

3.- El receptor viral US28, un receptor de quimiocinas codificado por el citomegalovirus humano (114, 131).

La creencia de que la actividad como correceptor de VIH estaba restringida a los receptores de quimiocinas y huérfanos relacionados, se ha descartado por la función correceptor descrita para BLTR (CMKRL1), el receptor de leucotrieno B₄ (132). Además, el receptor ChemR23 (121) (133) y el receptor APJ, un receptor homólogo al receptor de la angiotensina (134, 135) y cuyo ligando natural ha sido identificado como la molécula apelina (136-138), también han sido descritos como potenciales correceptores de VIH.

Se cree que otros correceptores y ligandos permanecen aún sin identificar. Esto fue sugerido por la caracterización de la quimiocina derivada de macrófagos (MDC) como un inhibidor tanto de aislados T-trópicos como de aislados M-trópicos (139). Sorprendentemente, el único receptor conocido de MDC, la molécula CCR4 (140), no es capaz de soportar la entrada de VIH. Por tanto, el efecto antiviral de MDC indica la participación de un receptor no identificado como correceptor de VIH. Posteriormente, Struyf et al. han sugerido la existencia de un receptor de MDC/correceptor de VIH adicional, que estaría expresado diferencialmente sobre monocitos activados (141).

A pesar de que todos estos correceptores pueden ser utilizados por algunas cepas virales en unas condiciones de cultivo determinadas, existen pocas evidencias de que alguno de ellos esté jugando un papel importante en la infección *in vivo* por VIH. CCR5 y CXCR4 parecen ser los únicos correceptores relevantes en la infección y en la patogénesis de VIH *in vivo*.

1.6.5.- ESTRUCTURA DE LOS CORRECEPTORES DE VIH E INTERACCIONES CON ENV.

Ha sido propuesto un modelo general estructural para CXCR4 y CCR5 (Figura 7). Las principales características de estos receptores son: un amino-terminal extracelular, un carboxi-terminal intracelular, siete dominios transmembrana α -helice organizados perpendicularmente a la membrana plasmática con varios residuos prolina conservados y tres bucles intracelulares y tres extracelulares compuestos de aminoácidos hidrofílicos (98). Residuos cisteína altamente conservados se cree que forman puentes disulfuro entre el primer y segundo bucle extracelular, y entre el amino-terminal y el tercer bucle extracelular estabilizando así la estructura del receptor.

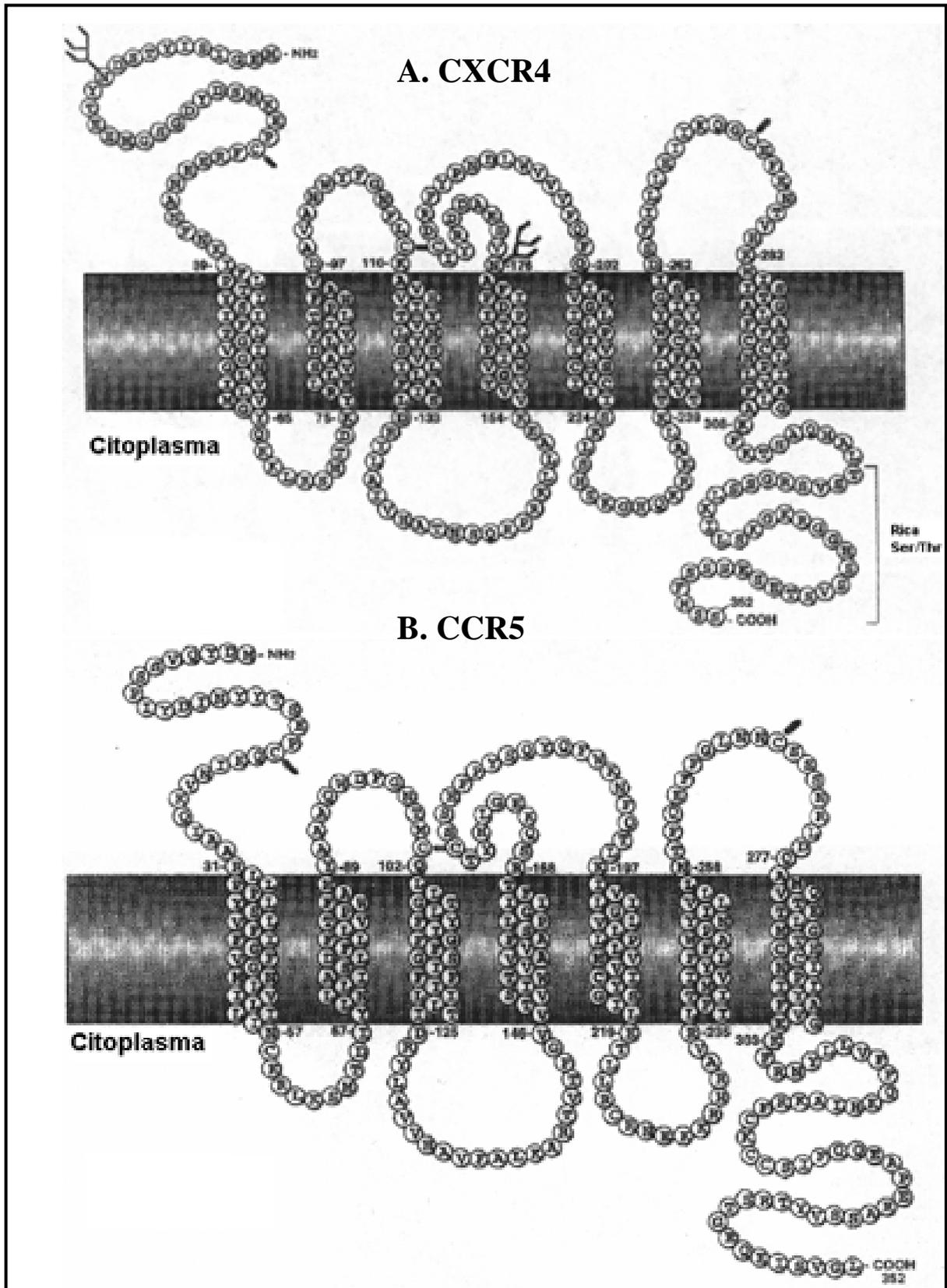


Figura 7. Topología propuesta de los correceptores del VIH-1. (A) Se representa la secuencia de aminoácidos de CXCR4. (B) Representación de la secuencia de aminoácidos de CCR5. Los residuos cisteína extracelulares se indican mediante barras además de mostrarse los sitios de posible glicosilación (142).

A pesar del hecho de que CXCR4 y CCR5 muestran una topología similar en la membrana, comparten solo un 30% de homología aminoacídica (Figura 7). Existe una clara distinción en los potenciales electrostáticos entre ambas moléculas. CXCR4 presenta una superficie extracelular con carga negativa, mientras que CCR5 está menos cargado negativamente (Figura 8). La carga global del bucle V3 (un determinante importante del tropismo viral) de la glucoproteína Env es positiva, aunque esta región de los aislados T-trópicos está más positivamente cargada que la región V3 de los aislados M-trópicos. Por tanto, este modelo correlacionaría el uso de correceptor con el tipo de Env viral. Esta diferente distribución de carga presente en los correceptores también es importante en el diseño de agentes antivirales.

El mapado de la región de unión de la proteína de Env al receptor de quimiocinas nos ha mostrado que, para virus R5, el N-terminal y el segundo bucle extracelular (ECL2) de CCR5 son esenciales para el reconocimiento y actividad como correceptor (143-145), mientras que, para las cepas X4, el lugar más importante es el segundo bucle extracelular (ECL2). La truncación del N-terminal de CXCR4 mostró que algunos virus requerían un N-terminal completo, mientras otros no se vieron afectados por la eliminación de la mayor parte de la secuencia N-terminal (146).

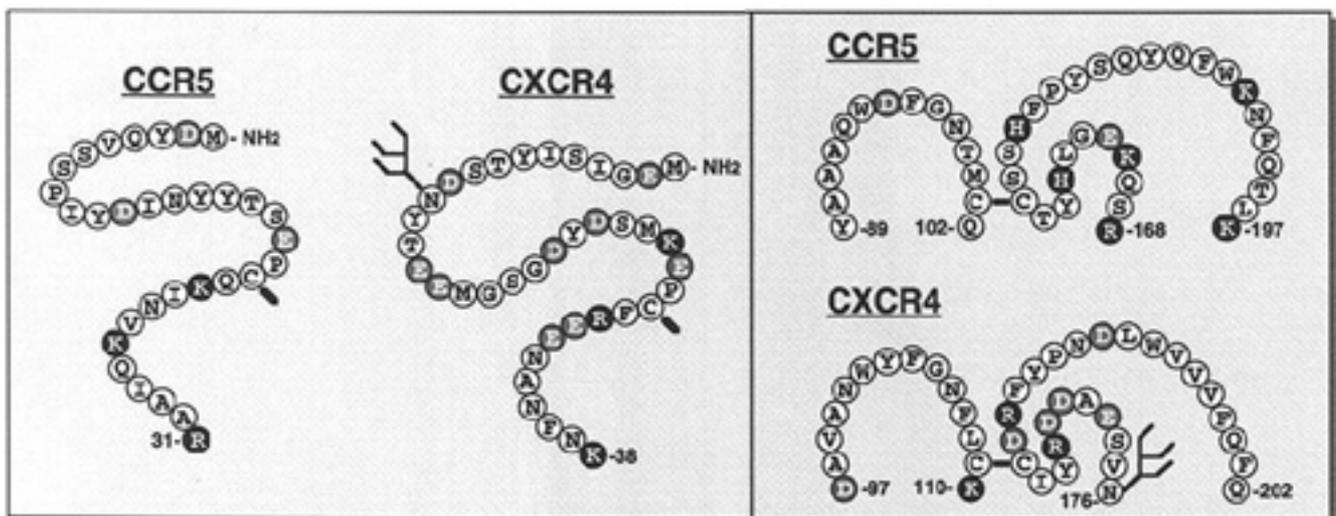


Figura 8. Comparación de los dominios extracelulares de CXCR4 y CCR5. Se comparan los dominios N-terminal y el primer y segundo ECLs. Los círculos grises indican residuos ácidos y los círculos negros indican residuos básicos (142).

La interacción inicial entre CD4 y la envuelta viral conduce a cambios conformacionales en gp120, lo cual expone un lugar de unión para permitir la interacción con el receptor de quimiocinas (147, 148). La fusión de la membrana viral y celular se cree entonces que es inducida por los cambios conformacionales en el complejo gp41/gp120/CD4 lo que conduce a la glucoproteína gp41 dentro de la membrana del huésped. Los receptores de quimiocinas pueden mediar el cambio conformacional de la proteína de la envuelta de VIH requerida para la inserción final de gp41 dentro de la membrana del huésped.

1.6.6.- UN NUEVO SISTEMA DE NOMENCLATURA PARA VIH.

Una nueva y más precisa clasificación de las cepas del VIH-1 ha sido introducida con el objetivo de indicar el uso del correceptor, en lugar de utilizar las menos definidas características inductoras de sincitios (149). Así, las variantes de VIH-1 son designadas como cepas de tipo X4 (específicas de CXCR4, generalmente T-trópicas e inductoras de sincitios), cepas de tipo R5 (específicas de CCR5, generalmente M-trópicas y no inductoras de sincitios) o cepas de tipo R5X4 (usando tanto CXCR4 como CCR5 y generalmente correspondientes a virus dual-trópicos).

1.6.7.- RECEPTORES DE QUIMIOCINAS: TRANSMISIÓN DEL VIH, PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD Y PATOGÉNESIS.

En el proceso de infección por el VIH-1, generalmente las cepas virales que son transmitidas entre individuos son cepas de tipo R5, capaces de infectar tanto macrófagos como células T CD4⁺ primarias (150, 151) a través de la utilización del receptor CCR5 y siendo las prevalentes durante el período asintomático de la enfermedad. Con el tiempo, normalmente de 4 a 5 años después de la infección primaria, las cepas virales evolucionan en algunos individuos, a cepas de tipo X4, pudiendo infectar líneas celulares T además de células T primarias, a través de su uso de CXCR4 como correceptor (Figura 9). Aunque no se conocen los factores que determinan la restricción de la infección sólo por cepas de tipo R5, posibles explicaciones serían que las primeras células en ser infectadas en el momento de la transmisión, serían CCR5⁺ pero no expresarían CXCR4 (152, 153) o que la infección se establecería en algún compartimento que estaría enriquecido en células que expresan CCR5. Otro de los enigmas hoy día estudiados es el enriquecimiento en cepas virales de tipo X4 o R5X4 que ocurre durante la progresión de la enfermedad. Hay algunos mecanismos posibles que explicarían este cambio hacia cepas más patogénicas, incluyendo la presencia de CC quimiocinas que bloquean CCR5 en los lugares de replicación viral (154, 155). Esta

presencia de CC quimiocinas podría ser una consecuencia de la infección, ya que se observa un aumento de CC quimiocinas causado por la infección de cepas de tipo X4 (156).

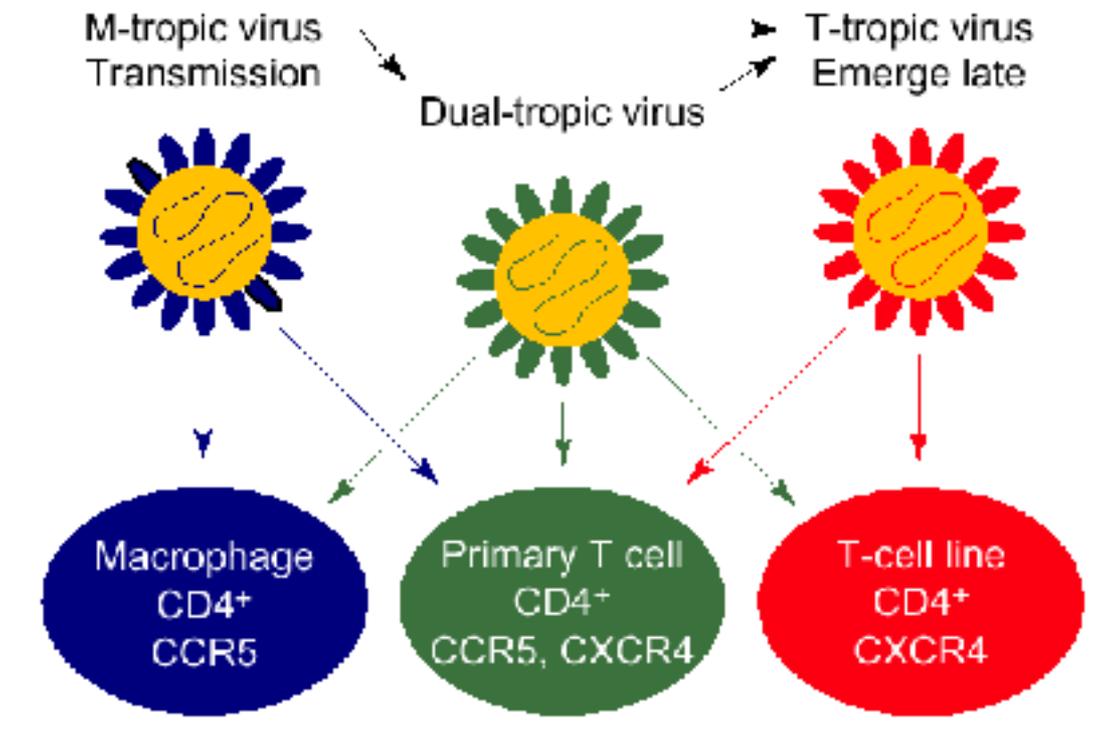


Figura 9. Modelo para el uso de correceptores, tropismo y evolución del VIH-1. Las cepas M-tropicas, que aparecen en las primeras etapas de la infección son específicas del receptor CCR5, mientras que las cepas T-tropicas que emergen en las etapas más tardías de la infección utilizan el receptor CXCR4. Las cepas de tipo dual-tropico pueden aparecer como un paso intermediario entre las cepas M-tropicas y las T-tropicas.

Esta sustitución de cepas de tipo R5 a cepas de tipo X4 durante la progresión de la enfermedad es un fenómeno muy importante ya que las cepas de tipo X4 son más citopáticas que las cepas de tipo R5. La aparición de este tipo de cepas X4 más patológicas está correlacionada con una rápida caída en el número de linfocitos T CD4⁺ (Figura10), una aceleración de la progresión de la enfermedad (150) y la aparición de SIDA (68, 157-161). Los virus de tipo X4 parecen ejercer efectos deletéreos sobre el sistema inmune del huésped no sólo por un efecto citopático directo sobre las células T CD4⁺, sino también por la muerte indirecta de células T CD8⁺, la cual parece estar

mediada por la molécula CXCR4 (162-164). Todo esto implica que la inmunodeficiencia observada en paciente infectados con el virus del VIH y la concomitante progresión a SIDA es debida, al menos en parte, a la aparición de cepas de tipo X4 con una mayor capacidad patogénica (165) .

Recientes estudios han mostrado que ciertas variantes genéticas en los genes que codifican para las quimiocinas o sus receptores, están asociadas con una menor tasa de progresión. El mecanismo propuesto es que VIH necesita unirse tanto al receptor CD4 como a los correceptores en el proceso de infección celular. Variaciones genéticas en las moléculas del receptor de quimiocinas darán como resultado una unión del VIH menos efectiva y esto se reflejará en una menor replicación.

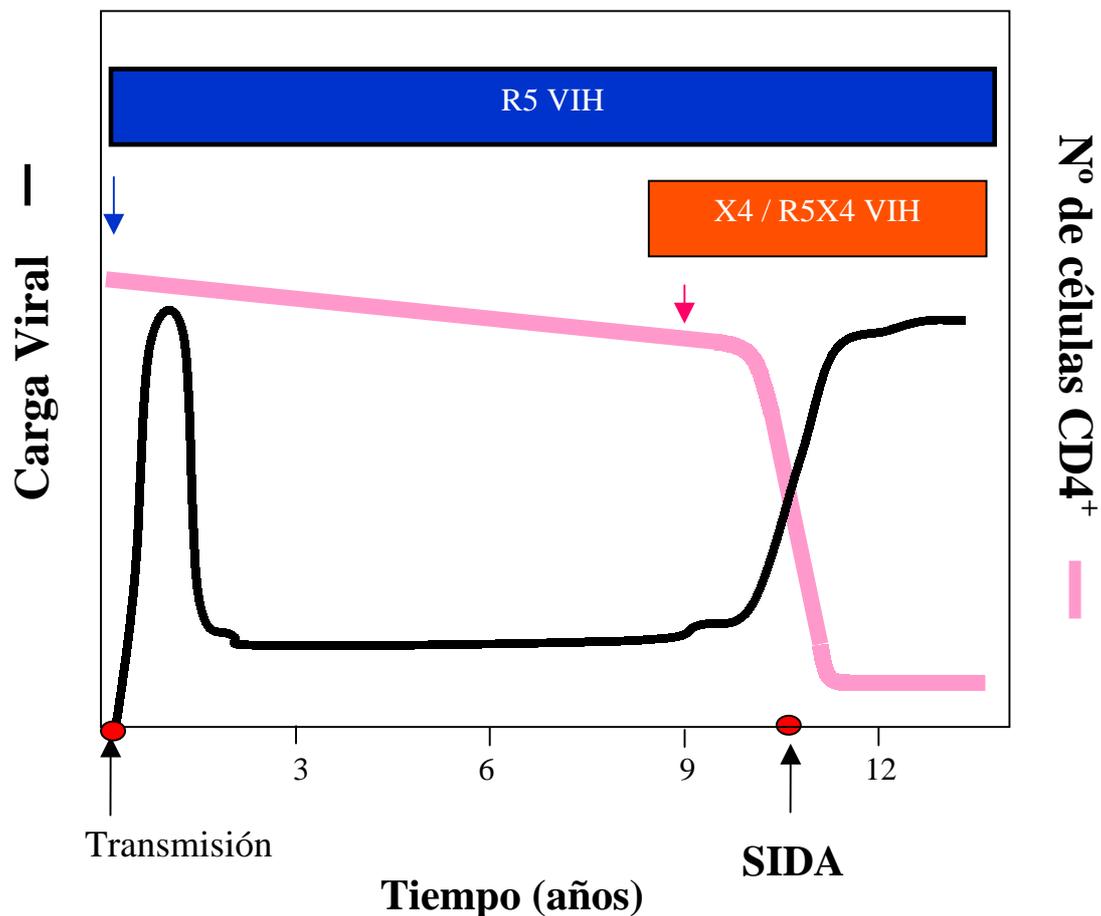


Figura 10. Evolución del número de células CD4⁺, carga viral y tropismo viral durante la infección por VIH-1. La transmisión de VIH está restringida a variantes R5, las cuales persisten a través del período asintomático de la enfermedad. En muchos individuos se produce un cambio en el tropismo viral a cepas de tipo X4 o R5X4 lo que se correlaciona con la caída del número de linfocitos CD4⁺, con un aumento de la carga viral y con la aparición de síntomas definitivos de SIDA.

Muchos estudios muestran que una delección en homocigosis en el gen codificante para el receptor de quimiocinas CCR5, disminuye significativamente, aunque no elimina completamente, el riesgo de infección por VIH (166-171). Esta delección de 32 pares de bases (delta-32) genera una proteína truncada que no se expresa en la superficie celular. La variante heterocigótica delta-32 está asociada con una menor tasa de progresión a SIDA (172). Además, se han descrito otras mutaciones en el gen del receptor CCR5 que también afectan a la progresión de la enfermedad (173, 174).

Una segunda variante genética en el gen codificante para el receptor CCR2 (CCR2-64I) no protege de la infección por VIH, pero está asociada con una menor progresión a SIDA aunque se conoce que el receptor CCR2 no ejerce un papel importante en la infección *in vivo* por VIH (175). Esta variante genética en CCR2 puede ejercer su efecto indirectamente, disminuyendo la expresión del receptor CXCR4 en la superficie celular (176) o, quizá afectando la síntesis de CCR5, ya que su posición en el genoma está cercana al gen de CCR5 (175).

Una tercera variante genética descrita afecta a la región reguladora del gen que codifica para la quimiocina SDF-1 (SDF1-3'A) (177). Esta variante se asoció con una menor tasa de progresión, con un efecto más marcado en los últimos estadios de la enfermedad. Una posible explicación es que esta variante ejerza su efecto alterando la disponibilidad de receptores CXCR4, permitiendo una síntesis aumentada de la proteína SDF-1 y así bloqueando o disminuyendo la expresión en superficie de CXCR4 (177). Pero el papel de esta variante de SDF-1 en la progresión de la enfermedad actualmente es un tema controvertido ya que posteriormente también se asoció esta variante con una progresión acelerada (178).

1.7.- INTERVENCIÓN TERAPÉUTICA EN EL CICLO DE VIDA VIRAL.

El conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en cada paso del ciclo de vida del VIH, proporciona una base esencial para el descubrimiento y desarrollo de drogas antivirales y terapias dirigidas al bloqueo de la replicación viral y prevención o retraso de la enfermedad. El virus VIH posee varias características que hacen difícil el desarrollo de terapias anti-VIH efectivas. Primero, la integración del provirus dentro del genoma celular permite a los retrovirus comportarse como un

elemento genético del huésped. Por lo tanto, los provirus integrados son transmitidos a la progenie celular durante la mitosis y pueden permanecer latentes, o expresarse a bajos niveles, y aunque las drogas anti-VIH inhiben los virus replicantes y reducen la carga viral en individuos infectados, estos provirus en el interior de células no se verán afectados. Segundo, la transcripción reversa es un proceso de replicación que no tiene actividad correctora, no eliminándose los nucleótidos colocados erróneamente, y en consecuencia, un gran número de variantes virales se generan rápidamente durante la replicación viral. El proceso de transcripción reversa junto con la naturaleza diploide del genoma de RNA viral en cada virión, producen una elevada tasa de virus recombinantes. Estas variaciones de secuencia debidas a los errores de la RT y la recombinación, convierten a los lentivirus en escurridizas dianas para la quimioterapia, ya que ambos mecanismos generan variantes virales resistentes a las drogas, que serán seleccionadas en el huésped tratado.

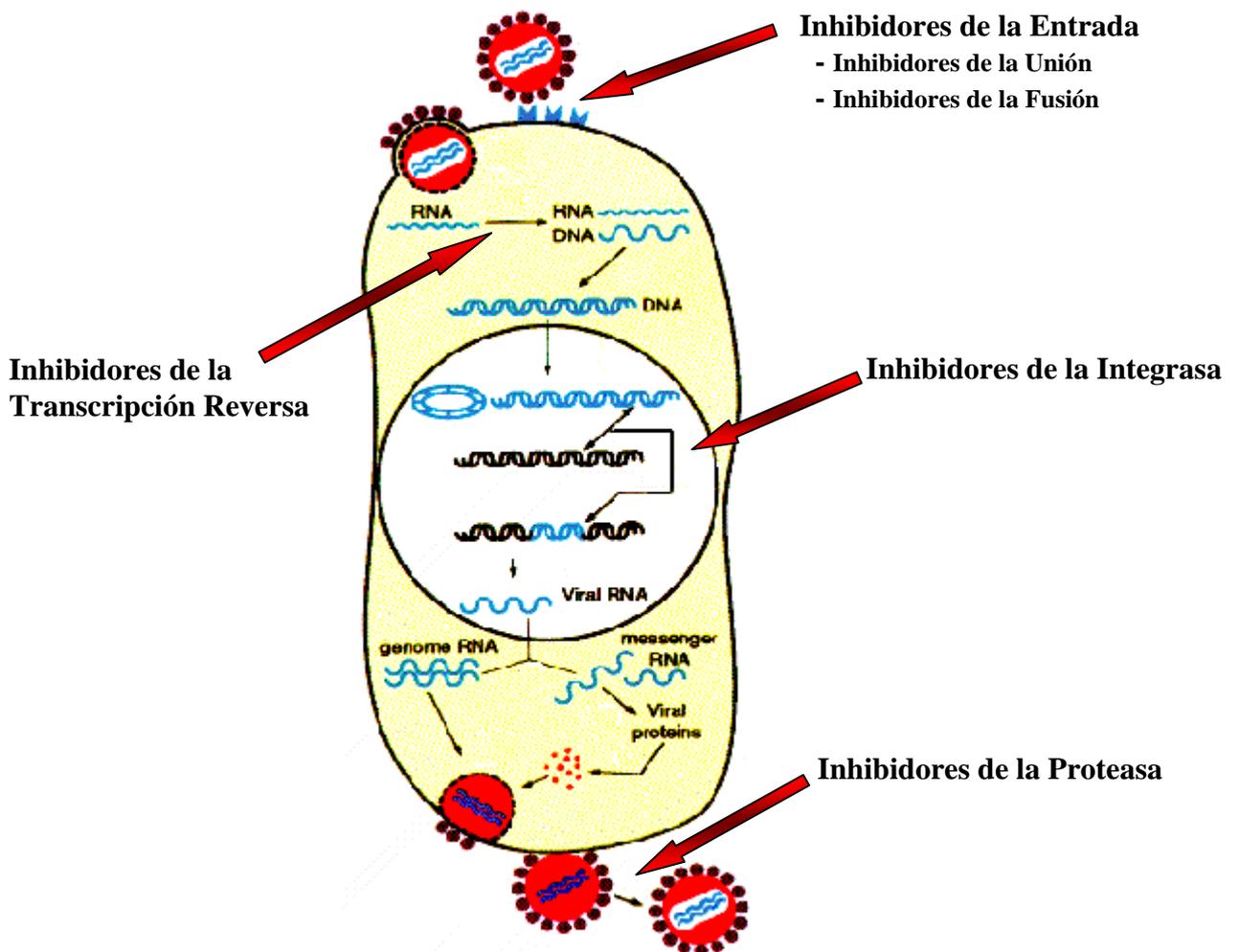


Figura 11. Pasos del ciclo de replicación viral que pueden ser diana de agentes antivirales.

El objetivo de la terapia anti-VIH es intentar curar la infección por el VIH, o si esto no es posible, parar la progresión de la enfermedad asegurando una elevada calidad de vida para los individuos infectados. Esto se puede conseguir interfiriendo efectivamente con el ciclo de vida viral y disminuyendo o revirtiendo la progresiva disfunción inmunológica que conduce a las complicaciones de la infección por VIH.

Teóricamente, cualquiera de los pasos del ciclo de vida viral puede ser una diana de agentes antivirales, lo que también se puede aplicar a las proteínas reguladoras (Figura 11).

1.7.1.- INHIBICIÓN DE LA ENTRADA VIRAL.

La entrada viral es una diana muy atractiva para la inhibición, no sólo porque es un paso importante en el ciclo de vida del virus que determina el tropismo viral y la patogénesis, sino porque las moléculas que participan están expuestas al medio extracelular y por lo tanto son relativamente más fáciles de alcanzar que dianas intracelulares. Por este motivo, una amplia variedad de moléculas han sido probadas en un intento de inhibir la entrada del virus (Tabla 3).

Hay tres pasos en el proceso de entrada del VIH que pueden servir como dianas terapéuticas: (1) la unión de la glucoproteína de la envuelta viral con el receptor CD4, (2) la unión del complejo Env/CD4 a los receptores de quimiocinas y (3) la fusión de las membranas viral y celular (Figura 12).

1.7.1.1.- Unión de la glucoproteína de la envuelta viral con el receptor CD4.

Los inhibidores de la unión descritos hasta el momento pueden ser divididos en función de su estructura molecular y tamaño en: (1) anticuerpos, (2) receptores solubles y sus derivados, (3) péptidos que imitan componentes de la maquinaria de entrada, (4) moléculas cargadas negativamente.

1.- Anticuerpos.

Como parte de la respuesta inmune natural, en individuos infectados, se producen anticuerpos contra la glucoproteína de la envuelta de VIH-1 (179). Algunos de estos anticuerpos, particularmente aquellos dirigidos contra los bucles V2 y V3, y el lugar de unión de CD4, son potentes inhibidores de la infección por VIH-1. Estos anticuerpos no son capaces de bloquear la infección en individuos infectados por una variedad de razones incluyendo la naturaleza latente de la infección por VIH-1, la alta eficiencia de la transmisión célula-célula, y la variabilidad del virus (180). A pesar del gran potencial de la inmunoterapia pasiva y la gran cantidad de trabajo realizado con anticuerpos anti-VIH, el éxito hasta el momento ha sido muy limitado (181, 182).

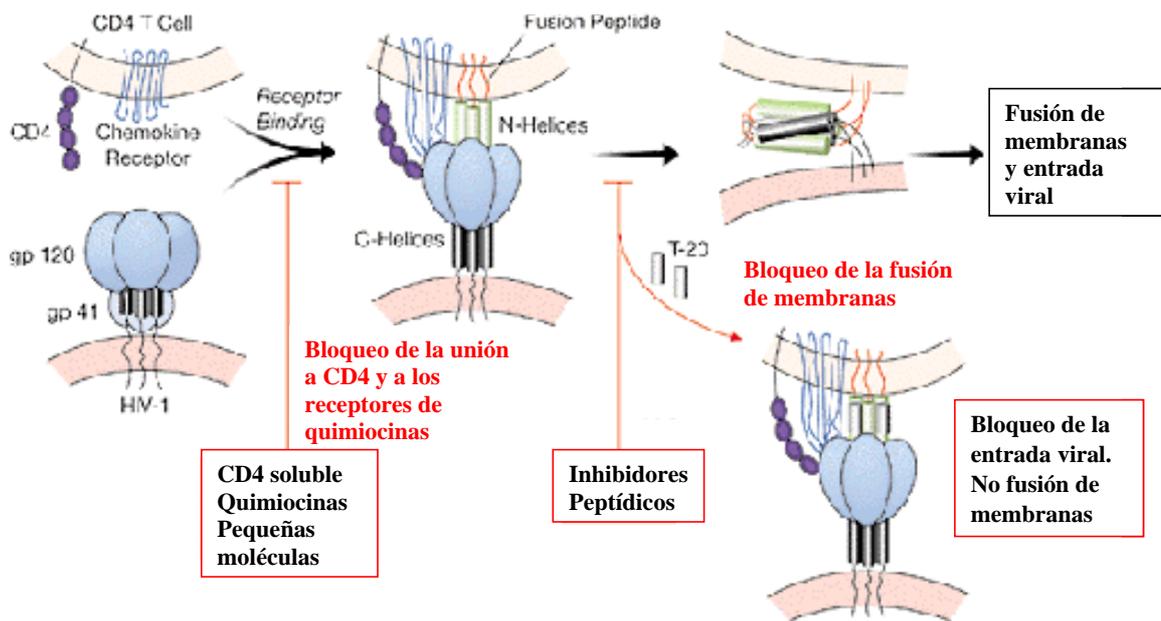


Figura 12. Pasos en el proceso de entrada viral que pueden ser diana de agentes antivirales. En la figura se representan los diferentes pasos que se dan en el proceso de entrada viral indicándose los puntos de intervención terapéutica y algunos de los compuestos utilizados en cada paso.

Los anticuerpos más potentes son los dirigidos contra partes expuestas, generalmente hidrofílicas, de la proteína Env (por ejemplo el bucle V3), pero estas regiones son variables, con lo que el virus puede escapar a la actividad neutralizante de estos anticuerpos. Este problema podría solucionarse usando anticuerpos dirigidos a las moléculas receptor en lugar de a la glucoproteína de la envuelta viral, puesto que se supone que el virus tardaría mucho tiempo en cambiar el uso del receptor o encontrar otro epítipo del mismo receptor y usarlo con elevada eficacia. Los anticuerpos dirigidos contra la molécula CD4, que se unen al lugar de unión de gp120, son potentes inhibidores de la infección por VIH. Sin embargo, el principal problema de estos anticuerpos es que pueden producir inmunosupresión, debido a la interferencia con la función fisiológica de CD4 y llegar a la eliminación de las células CD4 positivas, como fue mostrado por Jonker et al en experimentos realizados en monos (183).