

TERAPIA HIV CU INHIBITORI DE INTRARE (E.I.)

Prof. Dr. Lucian Negruțiu

*Clinica I Boli Infecțioase,
Universitatea de Medicină și Farmacie, Timișoara, România.*

REZUMAT

Dezvoltarea unor tulpini de HIV multi-drog rezistente față de terapia antiretrovirală (TARV) impune căutarea unor noi clase de medicamente capabile să inhibe penetrarea intracelulară a HIV. Lucrarea de față reprezintă o trecere actuală în revistă a noilor clase de ARV denumite generic „inhibitori de intrare” (E.I.).

Cuvinte cheie: ARV, inhibitori de intrare, HIV, gp120, gp41

ABSTRACT

The development of HIV samples multi-drug resistant to the ARV therapy imposed the research of new classes of antiviral drugs, which are able to inhibit the entry mechanisms of virus into host-cells. This work represents a general review on these new drugs, named „the entry inhibitors”(E.I.).

Key words: ARV, entry inhibitors, HIV, gp120, gp41

INTRODUCERE

Datorită dezvoltării rezistenței multiple și progresive a HIV față de multiplele clase de medicamente anti-retrovirale (ARV) utilizate la ora actuală, al căror mod de acțiune inhibitorie se efectuează, intracelular, asupra enzimelor virale de tipul reverstranscriptazelor, proteazelor, etc. a devenit necesară găsirea unor noi modalități de abordare terapeutice – prin blocarea atașării și penetrării intracelulare a HIV, deci înainte ca acesta să poată pătrunde și să se replice în interiorul celulei-gazdă. Atât anvelopa cât și proteinele celulare de suprafață implicate în penetrarea (intrarea) virusului în celula-gazdă se constituie în ținte terapeutice pentru noile clase de antiretrovirale, denumite global „inhibitori de intrare” (E.I.). Pentru înțelegerea mecanismelor de acțiune ale terapiei cu E.I. e necesar să ne reamintim, pe scurt, câteva din etapele dinamicii, prin care HIV infectează celula-gazdă.

DINAMICA INFECȚIEI CELULARE CU HIV

Infecția cu HIV a celulei-gazdă parcurge mai multe etape:

1. Atașarea HIV la membrana celulei-gazdă prin cuplarea proteinei virale *env*- domeniul *gp120*

– cu receptorul membranelor CD4. Molecula de CD4 este considerată principalul receptor pentru cuplarea HIV cu celula-gazdă.

2. Cuplarea gp 120 se face cu unul din cei 2 coreceptori ai gazdei, în funcție de tropismul tulpinii HIV –infecțante:

- CCR5- tulpinile „R5-tropice“
- CXCR4- tulpinile „X4-tropice“ sau, pentru anumite grupe populaționale, determinate genetic: R5/X4 – HIV-1 – „tulpini dual tropice“

Legarea virusului de receptorul CD4 – produce modificări structurale ale proteinei Env/sub-unitatea gp 120, ce devine capabilă să se cupleze cu unul din cei 2 coreceptori, CCR5 sau CxCR4.

Coreceptorii sunt veritabili triggeri pentru realizarea modificărilor conformaționale finale ce vor media fuziunea dintre membranele celulare și cele virale.

Alți receptori chemokinici utilizați de HIV pentru a realiza intrarea în celula- gazdă sunt:

- CCR3, BOB/GPR15, Bonzo/ STRL33/ TYMSTR,
- CCR2, CCR8, CX3CR1/V28 & GPR1, etc.

Distribuția receptorilor R5 și X4 are un determinism genetic populațional, transmis de la

parentali la genitori, sub formă heterozigotă sau homozigotă, fapt ce determină evoluția sub terapie a pacienților, definiți ca *normo*, *mediu* sau *long progresori*.

Cuplarea HIV la celula-gazdă se face în prezența Ag celulare HLA- clasa II.

3. Fuziunea intermembranară și penetrarea în celula-gazdă implică participarea celor două domenii ale glicoproteinelor membranare ale HIV:

- Subunitatea/domeniul **gp120** al *env* este responsabilă de legarea de receptor.
- Subunitatea **gp41** traversează membrana/anelopa virală și formează baza subunității gp120, pe care sunt poziționate subunitățile gp120.
- Subunitatea gp41 produce reacția și „complexul de fuziune” prin care anvelopa HIV se contopește cu membrana gazdei, deversându-și conținutul în citoplasma celulei-gazdă.

Administrarea de IE determină, în timp, conversii selective ale coreceptorilor utilizați de HIV, de obicei de la R5 la X4, limitând eficacitatea terapiei.

INHIBITORII DE INTRARE, DE CE?

1. Pentru că terapia actuală se limitează doar la asocieri de ARV (IRT & IPs), ce produc inhibarea

câtorva enzime necesare replicării intracelulare a HIV, față de care s-au produs, în timp, multiple mutante virale de rezistență. De exemplu:

- (AZT/3TC/ABC) – combinație mai puțin durabilă decât AZT/3TC/PI sau NNRTI)
- (D4T; ABC + Tenofovir; DDI + D4T; DDC + DDI)

2. O serie de efecte secundare ale TARV utilizate până acum pot conduce la evenimente indzirabile, precum: rezistența la HAART, efecte toxice secundare și metabolice care vor induce progresiv situații critice pentru pacienți. La acestea se adaugă:

- Cross-rezistență tot mai frecventă – (TAMs, NNRTIs, etc)
- Cross-intoleranță tot mai accentuată (neuropatie, tulburări GI, efecte metabolice secundare, reacții adverse)
- Combinațiile terapeutice compatibile de tip HAART sunt relativ limitate prin interferențe și efecte toxice/metabolice cumulative. Combinații compatibile sunt relativ reduse. Ex: (AZT + D4T; ABC + Tenofovir; DDI + D4T; DDC + DDI)

3. Ca urmare, soluțiile TARV actuale converg spre sinteza unor noi ARV cu mecanisme potente de acțiune. (Figura 2)

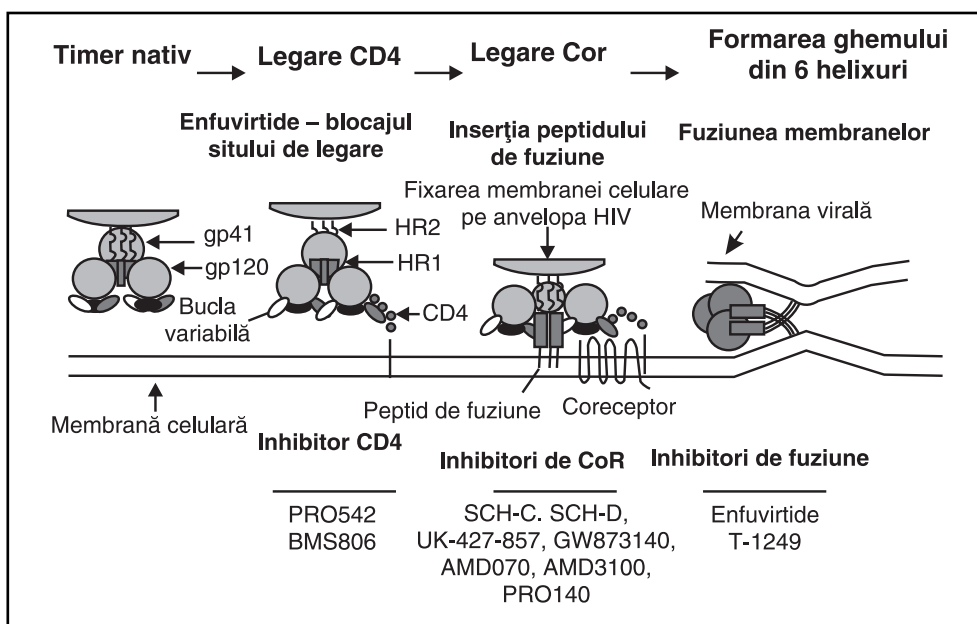


Figura 1.
Inhibitorii de intrare și modul lor de acțiune

Rezistența la HAART, efectele toxice secundare și cele metabolice induc continuu situații critice. Pentru a ieși din criză: noi ARV, printre care și INHIBITORII DE INTRARE

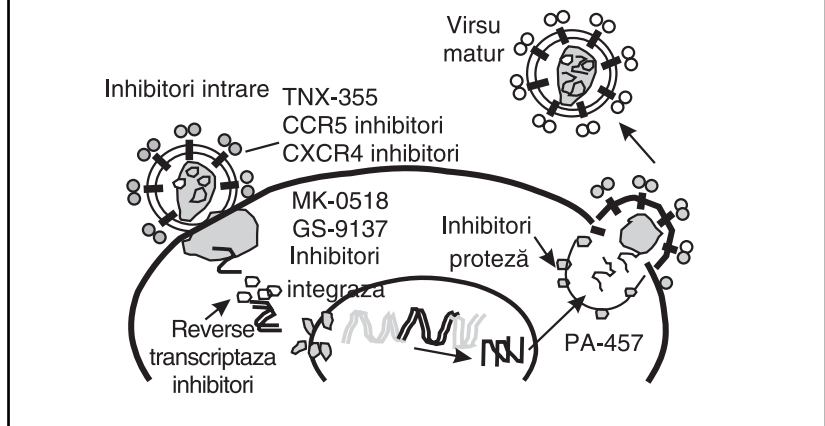


Figura 2.

Motivația găsirii unor noi variante de medicamente ARV

Medicament	Mecanism de acțiune	Stadiul studiului clinic
Inhibitori CD4-gp120		
TNX-335	Ac monoclonal anti CD4	Fază I
PRO-542	Ac recombinant tetraivalent Ig2-CD4	Fază II
BMS-378806	Previne modificările conformaționale ale gp120	Stadiu preclinic
Antagoniști CCR5		
CCR5mAb004	Ac monoclonal anti CCR5	Fază I
PRO-140	Ac monoclonal anti CCR5	Faza I finalizata
Maraviroc (UK-427,857)	Leagă domeniile transmembranare ale CCR5	Faze II, III
Vicriviroc (SCH-D)	Leagă domeniile transmembranare ale CCR5	Fază II
Antagoniști CXCR4		
AMD 11070	Se leagă de CXCR4	Fază I, II
Inhibitori de fuziune		
Enfuvirtide	Mimează regiunea HR2 a gp41; blochează formarea structurii helicale 6	Aprobat FDA/SUA ?i în Europa Utilizat și în Romania
Compuși cu noi moduri de acțiune		
Suc-HSA	Se leagă de bucla V3 a gp120	Fază I, II
Sp01A	Poate modifica colesterolul conținut în membrana virală	Fază II
Aplaviroc		1.Studiu clinic efectuat pe pacienți R5 naivi 2.Studiu clinic efectuat pe pacienți experimentați ARV Ambele studii au fost stopate din cauza hepatotoxicității

Figura 3.

Stadiul experimentării clinice a noilor inhibitori de intrare

Există, în diverse stadii ale experimentării in vitro sau in vivo/animale de laborator, și alte molecule terapeutice cu funcție inhibitorie asupra mecanismelor de intrare intracelulară ale HIV. Dintre acestea, amintim:

Derivații Beta-Chemokinici

RANTES, MIP-1-alpha, MIP-1-beta – inhibă HIV in vitro (Cocchi Science 1995; Pal /Science 1997; Arenzana /Nature 1996). Sunt mediatori ai inflamației & chemotaxici și liganzi ai receptorului CCR5.

Inhibitorul T-1249 & alții

T-1249 – este un peptid format din 39 Aac (neintrat încă în studiu clinic), care se leagă de o regiune a domeniului HR1 ce se suprapune cu situl de legare al enfuvirtidului, devenind activ față de HIV-1 & HIV-2 sau față de virusul SIV.

Au fost studiați și alți inhibitori de fuziune – peptide mimetice – spre ex.:

T-649 – prezintă omologie cu regiunea HR2 a gp41, blocând formarea structurilor „hairpin“, similar ca acțiune, enfuvirtidului.

Peptidul C34 – prezintă omologie cu o regiune care realizează bucla 6-helix, blocându-i astfel, formarea.

Peptidul D – o moleculă ciclică creată pentru a se lega de „regiunea-buzunar“ situată între structurile 6 helicale.

Peptidul DP-107 – prezintă omologie cu domeniul HR1 ce se leagă de HR2.

Alți inhibitori

– **5 helix** – previne formarea buclei 6 helix prin sechestrarea uneia dintre elicele necesare pentru formarea 6 helixului

– **RPR 103611** – compus triterpenic, non-peptidic care țintește regiunea-bucă a celor 2 componente ale „fermoarului“ de leucină din componența gp41 și disrupe asocierea dintre gp120-gp41 a virusurilor HIV- CXCR4 tropice.

„Succesorii“ Enfuvirtidului

Se testează în prezent 2 generații noi de peptide inhibitoare de fuziune propuse pentru intrare în experiment preclinic pentru finele anului 2006 (Roche & Trimeris): **TRI-99 și TRI-1144**.

Acești compuși posedă:

- o puternică activitate antivirală, stopând durabil replicarea HIV, *in vitro*.
- proprietăți farmacologice dezirabile, *in vivo*, permițând administrarea unei singure doze/săptămână.
- au o acțiune puternică, *in vitro*, asupra tulpinilor-HIV, sensibile la Fuzeon și, fapt deosebit de important, asupra tulpinilor puternic-rezistente, *in vitro*, la Enfuvirtide.

Compuși de tip CADA

CADA – o nouă clasă de molecule de mici dimensiuni, ce fac parte din familia cyclootriaza-disulfonamidelor, acționând ca agenți antivirali. Componentul principal al acestei familii, CADA, conține un macrociclu sintetic cu puternică activitate adaptată, *in vitro*, față de izolatele clinice de HIV-1, fără a ține cont de tipul de receptori chemokinici. CADA este un activ inhibitor față de toate virusurile drog-rezistente (ex. virusuri rezistente la NRTI/NNRTI, PI și chiar enfuvirtide), față de diferite subtipuri de HIV-1 (A,B,C,D, A/E, F, H,O) și față de variate tulpini de HIV-2 sau SID.

S-a descoperit că mecanismul anti-HIV prin care acționează CADA implică interacțiuni specifice cu receptorii celulari CD4, realizând o reducere a gradientului de densitate al receptorilor CD4 de pe suprafața și interiorul celulei, mecanism aproape unic și nedescris pentru ceilalți compuși chimici din aceeași clasă.

Moleculele CADA prezintă imunologic o serie de proprietăți care le conferă o largă paletă de utilizare în testele de laborator și probabil, într-un viitor nu prea îndepărtat și în clinică.

CONCLUZII

1. Inhibitorii de intrare reprezintă o mare promisiune terapeutică pentru viitorul imediat, mai ales în contextul actual, tot mai grevat de efectele secundare și rezistența față de actuala terapie ARV folosită uzual.

2. În ciuda unor rezistențe decelate *in vitro*, dar și *in vivo* inclusiv față de Enfuvirtid – primul E.I. aprobat de forurile internaționale și intrat în uzul clinic uman, soluția blocării penetrării HIV în celulele-gază pare a fi o modalitate ce va evita apariția rezistențelor încrucișate dintre ARV, deschizând perspective terapeutice ce implică mijloacele geneticai moleculare.

3. Rezultatul celor mai recente studii prezentate la Congresul Mondial HIV/SIDA de la Toronto, August, 2006, privind regimurile HAART, ce asociază Enfuvirtid + Darunavir sau Tipranavir, la pacienții mulți – experimentați arată că acestea au produs reduceri ale sarcinii virale sub 50 copii/mL, deschizând calea spre noi abordări terapeutice.

BIBLIOGRAFIE

1. Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, et al – Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996; 381:661-666.
2. Tersmette M, de Goede R, Al B, Winkel I, Gruters R, Cuypers H, et al – Differential syncytium-inducing capacity of HIV isolates: frequent detection of syncytium-inducing isolates in patients with AIDS and AIDS-related complex. *J Virol* 1988; 62:2026-2032.
3. Koot M, Keet I, Vos A, de Goede R, Roos M, Coutinho R – Prognostic value of HIV-1 syncytium-inducing phenotype for rate of CD4R cell depletion and progression to AIDS. *Ann Intern Med* 1993; 118:681-688.
4. Maeda K, Nakata H, Ogata H, Koh Y, Miyakawa T, Mitsuya H – The current status of, and challenges in, the development of CCR5 inhibitors as therapeutics for HIV-1 infection. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4:447-452.
5. Seibert C, Sakmar T – Small-molecule antagonists of CCR5 and CXCR4: A promising new class of anti-HIV drugs. *Curr Pharm Des* 2004; 10:2041-2062.
6. Westby M, Whitcomb J, Huang W, James I, Abel S, Petropoulos C, et al. – Reversible predominance of CXCR4 utilizing variants in a non-responsive dual tropic patient receiving the CCR5 antagonist UK-427,857. Eleventh Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. San Francisco, February 2004 [abstract 538].
7. Kitrinou K, LaBranche C, Stanhope M, Madsen H, Demarst J. – Clonal analysis detects pre-existing R5X4-tropic virus in a patient demonstrating population-level tropism shift on 873140 monotherapy. *Antivir Therapy* 2005; 10 (suppl):68.
8. Dietrich U – HIV-1 entry inhibitors. *AIDS Rev* 2001; 3:89-97.
9. 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.
10. 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; 76:8953-8957.
11. 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; 186:1373-1381.
12. Picard L, Wilkinson D, McKnight A, Gray P, Hosie J, Clapham P, et al. – Role of the amino-terminal extracellular domain of CXCR4 in HIV type 1 entry. *Virology* 1997; 231:105-111.
13. Connor R, Sheridan K, Ceradini D, Choe S, Landay N – Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1-infected individuals. *J Exp Med* 1997; 185:621-628.
14. G, Smith M, Allikmets R, et al. – Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study. *Science* 1996; 273:1856-1862.
15. Liu R, Paxton W, Choe S, Ceradini D, Martin S, Horuk R, et al. – Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 1996; 86:367-377.
16. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber C, et al. – Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996; 382:722-725.
17. Moore J, Kitchen S, Pugach P, Zack J – The CCR5 and CXCR4 coreceptors-central to understanding the transmission and pathogenesis of HIV type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004; 20:111-126.
18. Kuhmann S, Moore J – The HIV-1 phenotypic variants: deadly and deadlier. *J Viral Entry* 2005; 1:4-16.
19. De Mendoza C, Rodriguez C, Leiva P, Garcia F, Eirós JM, Corral A, et al. – Prevalence of X4 viruses in recent HIV-1 seroconverters. Influence of the route of transmission and impact on outcome. Thirteenth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Denver, CO, February 2006 (in press).
20. Frank I, Pope M – The enigma of dendritic cell-HIV interplay. *Curr Mol Med* 2002; 2:229-248.
21. Jenkis M, Khoruts A, Ingulli E, Mueller D, McSorley S, Reinhardt R, et al. – In vivo activation of antigen-specific CD4 T cells. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:23-45.
22. Malkevitch N, McDermott D, Yi J, Grivel JC, Schols D, De Clercq E, et al. – Coreceptor choice and T cell depletion by R5, X4, and R5X4 HIV-1 variants in CCR5-deficient (CCR5D32) and normal human lymphoid tissue. *Virology* 2001; 281:239-247.
23. Jansson M, Backstrom E, Bjorndan A, Holmberg V, Rossi P, Fenyo E, et al. – Co-receptor usage and RANTES sensitivity of non-syncytium-inducing HIV-1 isolates obtained from patients with AIDS. *J Hum Virol* 1999; 2:325-338.
24. Koning F, Kwa D, Boeser-Nunnink B, Dekker J, Vingerhoed J, Hiemstra H, et al. – Decreasing sensitivity to RANTES (regulated on activation, normally T cell-expressed and -secreted) neutralization of CC chemokine receptor 5-using, non-syncytium-inducing virus variants in the course of HIV type 1 infection. *J Infect Dis* 2003; 188:864-872.
25. Karlsson L, Antonsson L, Shi Y, Oberg M, Karlsson A, Albert J, et al. – Co-evolution of RANTES sensitivity and mode of CCR5 receptor use by HIV type 1 of the R5 phenotype. *J Virol* 2004; 78:11807-11815.
26. Kwa D, Vingerhoed J, Boeser B, Schuitemaker H – Increased in vitro cytopathicity of CC chemokine receptor 5-restricted HIV type 1 primary isolates correlates with a progressive clinical course of infection. *J Infect Dis* 2003; 187:1397-1403.
27. Delobel P, Sandres-Sauné K, Cazabat M, Pasquier C, Marchou B, Massip P, et al. – R5 to X4 switch of the predominant HIV-1 population in cellular reservoirs during effective highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38:382-392.
28. M, Carpenter C, et al. – Treatment for adult HIV infection 2004 recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2004; 292:251-265.
29. Hellier S, Frodsham A, Henning B, Klenerman P, Knapp S, Ramaley P, et al. – Association of genetic variants of the chemokine receptor CCR5 and its ligands, RANTES and MCP-2, with outcome of HCV infection. *Hepatology* 2003; 38:1468-1476.
30. Meg.M. Laakso, R. W. Doms – The molecular Basis of HIV Entry and its Inhibition. *The Journal of Viral Entry*. Vol 2. nr.1 2006;4:12.
31. Vincent T, Portales P, Bailat V, Merle de Boever C, Le Moing V, Vidal M, et al. – T-cell surface CCR5 density is not correlated with hepatitis severity in Hepatitis C virus/HIV-coinfected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38:305-309.
32. Reeves J, Piefer A – Emerging drug targets for antiretroviral therapy. *Drugs* 2005; 65:1747-1766.
33. Dunkle L, Keung A, Sansone A, Strizki J – Vicriviroc is a novel, potent CCR5 inhibitor with pharmacologic, pharmacokinetic and pharmacodynamic (PK/PD) properties that support once daily dosing. First International Workshop on Targeting HIV entry. Bethesda MD, USA, December 2005 [abstract 13].
34. Blanco F – Discontinuation of Atravirac trials due to hepatotoxicity. *AIDS Rev* 2005; 7:182.
35. Trkola A, Kuhmann S, Strizki J, Maxwell E, Ketas T, Morgan T, et al. – HIV-1 escape from a small molecule, CCR5-specific entry inhibitor does not involve CXCR4 use. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:395-400.
36. Kuhmann S, Pugach P, Kunzman K, Taylor J, Standfield R, Snyder A, et al. – Genetic and phenotypic analyses of HIV type 1 escape from a small-molecule CCR5 inhibitor. *J Virol* 2004; 78:2790-2807.
37. Louder M, Mascola J – Determination of syncytium-inducing phenotype of primary HIV-1 isolates using MT-2 cells. In HIV Protocols. Edited by Nelson M, Kim JH. New York Human Press; 1999:23-27.
38. Princen K, Hatse S, Vermeire K, De Clercq E, Schols D – Establishment of a novel CCR5 and CXCR4 expressing CD4R cell line which is highly sensitive to HIV and suitable for highthroughput evaluation of CCR5 and CXCR4 antagonists. *Retrovirology* 2004; 1:2-9.
39. Coakley E, Petropoulos C, Whitcomb J – Assessing chemokine co-receptor usage in HIV. *Curr Opin Infect Dis* 2005; 18:9-15.
40. Labernardiere J, Lebel-Binay S, Faudon JL, Holguin A, Soriano V, Cheret A – Tropism determination and performance of Phenoscript HIV-1 entry inhibitors assay. *Antivir Ther* 2004; 9:S141.
41. Labrosse B, Labernardier JL, Dam E, Trouplin V, Skrabal K, Clavel F, et al. – Baseline susceptibility of primary HIV-1 to entry inhibitors. *J Virol* 2003; 77:1610-1613.
42. Poveda E, Rodés B, Labernardiere 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; 74:21-28.

43. **Westby M, Mori J, Smith-Burchnell C, Lewis M, Mosley M, Perruccio F, et al.** – Maraviroc (UK-427,857)-resistant HIV-1 variants are sensitive to CCR5 antagonist and enfuvirtide. *Antivir Ther* 2005; 10 (1):S72.
44. **Lalezari J, Thompson M, Kumar P, Piliero P, Davey R, Patterson K, et al.** – Antiviral activity and safety of 873140, a novel CCR5 antagonist, during short-term monotherapy in HIV-infected adults. *AIDS* 2005; 19:1443-1448.
45. **Jensen M, van't Wout A** – Predicting HIV-1 coreceptor usage with sequence analysis. *AIDS Rev* 2003; 5:104-112.
46. **Pillai S, Good B, Richman D, Corbeil J** – A new perspective on V3 phenotype prediction. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003; 19:145-149.
47. **Sing T, Beerenwinked N, Lengaver T** – Learning mixtures of localized rules by maximizing the area under the ROC curve. 16th European Conference on Artificial Intelligence (ECAI) Workshop on ROC Analysis in AI, 2004.
48. The XVI International AIDS Conference, 13 Aug. 2006, Toronto, Symposium. *CCR5 Antagonists: Taking the Battle Outside the cell.*