviroc se une al receptor en las regiones transmembrana 2 y 3 y fija el receptor en una conformación que impide la unión de la proteína gp120 del VIH a sus dominios de interacción con CCR5<sup>38</sup>.

Está indicado en el tratamiento de rescate en pacientes con fracaso terapéutico que presentan virus de tropismo por el receptor CCR5<sup>39</sup>. Esto obliga a realizar una prueba de tropismo previa para definir qué pacientes son susceptibles de beneficiarse del tratamiento con maraviroc. En

cuanto a la generación de resistencias, la mayoría de los fracasos descritos corresponden a pacientes portadores de virus con tropismo por el receptor CXCR4 que no fueron detectados en el cribado inicial debido a la baja frecuencia de estas variantes. Recientemente se han comunicado variantes resistentes a maraviroc que mantienen el tropismo R5 y que presentan cambios en numerosos residuos de la envuelta, principalmente en el bucle V3, pero no limitados a este dominio.

**Inhibidores de la integrasa.** Los inhibidores de la integrasa son una nueva familia de fármacos antirretrovirales, cuyo espectro incluye el HIV-1 y HIV-2. Se indican en pacientes que nunca han recibido tratamiento antirretroviral o que han fracasado con múltiples fármacos previos. Los fármacos de la nueva familia se han mostrado activos frente a aislados con resistencia a todos los fármacos comercializados. Raltegravir es el primer fármaco aprobado para su uso en humanos y es el objeto de esta monografía, por lo que será analizado en detalle en los distintos capítulos. Otros fármacos de la familia se encuentran en diferentes fases de desarrollo.

### Futuros compuestos

Se incluyen en este apartado fármacos en fase de desarrollo clínico o preclínico que debido a su diana o mecanismo de acción pueden tener un impacto importante en el tratamiento futuro de la infección por el VIH.

**Nuevos inhibidores de la entrada viral.** La entrada viral es una diana preferente del tratamiento ya que se trata de una etapa precoz en la infección y su interferencia tendrá un alto impacto en la propagación del VIH<sup>40</sup>. Este proceso engloba múltiples dianas: la interacción de la envuelta viral con CD4 y los correceptores CXCR4 y CCR5, y el proceso de fusión. Entre los inhibidores de la interacción entre CD4 y la glucoproteína viral se encuentran FP-21399 y BMS-378806 que han iniciado su desarrollo clínico. Un objetivo prioritario es el desarrollo de compuestos inhibidores de la entrada a través del receptor CXCR4, ya que combinados con antagonistas de CCR5 bloquearían todos los aislados virales e impedirían la emergencia de variantes X4 minoritarias. AMD3100 (bicyclam) fue el primer inhibidor de CXCR que alcanzó la fase de desarrollo clínico, pero debido a su toxicidad fue desechado. Moléculas derivadas de AMD3100 (AMD070 y AMD3451) y nuevos inhibidores de estructura diferente (KRH3955 y KRH3140) con capacidad inhibidora en los virus VIH X4 están en fase de desarrollo y poseen la interesante propiedad de su absorción por vía oral<sup>41</sup>. A pesar de los esfuerzos, el desarrollo de este tipo de inhibidores ha sufrido un retraso importante respecto de los inhibidores de CCR5 debido a los efectos secundarios al bloqueo de las funciones homeostáticas que dependen de CXCR4. El desarrollo de nuevos inhibidores de la interacción HIV-correceptor sigue siendo uno de los campos de investigación más activa y los compuestos desarrollados 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. Las quimiocinas que se unen a CCR5 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 correceptor. Derivados de RANTES/CCL5 generados mediante delección del extremo aminoterminal (RANTES 9-68) o modificación química de (AOP-RANTES y PSC-RANTES) tienen una capacidad inhibidora de la infección por el VIH mayor que la de la molécula natural<sup>42</sup>. Dada la posibilidad de utilizarlos de manera tópica, estos compuestos se han propuesto como viricidas. 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 Ib. Este anticuerpo bloquea la unión de Env sobre CCR5, es bien tolerado, activo contra un elevado número de virus de tipo R5 y actúa en sinergia con los inhibidores de CCR5<sup>43</sup>. Existen otras tentativas con otros anticuerpos dirigidos contra CCR5, como la desarrollada por Genome Sciences con el anticuerpo mAb004<sup>44</sup>. A pesar de las esperanzas terapéuticas que ofrecen estos ligandos de CCR5, el desarrollo de quimiocinas y anticuerpos, como moléculas inhibidoras de la infección por el VIH útiles en clínico, es improbable, sobre todo si se tiene en cuenta su relación coste/eficacia.

**Nuevos inhibidores de la integrasa.** La integración es una diana preferente para el tratamiento antirretroviral ya que este proceso representa el gran cuello de botella molecular en el ciclo del VIH. El desarrollo de esta familia de fármacos ha supuesto un largo esfuerzo de investigación, pero tras raltegravir, se encuentran en fase de desarrollo clínico nuevos fármacos pertenecientes a esta familia, como elvitegravir (Gilead)<sup>45</sup> y una nueva generación de inhibidores representada por MK-0518<sup>46</sup>.

**Inhibidores de la morfogénesis viral.** Los progresos realizados en los últimos años en la comprensión de los mecanismos de morfogénesis del VIH en las últimas fases del ciclo replicativo viral han permitido definir una serie de dianas implicadas en este proceso. Algunos de los prototipos desarrollados tienen como diana la proteína Vpu, una proteína reguladora que participa en la maduración y la gemación de la partícula viral. El compuesto BIT-225 (Biotron Ltd.) es uno de los compuestos que ha entrado en fases clínicas iniciales. Otros compuestos como Bevirimat (Panacos Pharmaceutical)<sup>47</sup> o HPH-116 (H-Phar)<sup>45</sup> tienen como diana la proteína Gag e interfieren con el proceso de ensamblaje del core disminuyendo así la infectividad viral.

**Fármacos reactivadores de los reservorios latentes.** La persistencia de un reservorio proviral aparentemente inaccesible al tratamiento antirretroviral representa el mayor obstáculo para la erradicación del VIH. Una estrategia propuesta estriba en reactivar dichos reservorios con fármacos específicos en un TARGA reforzado para, de esta manera, «purgar» el compartimento de ADN proviral<sup>45</sup>. Entre estos compuestos se han propuesto derivados de ésteres de forbol no tumorígenos, como prostratina o SJ23B, o inhibidores de histona deacetilasas, como el ácido valproico<sup>45</sup>. Estos abordajes, aunque atractivos conceptualmente, se encuentran todavía en fases preclínicas o se han evaluado en un número reducido de ensayos con grupos limitados de pacientes.

*Inhibidores de factores celulares necesarios para la replicación viral.* La identificación de factores celulares que actúan restringiendo la replicación del VIH, como APOBEC3G y TRIM5 $\alpha$ <sup>48,49</sup>, abrió la posibilidad de que la modificación o bloqueo de estas proteínas pudiera interferir en el ciclo replicativo del VIH. Recientemente, la identificación de 300 factores de la célula<sup>50</sup>, muchos de ellos desconocidos hasta el momento, que están implicados de forma esencial en el ciclo biológico del VIH ha abierto un abanico de nuevas dianas celulares y la posibilidad de desarrollar nuevos compuestos dirigidos frente a ellas. En estos momentos existe una intensa investigación del mecanismo de acción de los factores celulares identificados y es prematuro hablar de fármacos dirigidos frente a éstos. Sin embargo, es previsible que en un futuro próximo este abordaje permita desarrollar nuevos fármacos dirigidos contra dianas celulares que tendrán un impacto real en el control de la infección por el VIH.

### Declaración de conflicto de intereses

El autor ha declarado no tener ningún conflicto de intereses.

### Bibliografía

- Levy JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol Rev.* 1993;57:183-289.
- Green WC. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324:308-17.
- Van Kooyk Y, Geijtenbeek TB. DC-SIGN: escape mechanism for pathogens. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:697-709.
- Geijtenbeek TB, Torensma R, Van Vliet SJ, Van Duijnhoven GC, Adema GJ, Van Kooyk Y, et al. Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses. *Cell.* 2000;100:575-85.
- Geijtenbeek TB, Kwon DS, Torensma R, Van Vliet SJ, Van Duijnhoven GC, Middel J, et al. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell.* 2000;100:587-97.
- Klatzmán D, Champagne E, Chamaret S, Gruet J, Guetard D, Herceud T, et al. T-lymphocyte T4 molecule behaves as a receptor for human retrovirus LAV. *Nature.* 1984;312:767-71.
- 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.
- Dragic T, Litwin V, Allaway GP, Martin SR, Huang Y, Nagashima KA, et al. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature.* 1997;381:667-73.
- Kunkel EJ, Butcher EC. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity.* 2002;16:1-4.
- Loetscher P, Moser B, Baggiolini M. Chemokines and their receptors in lymphocyte traffic and HIV infection. *Adv Immunol.* 2000;74:127-80.
- Frade JM, Llorente M, Mellado M, Alcámí J, Gutiérrez-Ramos JC, Zaballós A, et al. The amino-terminal domain of the CCR2 chemokine receptor acts as coreceptor for HIV-1 infection. *J Clin Invest.* 1997;100:497-502.
- Choe H, Farzan M, Sun Y, Sullivan N, Rollins B, Ponath PD, et al. The beta chemokine receptors CCR5 and CCR3 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell.* 1996;83:1135-48.
- Harrowe C, Cheng-May C. Amino acid substitution in the V3 loop are responsible for adaptation to growth in transformed T-cell lines to a primary HIV-1. *Virology.* 1995;210:490-511.
- 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 CXCR chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature.* 1996;382:833-5.
- Amara A, Gall SL, Schwartz O, Salamero J, Montes M, Loetscher P, et al. HIV coreceptor down-regulation 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.
- 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.
- Greene WC. Redistricting the retroviral restriction factors. *Nat Med.* 2004;10:778-80.
- Goff SP. Genetic control of retrovirus susceptibility in mammalian cells. *Annu Rev Genet.* 2004;38:61-85.
- Stremlau M, Perron M, Welikala S, Sodroski J. Species-specific variation in the B30.2(SPRY) domain of TRIM5alpha determines the potency of human immunodeficiency virus restriction. *J Virol.* 2005;79:3139-45.
- Stremlau M, Owens CM, Perron MJ, Kiessling M, Autissier P, Sodroski J. The cytoplasmic body component TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature.* 2004;427:848-53.
- Gaynor R. Cellular factors involved in the regulation of HIV-1 expression. *AIDS.* 1992;6:347-63.
- Schwartz O, Marechal V, Danos O, Heard JM. Human immunodeficiency virus type 1 Nef increases the efficiency of reverse transcription in the infected cell. *J Virol.* 1995;69:4053-9.
- Zack J A, Arrigo SJ, Weitsman SR, Go AS, Haislip A, Chen IS. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell.* 1990;61:213-22.
- Bubrinisky MI, Stanwick TL, Dempsey MP, Stevenson M. Quiescent T lymphocytes as an inducible virus reservoir of HIV-1 infection. *Science.* 1991;254:423-7.
- Chun TW, Stuyver L, Mizell SB, Ehler LA, Mican JA, Baseler M, et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:13193-7.
- Alcámí J, Laín de Lera T, Folgueira L, Pedraza MA, Jacqué JM, Bachelier F, et al. Absolute dependence on kB responsive elements for initiation and Tat-mediated amplification of HIV transcription in blood CD4 T lymphocytes. *EMBO Journal.* 1995;14:1552-60.
- Emerman M, Malim MH. HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unravelling viral and host cell biology. *Science.* 1998;280:1880-4.
- Cullen BR. HIV-1 auxiliary proteins: making connections in a dying cell. *Cell.* 1998;93:685-92.
- Sheehy AM, Gaddis NC, Choi JD, Malim MH. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature.* 2002;418:646-50.
- Marin M, Rose KM, Kozak SL, Kabat D. HIV-1 Vif protein binds the editing enzyme APOBEC3G and induces its degradation. *Nat Med.* 2003;9:1398-403.
- Mangeat B, Turelli P, Caron G, Friedli M, Perrin L, Trono D. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts. *Nature.* 2003;424:99-103.
- Chiu YL, Soros VB, Kreisberg JF, Stopak K, Yonemoto W, Greene WC. Cellular APOBEC3G restricts HIV-1 infection in resting CD4+ T cells. *Nature.* 2005;435:108-14.
- Esnault C, Heidmann O, Delebecque F, Dewannieux M, Ribet D, Hance AJ, et al. APOBEC3G cytidine deaminase inhibits retrotransposition of endogenous retroviruses. *Nature.* 2005;433:430-3.
- Pomerantz RJ, Horn D. Twenty years of therapy for HIV-1 infection. *Nat Med.* 2003;9:867-73.
- Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida. Recomendaciones de Gesida/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana [actualizado Ene 2008]. Disponible en: <http://www.gesida.seimc.org/pcientifica/dconsensos.asp?apnv0=pcientifica&ap>
- Lalezari JP, Henry K, O'Hearn M, Montaner JS, Piliero PJ, Trottier B, et al. Efficacy of enfuvirtide in patients infected with drug-resistant HIV-1 in Europe and Australia. *N Engl J Med.* 2003;348:2186-95.
- 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.
- Hardy D, Reyes 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. Boston: 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2008. Abstract 792.
- Rusconi S, Scozzafava A, Mastrolorenzo A, Supuran CT. An update in the development of HIV entry inhibitors. *Curr Top Med Chem.* 2007;7:1273-89.
- 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. Denver: 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2006. Abstract LB49.

42. 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.
43. Murga JD, Franti M, Pevear DC, Maddon PJ, Olson WC. Potent antiviral synergy between monoclonal antibody and small-molecule CCR5 inhibitors of human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:3289-96.
44. 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. Denver: 13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2006. Abstract 505.
45. Alcamí J. HIV persistence during therapy. Third international workshop. *Idrugs*. 2008;11:87-9.
46. John W, Fisher T, Embrey M, Egbertson M, Vacca J, Hazuda D, et al. Next generation of inhibitors of HIV-1 integrase strand transfer inhibitor: Structural diversity and resistance profiles. Boston: 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2008. Abstract 87.
47. Salzwedel K, Martin DE, Sakalian M. Maturation inhibitors: a new therapeutic class targets the virus structure. *AIDS Rev*. 2007;9:162-72.
48. Sheehy AM, Gaddis NC, Choi JD, Malim MH. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature*. 2002;418:646-50.
49. Stremlau M, Owens CM, Perron MJ, Kiessling M, Autissier P, Sodroski J. The cytoplasmic body component TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature*. 2004;427:848-53.
50. 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.
51. Harris R. The potential for exploiting host restriction factors for therapy. Boston: 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; 2008. Abstract 107.