



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

Entrada del virus de la inmunodeficiencia humana en las células: mecanismos y posibilidades terapéuticas



Verónica Briz, Eva Poveda y Vicente Soriano

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España.

La entrada del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en la célula es la primera etapa del ciclo de replicación viral y una diana clave en la exploración de nuevos antirretrovirales. El mejor conocimiento de los mecanismos que se suceden con la entrada del VIH en las células que infecta ha permitido el desarrollo de moléculas que bloquean cada una de las etapas de la entrada vírica: unión de gp120 al receptor CD4; unión de gp120 a los correceptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4, y fusión de las membranas viral y celular. Los inhibidores de la entrada del VIH son la última generación de antirretrovirales, de los cuales la enfuvirtida, un inhibidor de la fusión, ha sido el primero en comercializarse. Varios más se encuentran actualmente en fases avanzadas de desarrollo clínico y es de esperar que pronto contribuirán a mejorar el arsenal terapéutico frente al VIH.

Palabras clave: VIH. Entrada viral. Inhibidores de la entrada. Enfuvirtida.

HIV entry into the cells – mechanisms and therapeutic possibilities

Human immunodeficiency virus (HIV) entry into cells is the first step in the viral replication cycle, which has been explored as a new therapeutic target. A better knowledge of the mechanisms involved in the entry process has led to the development of agents, which may inhibit each of the different steps of the viral entry process: attachment of the gp120 to the CD4 cell receptor; binding of the gp120 to CCR5 or CXCR4 coreceptors; and the fusion of viral and cell membranes. Entry inhibitors are the latest family of antiretroviral compounds, being enfuvirtide, a fusion inhibitor, the first approved. Several other entry inhibitors are currently in clinical development and hopefully soon will be part of the therapeutic armamentarium against HIV.

Key words: HIV. Viral entry. Entry inhibitors. Enfuvirtide.

La introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad para el tratamiento de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) en la última década ha mejorado notablemente el pronóstico de vida de los individuos infectados¹. Sin embargo, su éxito a menudo es de tiempo limitado, debido principalmente a la aparición de mutaciones en los virus que confieren resistencia a los fármacos antirretrovirales. El número de personas infectadas con virus resistentes va en aumento^{2,3}, lo que obliga al continuo desarrollo de nuevos fármacos diseñados para inhibir la replicación de virus resistentes. Una estrategia eficaz en este sentido es utilizar compuestos con dianas terapéuticas diferentes de las actuales. En teoría, la entrada viral se considera uno de los puntos más atractivos para nuevas intervenciones terapéuticas.

Trabajo financiado en parte por proyectos de la Fundación Investigación y Educación en SIDA (IES) y la Red de Investigación en SIDA (RIS).

Correspondencia: Dr. V. Soriano.
Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III.
Nueva Zelanda, 54, 4.º B. 28035 Madrid. España.
Correo electrónico: vsoriano@dragonet.es

Recibido el 29-8-2005; aceptado para su publicación el 30-9-2005.

El VIH puede entrar en las células por fusión o endocitosis. La utilización de una u otra vía tiene diferentes consecuencias en la infectividad. La entrada mediante fusión de las membranas viral y celular conduce a una infección productiva^{4,5}. Por el contrario, la endocitosis culmina en una inactivación del virión en los endosomas acidificados o en una degradación en los lisosomas celulares. Sin embargo, estudios recientes *in vitro* indican que la endocitosis también podría permitir la integración del genoma del virus en las células y la expresión temprana de genes virales⁶. En algunos tipos celulares, como las células dendríticas, la endocitosis también puede participar en la diseminación del VIH, debido al papel de estas células en la presentación del antígeno a las células T⁷. Por tanto, aunque menos eficiente que mediante fusión, actualmente debe aceptarse que la endocitosis también puede facilitar la expansión de la infección por el VIH.

Durante el proceso de entrada, el VIH se une a la superficie celular a través del reconocimiento de receptores celulares específicos. La unión a estos receptores dará lugar a una serie de cambios conformacionales en la proteína de la envoltura viral que finalmente permitirán que las membranas viral y celular se fusionen. A continuación, sigue la penetración de la cápside viral en el citosol.

En los últimos años se han investigado moléculas capaces de inhibir el proceso de entrada del VIH y actualmente representan una nueva familia de fármacos para el tratamiento de la infección por el VIH. Se trata de los inhibidores de la entrada, de los cuales el primero que se aprobó fue la enfuvirtida, un inhibidor de la fusión^{8,9}. En la actualidad se encuentra en fase de desarrollo clínico un amplio número de moléculas que pueden bloquear el proceso de entrada del VIH en las células. Si finalmente se confirma su efectividad y si su perfil de efectos secundarios es aceptable, pronto pasarán a formar parte del arsenal terapéutico frente al VIH. A continuación se revisa en detalle las distintas etapas del proceso de entrada del VIH en las células y los mecanismos de acción de los fármacos diseñados para bloquear ese primer paso del ciclo de replicación viral.

Entrada del VIH en la célula

El VIH es un virus con envoltura, y es la proteína de la envoltura la que media su entrada en la célula diana. La glucoproteína de la envoltura del VIH es una proteína integral de membrana, que se genera como una poliproteína precursora de 160 kDa, denominada gp160. En el aparato de Golgi, mediante la acción de una proteasa celular, se genera la envoltura madura, formada por la unión no covalente de 2 subunidades asociadas: las glucoproteínas gp120 y gp41¹⁰. La envoltura madura está presente en la membrana viral formando trímeros.

No se conoce bien la secuencia de cambios conformacionales que llevan a la fusión de las membranas viral y celular.

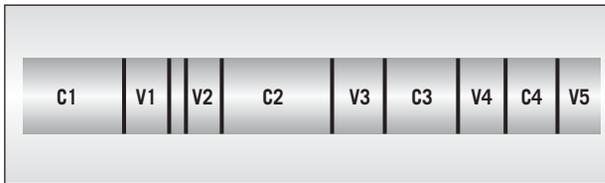


Fig. 1. Esquema lineal de la glucoproteína gp120 de la envoltura del VIH-1 con las regiones constantes (C1-C5) y variables (V1-V5).

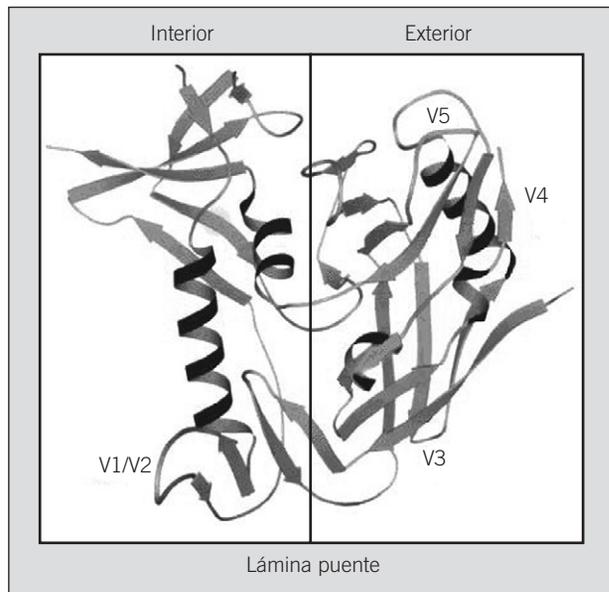


Fig. 2. Estructura tridimensional de la glucoproteína gp120 del VIH.

Los estudios realizados hasta el momento han permitido proponer un modelo en que la clave es la unión de gp120 al receptor CD4. Esta interacción desencadena una sucesión de cambios conformacionales que finalmente permiten la fusión entre las membranas viral y celular.

El proceso de entrada comienza cuando gp120 se une al receptor celular CD4. Esta unión provoca un cambio conformacional en la envoltura vírica que permite la interacción de gp120 con los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4, que se encuentran en la superficie de la célula diana. Este cambio conformacional se traduce en una liberación estérica de gp41. Como consecuencia, se produce otro cambio conformacional por el cual el complejo de la proteína de la envoltura pasa de un estado no fusógeno a un estado fusógeno. Esto se debe en gran parte a la exposición del dominio hidrofóbico N-terminal de gp41, que se inserta a través del péptido de fusión en la membrana plasmática de la célula diana, lo que permite la fusión de las membranas viral y celular. A esto sigue la entrada de la cápside viral en el citosol^{11,12}.

Unión gp120-CD4

En 1984 se identificó la molécula CD4 como el principal receptor del VIH en las células¹³⁻¹⁵. La interacción de gp120 con el receptor CD4 es el primer paso del proceso de entrada viral. La proteína viral gp120 está formada por 2 dominios, uno interno y otro externo, unidos por un puente de láminas beta. En dichos dominios se localizan 5 regiones constantes (C1 a C5) y 5 regiones variables (V1 a V5) (figs. 1 y 2). Las regiones V1/V2, V3 y C4 son las más importantes en la entrada viral. Los puentes disulfuro^{16,17} formados entre ambos domi-

nios darán lugar a la estructura tridimensional de gp120, que es funcional. Uno de estos dominios será el encargado del reconocimiento del receptor CD4 y de su unión.

El sitio de interacción entre CD4 y gp120 se sitúa en la cavidad formada entre ambos dominios de gp120 y está constituido por elementos derivados de las regiones C3 y C4^{18,19}. Esta cavidad está conservada en las diferentes variantes del VIH y no contiene sitios de glucosilación^{20,21}. El sitio de interacción de CD4 y gp120 está resguardado, protegido y bien conservado estructuralmente. Estas características han llevado a considerarlo una diana terapéutica, con la búsqueda de agentes que puedan unirse específicamente y bloquear esta etapa inicial de la infección viral.

Mecanismo de la unión gp120-CD4

La interacción entre CD4 y gp120 es mayoritariamente de tipo electrostático. El sitio de unión al receptor CD4 en gp120 tiene carga negativa y atrae la carga positiva del receptor. Además, hay fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno que ayudan a estabilizar la interacción CD4-gp120. La fenilalanina, situada en la posición 43 de la molécula CD4, es el único residuo que se une a esta cavidad. Este residuo es de gran importancia en la unión, ya que se ha estimado que es la causa de un 23% de la interacción entre el receptor CD4 y gp120^{20,21}. Como consecuencia de esta unión, el núcleo conservado de gp120 sufre cambios conformacionales que hacen que pase de un estado flexible a otro rígido, lo cual permite la interacción posterior con los receptores de quimiocinas²².

Fármacos inhibidores de la unión gp120-CD4

Hay un gran número de moléculas capaces de inhibir la unión gp120-CD4. Poseen distinta estructura y función. Entre ellas destacan PRO-542, una molécula que imita al receptor CD4, y TNX-355, que simula anticuerpos dirigidos frente al receptor.

PRO-542 es una proteína recombinante soluble que incorpora 4 copias de dominios de unión de CD4, con una estructura similar a los anticuerpos (CD4-inmunoglobulina G2)²³. Es uno de los inhibidores de la unión gp120-CD4 en fase más avanzada de desarrollo clínico. De los estudios en fase I se concluyó que PRO-542 era bien tolerado por los pacientes, al tiempo que no se identificaron dosis limitantes de toxicidad²⁴. En pacientes en fases avanzadas de la enfermedad (carga viral mayor de 100.000 copias/ml y cifra reducida de linfocitos CD4+) se observó una reducción de la viremia mayor de 0,5 log₁₀ entre las semanas 4 y 6 de tratamiento²⁵. Finalmente, en estudios que han combinado PRO-542 y enfuvirtida se ha observado una sinergia en la inhibición de la replicación del VIH²⁶. El mayor inconveniente de este inhibidor es que debe administrarse por vía parenteral.

TNX-355 es otro inhibidor de la unión CD4-gp120 que simula un anticuerpo dirigido frente al receptor CD4. Por tanto, compete con gp120 por la unión a CD4. Estudios *in vitro* llevados a cabo con el fin de mostrar el sitio de unión de dicho fármaco a gp120 concluyeron que se une en un lugar distinto del CD4 y previene los cambios conformacionales que siguen a la unión gp120-CD4 requeridos para la entrada del VIH en la célula²⁷. En la actualidad está en fase II de desarrollo clínico.

La actividad antiviral de CADA, un inhibidor específico del receptor CD4, está relacionada con su capacidad de disminuir la expresión de dicho receptor²⁸. CADA no interacciona directamente con el receptor CD4 y/o gp120. Su acción es postransduccional, no transcripcional²⁹.

La acción del inhibidor BMS-806 consiste en unirse a la glucoproteína gp120 de la envoltura del virus y bloquear los cambios conformacionales inducidos en dicha glucoproteína cuando gp120 se une al receptor CD4²⁰. La unión entre BMS-806 y gp120 es específica y reversible, e independiente de los correceptores^{30,31}.

Unión de gp120 a los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4

Hasta mediados de la década de los años ochenta se pensaba que la entrada del VIH en las células requería únicamente la unión del virus al receptor celular CD4. Diversos estudios posteriores demostraron que miembros de la familia de los receptores de quimiocinas, principalmente CCR5 y CXCR4, son igualmente necesarios para el proceso de entrada del VIH en la célula³²⁻³⁴.

En los últimos años se ha relacionado el tropismo viral por los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4 con el estadio de la infección y con la progresión de la enfermedad. Durante la primoinfección y en la fase crónica de la infección por el VIH se detectan únicamente variantes R5, mientras que en los estadios más avanzados de la enfermedad se observa la presencia de cepas X4, que se asocian con una mayor virulencia y una progresión más rápida a sida³⁵.

Mecanismo de unión de gp120 a CCR5 y CXCR4

Los correceptores CXCR4 y CCR5 pertenecen a la superfamilia de receptores de 7 dominios transmembrana acoplados a la proteína G. Presentan una estructura α -hélice de 4 dominios transmembrana: 3 bucles extracelulares y un dominio N-terminal. La unión del complejo CD4-gp120 a los correceptores se produce a través de la región V3 de gp120, aunque hay otras regiones de ésta que también participan en esta interacción. En particular, el brazo de la región V3 de gp120, junto con residuos del dominio conservado C4, se encarga de la unión de gp120 al dominio N-terminal de CCR5, mientras que tanto la corona como el brazo de V3 participan en la unión de gp120 a la superficie de CCR5³⁶. En el caso de CXCR4, es la región V3 de gp120 la que interacciona directamente con CXCR4, con independencia de las regiones V1/V2 de gp120³⁷.

El mapeo de la región de unión de gp120 al receptor de quimiocinas indica que, para el virus R5, el dominio N-terminal y el segundo bucle extracelular de CCR5 son esenciales para el reconocimiento y la actividad como correceptor^{38,39}, mientras que para las cepas X4 el lugar crítico es el segundo bucle extracelular (ECL2). La modificación por mutagénesis dirigida del dominio N-terminal de CXCR4 demuestra que algunos virus requieren un N-terminal completo, mientras otros no se afectan por la eliminación de la mayor parte de la secuencia N-terminal⁴⁰.

Mecanismo de acción de los antagonistas de CCR5 y CXCR4

La gp120 está originalmente en un estado cerrado sobre la envoltura viral, de modo que el sitio de unión del correceptor queda oculto por los bucles V1/V2 y V3. Una vez que el receptor CD4 se une a gp120, tiene lugar una serie de cambios conformacionales y el sitio de unión del correceptor queda expuesto. En el caso del correceptor CCR5, en ausencia del inhibidor, su dominio N-terminal interacciona con los residuos expuestos en la lámina puente y el brazo de V3, mientras que los residuos del ECL2 de CCR5 interactúan con la corona de V3. En presencia del inhibidor,

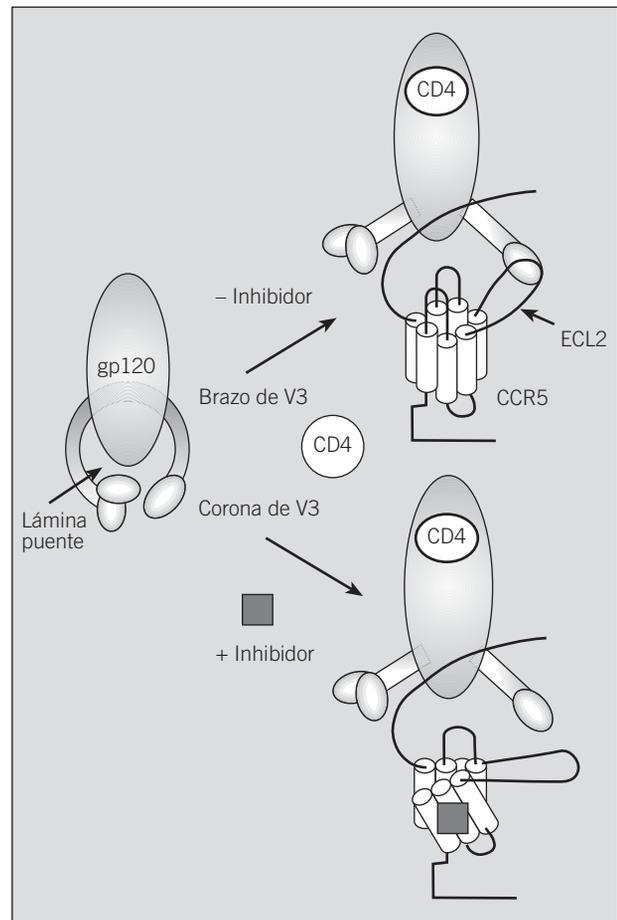


Fig. 3. Modelo de acción de los antagonistas SCH-C y AD101 del correceptor CCR5.

ECL2 experimenta cambios conformacionales de modo que no puede interactuar con la corona de V3. De esta forma se inhibe la entrada viral⁴¹ (fig. 3).

Aunque el modelo anterior se desarrolló para los antagonistas AD101 y SCH-C, se piensa que es el mecanismo general de acción de todas estas pequeñas moléculas inhibitoras de CCR5. Aunque muchos antagonistas de CCR5 (TAK-779, SCH-C, SCH-D UK-427,857 y GW873140) se unen a un sitio común de CCR5, el efecto que producen en el correceptor es diferente, ya que son compuestos estructuralmente distintos⁴². Sin embargo, el resultado final es el mismo.

Los sitios de unión de los antagonistas de CXCR4 a este correceptor se localizan en residuos presentes en ECL2⁴³⁻⁴⁵. Debido a que CXCR4 posee una superficie con gran carga negativa⁴⁶, se piensa que las interacciones que tienen lugar entre el bucle V3 de gp120 y CXCR4 son de tipo electrostático⁴⁷.

Fármacos antagonistas de CCR5

Los inhibidores de los correceptores se pueden dividir en tres grupos según su tamaño. En primer lugar, los inhibidores formados por moléculas grandes, como PRO-140. En segundo lugar, moléculas que presentan un tamaño intermedio, como los ligandos naturales de CCR5 que ha sido modificados, tales como Met-RANTES y AOP-RANTES. Estas moléculas hacen inaccesible a CCR5. Por último, se han desarrollado pequeñas moléculas dirigidas frente a los receptores CXCR4 (p. ej., AMD3100 y KRH-1636) y CCR5 (p. ej.,

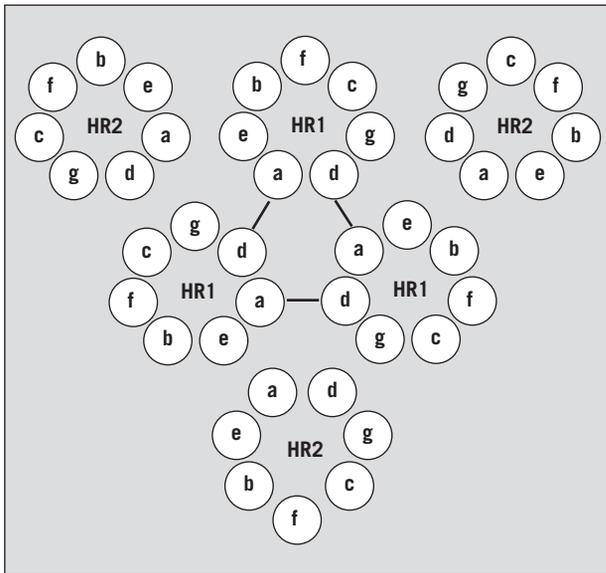


Fig. 4. Esquema de un corte transversal de la estructura de 6 hélices de la envoltura del VIH. Está formada por un trímero interno de la región HR1 y un trímero externo de la región HR2.

TAK-779, SCH-C, UK-427857 y GW873140). Todas ellas se intercalan en el dominio de unión de la membrana celular.

Los antagonistas de CCR5 son moléculas que tras su unión al correceptor inhiben su función bloqueando la unión de gp120 a CCR5. Las quimiocinas son proteínas que presentan una actividad inhibitoria frente al VIH. Estos antagonistas se presentan como alternativa a las quimiocinas.

TAK-779 es la primera molécula no peptídica que bloquea la replicación *in vitro* de cepas R5 mediante su interacción con CCR5⁴⁸. El sitio de unión está localizado en una cavidad de CCR5 que forman las regiones transmembrana 1, 2, 3 y 7 del receptor⁴⁹. Debido a que no puede administrarse por vía oral y a que ocasiona reacciones locales importantes en el lugar de inyección, se desestimó su desarrollo y se investigaron moléculas próximas a la identificación de un nuevo antagonista, TAK-220. Éste posee gran capacidad para bloquear la replicación de cepas R5 y, a diferencia de TAK-779, es de administración oral⁵⁰. Están en marcha los estudios en fase II.

TAK-652 es un nuevo antagonista de Takeda Chemical Industries. Se administra por vía oral, y estudios *in vivo* han confirmado su elevada potencia frente al VIH, además de una buena tolerancia en los pacientes⁵¹. Por otro lado, presenta actividad antiviral frente a diferentes subtipos del VIH. PRO-140 es un antagonista del correceptor CCR5 que actúa como un anticuerpo monoclonal dirigido frente a CCR5 bloqueando la unión de gp120 al correceptor. Además de inhibir aislados del subtipo B, también es activo frente a los subtipos A, C, E y F⁵². En la actualidad, está en fases I-II de desarrollo clínico.

SCH-C (SCH-351,125) presenta gran actividad *in vitro* frente a cepas R5. Sus análogos SCH-D (SCH-417,857) y AD101 (SCH-350,581) han sido escogidos para su desarrollo clínico. Los 3 antagonistas son de administración oral. Los residuos que interaccionan con CCR5 se encuentran situados en una cavidad transmembrana, de modo que, cuando se unen a CCR5, interrumpen la conformación del dominio extracelular y, por tanto, inhiben la unión de gp120 a CCR5⁴¹. Actualmente se están llevando a cabo ensayos clínicos en fase II con el antagonista SCH-D.

UK-427,857 (maravirok) se encuentra en fase III de desarrollo clínico. Los resultados obtenidos en la fase II fueron muy prometedores. Los pacientes examinados experimentaron una notable reducción de la carga viral (1,42 log de media)⁵³. Por otro lado, se observó una actividad antiviral sostenida mucho más allá de la esperada atendiendo a la vida media del fármaco, ya que la carga viral permaneció suprimida durante al menos 10 días tras finalizar el tratamiento⁵³⁻⁵⁵. El lugar de unión de maravirok al correceptor se localiza en la cavidad transmembrana de CCR5, entre las hélices 2, 3, 6 y 7, y es distinto del descrito para TAK-779⁵⁶.

Por último, GW873140 posee una gran potencia *in vitro* e *in vivo*, y se han descrito descensos de carga viral de hasta 2 log^{57,58}. Actualmente están en marcha ensayos clínicos en fase II con este medicamento. A diferencia del resto de los antagonistas de CCR5, GW873140 interacciona directamente con ECL2 en vez de hacerlo en la cavidad transmembrana⁵⁹. Debido a que induce una conformación en el receptor diferente de la producida por otros antagonistas, se ha postulado que podría presentar un perfil de resistencia diferente del resto de antagonistas de CCR5⁴². Recientemente se han observado algunos casos de toxicidad hepática asociados al uso del fármaco y se han interrumpido algunos de los estudios clínicos en espera de que se aclare el mecanismo de esta hepatotoxicidad.

Fármacos antagonistas de CXCR4

La potente actividad antiviral que AMD3100 muestra frente a cepas X4 se ha confirmado en diversos estudios *in vitro* e *in vivo*^{44,60}. Sin embargo, la compañía farmacéutica AnorMED interrumpió su producción en el año 2001 debido a que, durante un ensayo clínico en fase Ia/Ib, dos de los pacientes tratados presentaron alteraciones del ritmo cardíaco. Por otro lado, AMD3100 no presentó la eficacia esperada a las dosis evaluadas en este ensayo clínico. Con posterioridad se han identificado compuestos derivados de la molécula AMD3100 que también muestran actividad frente al VIH. Uno de ellos es AMD070. Se administra por vía oral y es bien tolerado⁶¹. En marzo de 2005 AnorMED anunció el inicio de estudios de fase Ib/IIa con AMD070, en el que se examinan con más detalle la actividad antiviral y la seguridad del fármaco.

KRH-1636 es otro antagonista de CXCR4 que presenta una actividad antiviral similar a AMD3100. Estudios llevados a cabo en ratas mostraron que el fármaco se absorbe en el duodeno, de modo que, como AMD070, podría administrarse por vía oral⁶².

Por último, KRH-2731 es un nuevo antagonista de CXCR4 de administración oral. Se une al segundo y tercer bucles extracelulares de CXCR4. Estudios *in vitro* han concluido que inhibe cepas X4 y R5X4. Su capacidad de inhibición es 10 veces mayor que la de AMD070⁶³.

Fusión del VIH a la célula diana

La gp41 es la principal causa del proceso de fusión del VIH a las células diana. Si se analiza de forma lineal su estructura, en el extremo N-terminal se encuentra el dominio correspondiente al péptido de fusión. Es su carácter hidrofóbico lo que permite su inserción en la membrana celular. A continuación se encuentran las regiones repetidas HR1 (*heptad-repeat 1*) y HR2 (*heptad-repeat 2*), que presentan aminoácidos con un patrón de repetición característico de 7 residuos (abcdefg), de los cuales los correspondientes a las posiciones a y d son aminoácidos hidrofóbicos. Son ellos los que median la unión de los monómeros de gp41 en la forma trimérica de la envoltura viral (fig. 4).

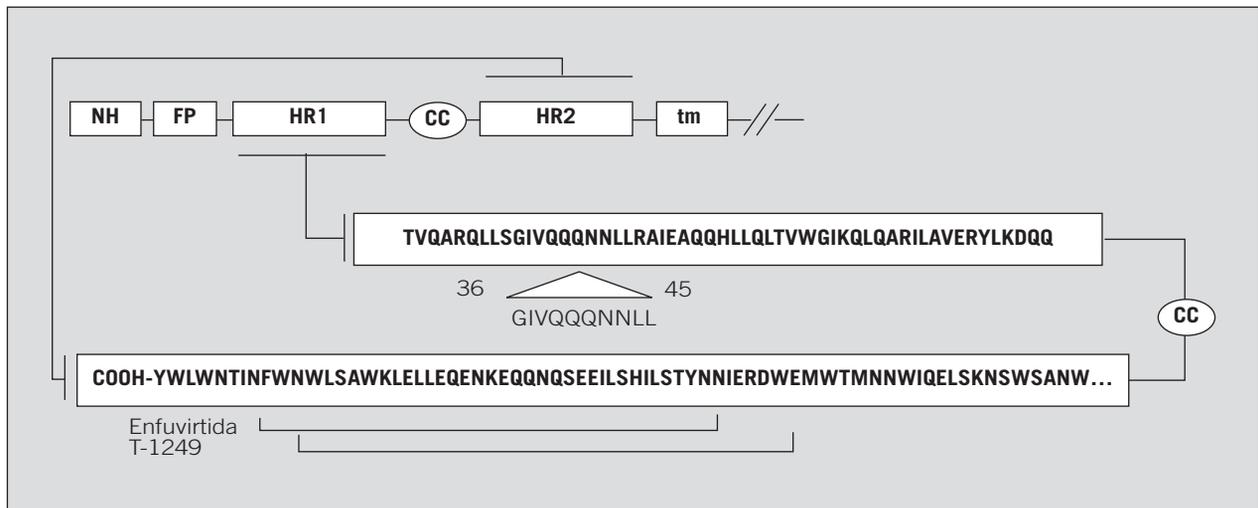


Fig. 5. Esquema de la gp41 del VIH-1 y de las secuencias de enfuvirtida y T-1249 que mimetizan HR2. FP: péptido de fusión; CC: cisteína-cisteína; tm: dominio transmembrana.

La región HR1 es rica en leucinas y durante el proceso de fusión adquiere una estructura en espiral enrollada (*coil-coiled structure*) a través de la formación de una cremallera de leucina (*leucine zipper*). La región HR2 es rica en triptófanos, al igual que el dominio transmembrana situado a continuación, próximo al extremo C-terminal de gp41. Las regiones repetidas HR1 y HR2 están separadas por un bucle de 5 aminoácidos hidrofílicos definidos por 2 residuos de cisteína (fig. 5)⁶⁴⁻⁶⁶.

Mecanismo de fusión

Durante el proceso de fusión se produce una reorganización estructural de gp41 que provoca la interacción entre las regiones HR1 y HR2 y lleva a la formación de una estructura termoestable de 6 hélices (*six helix bundle*), que es fundamental para que se produzca la fusión entre las membranas del VIH y la célula diana⁶⁷. La estructura de 6 hélices está compuesta por un trímero interno, formado por las estructuras en espiral enrolladas de HR1, y otro trímero externo formado por las regiones HR2. Las regiones HR2 se unen de forma antiparalela a las estructuras en espiral enrollada de

HR1 a través de cavidades hidrofóbicas^{12,68}. Las interacciones hidrofóbicas entre las regiones HR1 y HR2 confieren a la estructura de 6 hélices una gran estabilidad. El cambio en energía libre asociado a la formación de la estructura de 6 hélices es lo que suministra la fuerza necesaria para producir la formación de un poro de fusión y, en consecuencia, la entrada de la cápside viral al interior celular⁶⁹ (fig. 6). Este modelo de fusión se había descrito previamente para el virus de la gripe, y en fechas más recientes para otros virus como, por ejemplo, *Coronavirus* causante del síndrome respiratorio agudo^{70,71}.

Fármacos inhibidores de la fusión

Desde principios de la década de los años noventa se conoce la eficacia antiviral de péptidos sintetizados a partir de la secuencia de aminoácidos de las regiones HR1 y HR2 de gp41⁷²⁻⁷⁴. El primer péptido inhibidor descrito, DP-106, se sintetizó a partir de la secuencia de aminoácidos de la región HR1 de gp41⁷². En 1993 se demostró la potencia *in vitro* para inhibir la replicación del VIH de otro péptido, DP-178, en este caso sintetizado a partir de la secuencia de

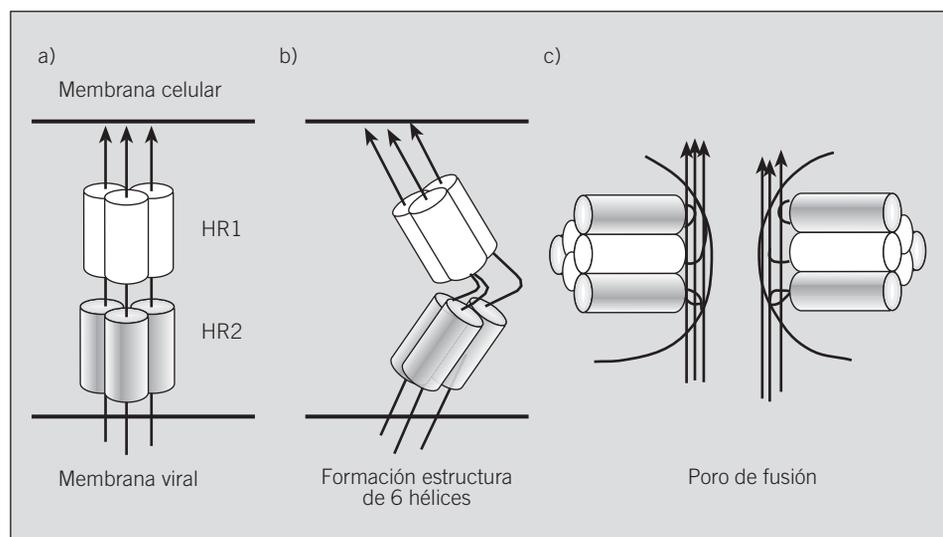


Fig. 6. Esquema del mecanismo de fusión del VIH mediado por gp41: a) trímero de gp41 compuesto de las regiones repetidas HR1 y HR2; b) formación de la estructura de 6 hélices, compuesta por un trímero interno de HR1 y un trímero externo de HR2, y c) fusión de las membranas viral y celular mediante la formación del poro de fusión.

aminoácidos de HR2. Esta última molécula posteriormente se ha denominado T-20 y enfuvirtida⁷⁵. Se trata de un péptido sintético de 36 aminoácidos que mimetiza la región HR2 de gp41^{11,12} (fig. 5) y se ha convertido en el primer inhibidor de la entrada aprobado para el tratamiento de la infección por el VIH. Es activo frente a diferentes aislados del VIH-1 (grupos M y O)^{76,77} y frente a virus con mutaciones de resistencia a los inhibidores de la transcriptasa inversa o de la proteasa^{8,9}. Sin embargo, no es activo frente al VIH-2^{75,78}.

Mecanismo de inhibición de gp41

El modelo más aceptado para explicar cómo los péptidos diseñados sobre la base de las secuencias repetidas HR1 y HR2 de gp41 consiguen una inhibición de la fusión de las membranas viral y celular es el de «inhibición dominante negativo»^{79,80}. Según este modelo, el modo de acción inhibitorio de la enfuvirtida (que mimetiza a HR2) sería por una inhibición competitiva con la región HR2 de gp41 por la unión a la región HR1. De esta forma se impediría la formación de la estructura de 6 hélices, que es fundamental para que se produzca el poro de fusión.

La segunda generación de inhibidores de fusión está representada por T-1249, que, al igual que la enfuvirtida, es un péptido de 39 aminoácidos sintetizado sobre la base de la secuencia de HR2 de gp41, aunque en este caso solapa una región diferente de HR1⁶⁶ (fig. 5). Se ha comprobado que T-1249 es activo frente cepas del VIH resistentes a la enfuvirtida y también frente al VIH-2 y al virus de la inmunodeficiencia en simios^{81,82}. Sin embargo, el desarrollo clínico de este fármaco se interrumpió en enero de 2004.

Resistencia a los inhibidores de la entrada

La experiencia en la práctica clínica demuestra que el tratamiento de la infección por el VIH se enfrenta más pronto o más tarde en la mayoría de los pacientes con el problema de las resistencias⁸³. Por ello, la disponibilidad de una nueva familia de fármacos, como son los inhibidores de la entrada, representa una esperanza para el creciente número de pacientes que han fracasado con otros antirretrovirales. La entrada del VIH en la célula se puede bloquear en 3 momentos: a) la unión de gp120 al receptor celular CD4; b) la unión del complejo gp120-CD4 al receptor de quimiocinas (CCR5 o CXCR4), y c) la fusión de las membranas viral y celular. Los fármacos desarrollados para inhibir estas distintas etapas del proceso de entrada presentan diferentes mecanismos de acción y es de esperar que también seleccionen distintos mecanismos de resistencia.

En el caso de la enfuvirtida, el único inhibidor de la entrada comercializado hasta el momento, la resistencia se produce como consecuencia de la selección de mutaciones en los aminoácidos que se encuentran entre las posiciones 36 y 45 de la región HR1 de gp41 (GIVQQNLL)⁸⁴⁻⁸⁶ (fig. 5). Se ha comunicado un amplio abanico de sensibilidad a la enfuvirtida, tanto en pacientes sin tratamiento previo como en individuos con mutaciones de resistencia al fármaco^{87,88}. Los determinantes de esta variabilidad se desconocen, pero parece que polimorfismos en la región HR2 de gp41 podrían ser las causas⁸⁹. Hay controversia respecto al efecto del tropismo del VIH por los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4 y la sensibilidad a la enfuvirtida. Mientras que algunos estudios *in vitro* han establecido que las cepas del VIH que utilizan CCR5 como correceptor son más resistentes a la enfuvirtida^{90,91}, otros no han encontrado diferencias en la sensibilidad a este fármaco en función del uso del correceptor^{92,93}.

Conclusiones

La familia de los inhibidores de la entrada del VIH marca el comienzo de una nueva era en el tratamiento antirretroviral. La enfuvirtida, que inhibe la fusión del VIH a la célula, es el único inhibidor de la entrada aprobado hasta el momento para el tratamiento de la infección por el VIH. Actualmente se encuentran en fases avanzadas de desarrollo clínico otros fármacos que inhiben diferentes etapas del proceso de entrada viral, como la unión de gp120 al receptor celular CD4 o la unión de gp120 a los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4. Estos nuevos fármacos son activos frente a cepas del VIH que presentan resistencia a los antirretrovirales actuales, de modo que tendrán un papel clave en el rescate de pacientes con fracaso terapéutico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pallela F, Delaney K, Moorman A, Loveless M, Fuhrer J, Satten G, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced HIV infection. HIV outpatient study investigators. *N Engl J Med.* 1998;338:853-60.
2. Shafer R, Winters M, Palmer S, Merigan T. Multiple concurrent reverse transcriptase and protease mutations and multidrug resistance of HIV-1 isolates from heavily treated patients. *Ann Intern Med.* 1998;128:906-11.
3. Little S, Holte S, Routy J, Daar E, Markowitz M, Collier A, et al. Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV. *N Engl J Med.* 2002;347:385-94.
4. Chan D, Kim P. HIV entry and its inhibition. *Cell.* 1998;93:681-4.
5. Doms R. The plasma membrane as a combat zone in the HIV battlefield. *Gen Dev.* 2000;14:2677-88.
6. Fackler O, Peterlin B. Endocytic entry of HIV-1. *Curr Biol.* 2000;10:1005-8.
7. Granelli-Piperno A, Delgado E, Finkel V, Paxton W, Steinman R. Immature dendritic cells selectively replicate macrophage-tropic (M-tropic) HIV type 1, while mature cells efficiently transmit both M- and T-tropic virus to T cells. *J Virol.* 1998;72:2733-7.
8. Lazzarin A, Clotet B, Cooper D, Reynes J, Arastéh K, Nelson M, 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.
9. Lalezari J, Henry M, O'Hearn M, Montaner J, Pillero P, Trottier B, et al. Enfuvirtide, an HIV-1 fusion inhibitor, for drug-resistant HIV infection in North and South America. *N Engl J Med.* 2003;348:2175-85.
10. Hallenberger S, Bosh V, Angliker H, Shaw W, Klenk H, Garten W. Inhibition of furin-mediated cleavage activation of HIV-1 glycoprotein gp160. *Nature.* 1992;360:358-61.
11. Dietrich U. HIV-1 Entry inhibitors. *AIDS Rev.* 2001;3:89-97.
12. Weiss C. HIV-1 gp41: mediator of fusion and target for inhibition. *AIDS Rev.* 2003;5:214-21.
13. Dalgleish A, Beverley P, Clapham P, Crawford D, Greaves M, Weiss R. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature.* 1984;312:763-7.
14. Klatzmann D, Champagne E, Chamaret S, Gruest J, Guetard D, Herculant T, et al. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature.* 1984;312:767-8.
15. Sattentau Q, Weiss R. The CD4 antigen: physiological ligand and HIV receptor. *Cell.* 1988;52:631-3.
16. Hoxie J. Hypothetical assignment of intrachain disulfide bonds for HIV-2 and SIV envelope glycoproteins. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1991;7:495-9.
17. Leonard C, Spellman M, Riddle L, Harris R, Thomas J, Gregory T. Assignment of intrachain disulfide bonds and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant HIV envelope glycoprotein (gp120) expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem.* 1990;265:10373-82.
18. Kowalski M, Potz J, Basiripour L, Dorfman T, Goh W, Terwilliger E, et al. Functional regions of the envelope glycoprotein of HIV type 1. *Science.* 1987;237:1351-5.
19. Lasky L, Nakamura G, Smith D, Fennie C, Shimasaki C, Patzer E, et al. Delineation of a region of the HIV type 1 gp120 glycoprotein critical for interaction with the CD4 receptor. *Cell.* 1987;50:975-85.
20. Madani N, Perdigo A, Srinivasan K, Cox J, Chruma J, LaLone J, et al. Localized changes in the gp120 envelope glycoprotein confer resistance to HIV entry inhibitors BMS-806 and #155. *J Virol.* 2004;78:3742-52.
21. Kwong P, Wyatt R, Robinson J, Sweet R, Sodroski J, Hendrickson W. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature.* 1998;393:648-59.
22. Myszkowski D, Sweet R, Hensley P, Brigham-Burke M, Kwong P, Hendrickson W, et al. Energetics of the HIV gp120-CD4 binding reaction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:9026-31.

23. Allaway G, Davis-Bruno K, Beaudry G, García E, Wong E, Ryder A, et al. Expression and characterization of CD4-IgG2, a novel heterotetramer that neutralizes primary HIV type 1 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1995;11:533-9.
24. Jacobson J, Lowy I, Fletcher C, O'Neill T, Tran D, Ketas T, et al. Single-dose safety, pharmacology and antiviral activity of the HIV type 1 entry inhibitor PRO 542 in HIV-infected adults. *J Infect Dis*. 2000;182:326-9.
25. Castagna A, Biswas P, Beretta A, Lazzarin A. The appealing story of HIV entry inhibitors. From discovery of biological mechanisms to drug development. *Drugs*. 2005;65:879-904.
26. Nagashima K, Thompson D, Rosenfield S, Maddon P, Dragic T, Olson W. HIV type 1 entry inhibitors PRO 542 and T-20 are potentially synergistic in blocking virus-cell and cell fusion. *J Infect Dis*. 2001;183:1121-5.
27. Moore J, Sattentau Q, Klasse P, Burkly L. A monoclonal antibody to CD4 domain 2 blocks soluble CD4-induced conformational changes in the envelope glycoproteins of HIV-1 and HIV infection of CD4+ cells. *J Virol*. 1992;66:4784-93.
28. Vermeire K, Bell T, Chi H, Jin Q, Samala M, Sodoma A, et al. The anti-HIV potency of cyclotriazadisulfonamide analogs is directly correlated with their ability to down-modulate the CD4 receptor. *Mol Pharmacol*. 2003;63:203-10.
29. Vermeire K, Zhang Y, Princen K, Hatse S, Samala M, Dey K, et al. CADA inhibits HIV and human herpesvirus 7 replication by down-modulation of the cellular CD4 receptor. *Virology*. 2002;302:342-53.
30. Lin P, Robinson B, Gong Y, Riccardi Q, Guo C, Deminie C, et al. Identification and characterization of a novel inhibitor of HIV-1 entry - I: virology and resistance [resumen 9]. *Actas de 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2002, febrero 24; Seattle.
31. Lin P, Guo K, Fridell R, Ho H-T, Yamanaka G, Colonna R. Identification and characterization of a novel inhibitor of HIV-1 entry - II: mechanism of action [resumen 10]. *Actas de 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2002, febrero 24; Seattle.
32. Feng Y, Broder C, Kennedy P, Berger E. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*. 1996;272:872-7.
33. Samson M, Labbe O, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning and functional expression of a new human CC-chemokine receptor gene. *Biochemistry*. 1996;35:3362-7.
34. Zhan Y, Lou B, Lal R, Gettice A, Marx P, Moore J. Use of inhibitors to evaluate coreceptor usage by simian and simian/human immunodeficiency viruses and HIV type 2 in primary cells. *J Virol*. 2000;74:6893-910.
35. Connor R, Sheridan K, Ceradini D, Choe S, Landau N. Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1-infected individuals. *J Exp Med*. 1997;185:621-8.
36. Comier E, Dragic T. The crown and stem of the V3 loop play distinct roles in HIV type 1 envelope glycoprotein interactions with the CCR5 coreceptor. *J Virol*. 2002;76:8953-7.
37. Sakaida H, Hori T, Yonezawa A, Sato A, Isaka Y, Yoshie O, et al. T-tropic HIV-1-derived V3 loop peptides directly bind to CXCR4 and inhibit T-tropic HIV-1 infection. *J Virol*. 1998;72:9763-70.
38. Dragic T, Trkola A, Lin S, Nagashima F, Zhao L, Olson W, et al. Amino-terminal substitutions in the CCR5 coreceptor impair gp120 binding and HIV type 1 entry. *J Virol*. 1998;72:279-85.
39. Wu L, LaRosa G, Kassam N, Gordon C, Heath H, Ruffing N, et al. Interaction of chemokine receptor CCR5 with its ligands: multiple domains for HIV-1 gp120 binding and a single domain for chemokine binding. *J Exp Med*. 1997;186:1373-81.
40. Picard L, Wilkinson D, McKnight A, Gray P, Hoxie J, Clapham P, et al. Role of the amino-terminal extracellular domain of CXCR4 in HIV type 1 entry. *Virology*. 1997;231:105-11.
41. Tsamis F, Gavrillov S, Kajumo F, Seibert C, Kuhmann S, Ketas T, et al. Analysis of the mechanism by which the small-molecule CCR5 antagonists SCH-31125 and SCH-350581 inhibit HIV type 1 entry. *J Virol*. 2003;77:5201-8.
42. Watson C, Jenkinson S, Kazmierski W, Kenakin T. The CCR5 receptor-based mechanism of action of 873140, a potent allosteric noncompetitive HIV entry inhibitor. *Mol Pharmacol*. 2003;67:1268-82.
43. Murakami T, Nakajima T, Koyanagi Y, Tachibana K, Fujii N, Tamamura H, et al. A small molecule CXCR4 inhibitor that blocks T cell line-tropic HIV-1 infection. *J Exp Med*. 1997;186:1389-93.
44. Donzella G, Schols D, Lin S, Este J, Nagashima K, Maddon P, et al. AMD3100, a small molecule inhibitor of HIV-1 entry via the CXCR4 coreceptor. *Nature Med*. 1998;4:72-7.
45. Labrosse B, Brelot N, Heveker N, Sol D, Schols E, De Clercq E, et al. Determinants for sensitivity of HIV coreceptor CXCR4 to the bicyclam AMD3100. *J Virol*. 1998;72:6381-8.
46. Loetscher M, Geiser T, O'Reilly T, Zwahlen R, Baggiolini M, Moser B. Cloning of human seven-transmembrane domain receptor, LESTR, that is highly expressed in leukocytes. *J Biol Chem*. 1994;269:232-7.
47. Brelot A, Heveker N, Pleskoff O, Sol N, Alizon M. Role of the first and third extracellular domains of CXCR4 in HIV coreceptor activity. *J Virol*. 1997;71:4744-51.
48. Baba M, Nishimura O, Kanzaki N, Okamoto M, Sawada H, Iizawa Y, et al. A small-molecule, nonpeptide CCR5 antagonist with highly potent and selective anti-HIV-1 activity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:5698-703.
49. Dragic T, Trkola A, Thompson D, Comier E, Kajumo F, Maxwell E, et al. A binding pocket for a small molecule inhibitor of HIV-1 entry within the transmembrane helices of CCR5. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:5639-44.
50. Iizawa Y, Kanzaki N, Takashima K, Miyake H, Tagawa Y, Sugihara Y, et al. Anti-HIV-1 activity of TAK-220, a small molecule CCR5 antagonist [resumen 11]. *Actas de 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2003, febrero 10-14; Boston.
51. Baba M, Kanzaki N, Miyake H, Wang X, Takashima K, Teshima K, et al. RAK-652, a novel small molecule inhibitor of CCR5 antagonist with potent anti-HIV-1 activity [resumen 541]. *Actas de 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2003, febrero 10-14; Boston.
52. Trkola A, Ketas T, Nagashima K, Zhao L, Cilliers T, Morris L, et al. Potent, broad-spectrum inhibition of HIV type 1 by the CCR5 monoclonal antibody PRO 140. *J Virol*. 2001;75:579-88.
53. Hitchcock C. The discovery and exploratory development of UK-427,857: a novel CCR5 antagonist for the treatment of HIV [resumen OP 4.5]. *Actas de 13th International Symposium on HIV and Emerging Infectious Diseases*; 2004, junio 3-5; Toulon.
54. De Clercq E. New approaches toward anti-HIV chemotherapy. *J Med Chem*. 2005;10:241-74.
55. Fätkenheuer G, Pozniak A, Johnson M, Plettenberg A, Staszewski S, Hoepelman I, et al. Evaluation of dosing frequency and food effect on viral load reduction during short-term monotherapy with UK-427,857, a novel CCR5 antagonist [resumen B4489]. *Actas de 15th International AIDS Conference*; 2004, julio 11-16; Bangkok.
56. Castonguay L, Weng Y, Adolfsen W, Di Salvo J, Kilburn R, Caldwell C, et al. Binding of 2-aryl-4-(piperidin-1yl)butanamines and 1, 3, 4-trisubstituted pyrrolidines to human CCR5: a molecular modeling-guide mutagenesis study of the binding pocket. *Biochemistry*. 2003;42:1544-50.
57. Maeda K, Nakata H, Miyakawa T, Gata H, Takaoka Y, Shibayama S, et al. Spirodiketopiperazine-based CCR5 inhibitor, which preserves CC chemokine/CCR5 interactions and exerts potent activity against R5 HIV type 1 *in vitro*. *J Virol*. 2004;78:8654-62.
58. Nakata H, Maeda K, Kawano Y, Miyakawa T, Shibayama S, Matsuo M, et al. Potent *in vivo* anti-R5HIV effects of AK602, a novel spirodiketopiperazine (SPD)-containing HIV-specific CCR5 inhibitor, in hu-PBMC-NOD-mice [resumen 564a]. *Actas de 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2003, febrero 10-14; Boston.
59. Maeda K, Ogata H, Harada S, Miyakawa T, Nakata H, Koh Y, et al. Determination of binding sites of a unique CCR5 inhibitor AK602 /ONO-4128/ GW873140 on human CCR5 [resumen 540]. *Actas de 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2004, febrero 8-11; San Francisco.
60. Schols D, Claes S, De Clercq E, Hendrix C, Bridger G, Calandra G, et al. AMD-3100, a CXCR4 antagonist, reduced HIV viral load and X4 virus levels in humans [resumen 2]. *Actas de 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2002, febrero 24-28; Seattle.
61. Schols D, Claes S, Hatse S, Princen K, Vermeire K, De Clercq E, et al. Anti-HIV activity profile of AMD070, an orally bioavailable CXCR4 antagonist [resumen A39]. *Actas de 16th International Conference on Antiviral Research*; 2003, abril 27 a mayo 1; Savannah.
62. Ichiyama K, Yokoyama-Kumakura S, Tanaka Y, Tanaka R, Hirose K, Bannai K, et al. A diodienally absorbable CXC chemokine receptor 4 antagonist, KRH-1636, exhibits a potent and selective anti-HIV-1 activity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:4185-90.
63. Murakami E, Yoshida A, Kumakura S, Tanaka R, Mitsuhashi S, Hirose K, et al. KRH-2731: an orally bioavailable CXCR4 antagonist *in vivo* [resumen LbA01]. *Actas de 15th International AIDS Conference*; 2004, julio 11-16; Bangkok.
64. Albert T. Structure of the leucine zipper. *Curr Opin Gen Dev*. 1992;2:205-10.
65. Schulz T, Jameson B, Lopalco L, Siccarche A, Weiss R, Moore J. Conserved structural features in the interaction between retroviral surface and transmembrane glycoproteins. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1992;8:1571-80.
66. Kilby J, Eron J. Novel therapies based on mechanisms of HIV-1 cell entry. *N Engl J Med*. 2003;348:2228-38.
67. Lu M, Blacklow S, Kim P. A trimeric structural domain of the HIV-1 transmembrane glycoprotein. *Nature Struct Biol*. 1995;2:1075-82.
68. Cammack N. The potential for HIV fusion inhibition. *Curr Opin Infect Dis*. 2001;14:13-6.
69. Melikian G, Kosmosyan R, Hemmati H, Delmedico M, Lambert D, Cohen F. Evidence that the transition of HIV-1 gp41 into a six-helix bundle, not the bundle configuration, induces membrane fusion. *J Cell Biol*. 2000;151:413-23.
70. Carr C, Kim P. A spring-loaded mechanism for the conformational change of influenza hemagglutinin. *Cell*. 1993;73:823-32.
71. Kliger Y, Levanon E. Cloaked similarity between HIV-1 and SARS-CoV suggest an anti-SARS strategy. *BMC Microbiol*. 2003;3:20.
72. Wild C, Oas T, McDanal D, Bolognesi D, Matthews T. A synthetic peptide inhibitor of HIV replication: correlation between solution structure and viral inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:10537-41.
73. Wild C, Shugars D, Greenwell T, McDanal D, Matthews T. Peptides corresponding to a predictive alpha-helical domain of HIV type 1 are potent inhibitors of virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:9770-4.
74. Jiang S, Li K, Strik N, Neurath A. HIV-1 inhibition by a peptide. *Nature*. 1993;365:113.

75. Wild C, Greenwell T, Matthews T. A synthetic peptide from HIV-1 gp41 is a potent inhibitor of virus mediated cell-cell fusion. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1993;9:1051-3.
76. Poveda E, Rodés B, Toro C, Soriano V. Are fusion inhibitors active against all HIV variants? *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2004;20:347-8.
77. Poveda E, Barreiro P, Rodés B, Soriano V. Enfuvirtide is active against HIV-1 type 1 group O. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005;21:583-5.
78. Witvrouw M, Pannecouque C, Switzer W, Folks T, De Clercq E, Heneine W. Susceptibility of HIV-2, SIV and SHIV to various anti-HIV-1 compounds: implications for treatment and postexposure prophylaxis. *Antivir Ther*. 2004;9:57-65.
79. Wild C, Greenwell T, Shugars D, Rimsky-Clarke L, Matthews T. The inhibitory activity of an HIV type 1 peptide correlates with its ability to interact with a leucine zipper structure. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1995;11:323-5.
80. Chen C, Matthews T, McDanal C, Bolognesi D, Greenberg M. A molecular clasp in the HIV type 1 TM protein determines the anti-HIV activity of gp41 derivatives: implications for viral fusion. *J Virol*. 1995;69:3771-7.
81. Miralles G, Lalezari J, Bellos N, Richmond G, Zhang Y, Murchison H, et al. T-1249 demonstrates potent antiviral activity over 10-day dosing in most patients who have failed a regimen containing enfuvirtide: planned interim analysis of T1249-102, a phase I/II study [resumen 141b]. *Actas de 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2003, febrero 10-14; Boston.
82. Melby T, Zhang Y, Cammack N, Greenberg M, Miralles G. Genotypic and phenotypic evolution of virus envelope through 48 weeks of T-1249 treatment in the T1249-105 study [resumen 69]. *Actas de XIV International HIV Drug Resistance Workshop*; 2005, junio 7-11; Quebec.
83. Clavel F, Hance A. HIV drug resistance. *N Engl J Med*. 2004;350:1023-35.
84. Wei X, Decker J, Liu H, Zhang Z, Arani R, Kilby J, et al. Emergence of resistant HIV type 1 in patients receiving fusion inhibitor (T-20) monotherapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1896-905.
85. Greenberg M, Cammack N. Resistance to enfuvirtide, the first HIV fusion inhibitor. *J Antimicrob Chemother*. 2004;54:333-40.
86. Poveda E, Rodés B, Labernardière JL, Benito JM, Toro C, González-Lahoz J, et al. Evolution of genotypic and phenotypic resistance to enfuvirtide in HIV-infected patients experiencing prolonged virologic failure. *J Med Virol*. 2004;74:21-8.
87. Labrosse B, Labernardière J, Dam E, Trouplin V, Skrabal K, Clavel F, et al. Baseline susceptibility of primary HIV-1 to entry inhibitors. *J Virol*. 2003;77:1610-3.
88. Sista P, Melby T, Davison D, Jin L, Mosier S, Mink M, et al. Characterization of determinants of genotypic and phenotypic resistance to enfuvirtide in baseline and on-treatment HIV-1 isolates. *AIDS*. 2004;18:1787-94.
89. Stanfield-Oakley S, Jeffrey J, McDanal C, Mosier S, Talton L, Jin L, et al. Determinants of susceptibility to enfuvirtide map to gp41 in enfuvirtide-naïve HIV-1. *Antivir Ther*. 2003;8:S22.
90. Derdeyn C, Decker J, Sfakianos J, Zhang Z, O'Brian W, Ratner L, et al. Sensitivity of HIV type 1 to fusion inhibitors targeted to the gp41 first heptad repeat involves distinct regions of gp41 and is consistently modulated by gp120 interactions with the coreceptor. *J Virol*. 2001;75:8605-14.
91. Reeves J, Gallo S, Ahmad N, Miamidian J, Harvey P, Sharron M, et al. Sensitivity of HIV-1 to entry inhibitors correlates with envelope/coreceptor affinity, receptor density, and fusion kinetics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:16249-54.
92. Whitcomb J, Huang W, Fransen S, Wrin T, Paxinos E, Toma J, et al. Analysis of baseline enfuvirtide (T-20) susceptibility and co-receptor tropism in two phase III study populations [resumen 557]. *Actas de 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2003, febrero 10-14; Boston.
93. Su C, Heilek-Snyder G, Fenger D, Ravindran P, Tsai K, Cammack N, et al. The relationship between susceptibility to enfuvirtide of baseline viral recombinants and polymorphisms in the env region of R5-tropic HIV-1. *Antivir Ther*. 2003;8:S59.