

# OS RECEPTORES DAS QUIMIOCINAS E A SUA IMPORTÂNCIA NO CICLO REPLICATIVO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA Implicações Clínicas e Terapêuticas

J.M. AZEVEDO-PEREIRA, Q. SANTOS-COSTA

## RESUMO

A infecção das células alvo, por parte do vírus da imunodeficiência humana (VIH), inicia-se pela ligação da glicoproteína externa (SU) do invólucro viral a receptores específicos presentes na membrana da célula. Um desses receptores é a molécula CD4, a qual pode ser encontrada nos linfócitos T auxiliares (T-CD4+), nos macrófagos, e nas células dendríticas. A ligação da glicoproteína SU a esta molécula, para além de permitir a fixação do VIH à membrana da célula alvo, induz alterações conformacionais na glicoproteína SU que lhe permitem ligar-se a um segundo receptor (co-receptor). Este co-receptor pertence a um grupo de moléculas presentes na membrana citoplasmática de algumas células, as quais, *in vivo*, funcionam como receptores das quimiocinas. Desta interacção com o co-receptor, resultam novas alterações conformacionais que conduzem à exposição de uma região peptídica, presente na glicoproteína transmembranar (TM) do invólucro viral, denominada péptido de fusão, o qual promove a fusão do invólucro viral com a membrana celular.

Actualmente estão identificados 19 receptores das quimiocinas que, *in vitro*, funcionam como co-receptores do VIH. Apesar desta grande variedade, somente o CCR5 e o CXCR4 parecem ser importantes *in vivo*, quer na transmissão quer na patogénese da infecção. A identificação dos co-receptores, específicos das glicoproteínas virais, permitiu não só compreender os mecanismos moleculares envolvidos no tropismo e patogénese do VIH, como levou igualmente à identificação de novos alvos virais e celulares, passíveis de serem inibidos por moléculas antiretrovirais. Exemplo disso é o fármaco enfuvirtide o qual constitui o único elemento da classe dos inibidores da fusão entre o invólucro viral e a membrana da célula. Este fármaco tem como alvo o péptido de fusão impedindo que o passo final da interacção entre as glicoproteínas virais e os receptores celulares ocorra. Mais recentemente, surgiram moléculas antagonistas do CCR5 com actividade antiviral potente e específica, das quais se destacam as moléculas maraviroc e vicriviroc. Estas moléculas impedem a ligação da SU ao co-receptor CCR5, impedindo assim a entrada do vírus na célula.

Esta revisão aborda os aspectos relacionados com o papel dos co-receptores no ciclo replicativo viral e a importância e consequências do seu bloqueio, por inibidores específicos, na perspectiva de uma nova forma de intervenção terapêutica.

J.M.A-P., Q.S-C.: Unidade dos Retrovírus e Infecções Associadas (URIA), Centro de Patogénese Molecular (CPM). Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Lisboa

© 2008 CELOM

## SUMMARY

### CHEMOKINE RECEPTORS AND ITS IMPORTANCE IN THE REPLICATION CYCLE OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS

#### Clinical and Therapeutic Implications

Human immunodeficiency virus (HIV) infection of host cells begins with binding of viral envelope (Env) surface (SU) glycoprotein to specific receptors present at plasma cell membrane. One of these receptors is the CD4 molecule which can be found namely in T-helper lymphocytes (T-CD4+), macrophages and dendritic cells. Binding of SU glycoprotein to CD4 molecule, enables HIV to adsorb to target cell membrane and also initiates conformational changes in SU glycoprotein that enable it to bind to a second receptor (coreceptor). This coreceptor belongs to a family of plasma cell membrane molecules that acts, *in vivo*, as chemokine receptors. The SU glycoprotein binding to coreceptor molecule triggers further conformational changes and consequently the exposure of a hydrophobic region of viral envelope transmembrane glycoprotein (TM), named fusion peptide that ultimately leads to viral envelope fusion with target cell membrane.

Nowadays, 19 of these chemokine receptors have been thus considered, *in vitro*, as coreceptors for HIV. Interestingly, despite this extensive range of potential coreceptors, only CCR5 and CXCR4 seem to be relevant in HIV transmission and in the pathogenesis of HIV infection.

Identification of cell surface coreceptors, specific for HIV envelope SU glycoprotein, has provided an elucidative explanation for molecular mechanisms involved in viral cell tropism and pathogenesis. Furthermore, the recognition of a coreceptor-mediated HIV's entry has also provided novel viral and cellular targets for antiretroviral intervention. During the last few years, the inhibition of HIV entry has become an incontestable target for anti-HIV drug discovery. Enfuvirtide is one example of these new antiretroviral molecules. It is the only member of fusion inhibitors targeting fusion peptide region, which prevents HIV entry by blocking the TM-mediated fusion between viral envelope and plasma cell membrane. More recently, CCR5-specific antagonists have been described, including monoclonal antibodies, modified chemokines and more importantly small-molecules inhibitors, such as maraviroc and vicriviroc. These drugs prevent SU glycoprotein binding to CCR5 coreceptor, and thus inhibiting HIV entry into target cell.

This review will focus on the influence of coreceptor engagement, by HIV Env glycoproteins, in viral replication cycle and the importance of targeting its coreceptor function, by specific inhibitors, as a new and promising class of antiretrovirals.

## INTRODUÇÃO

A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) foi inicialmente identificada em 1981<sup>1</sup>. A característica mais importante desta síndrome é o aparecimento de uma marcada imunodeficiência traduzida laboratorialmente por uma redução do número de linfócitos T CD4+ circulantes, a qual cria condições a que, agentes microbianos normalmente não associados a patologias no indivíduo adulto normal, se tornem patogénicos.

Dois anos após a descrição dos casos iniciais de SIDA foi identificado o primeiro vírus inequivocamente associado a este síndrome: o Vírus da Imunodeficiência Humana

(VIH) tipo 1 (VIH-1)<sup>2</sup>. Em 1986<sup>3</sup>, um segundo vírus, com características morfológicas e estruturais idênticas, foi isolado de doentes da região ocidental de África, sendo actualmente denominado VIH tipo 2 (VIH-2).

Resumidamente, a infecção pelo VIH segue um modelo em que, após a fase inicial pós-transmissão, caracteriza-se por uma elevada replicação viral, desencadeia uma forte resposta imunológica por parte do hospedeiro da qual resulta um controlo relativamente eficaz da replicação viral. Atinge-se assim um ponto de equilíbrio onde diariamente são formadas e destruídas cerca de 10<sup>9</sup> partículas virais<sup>4</sup>. Estabelece-se desta forma uma infecção persistente com duração variável, caracterizada por baixas concentrações

virais no plasma, clinicamente assintomática (denominada por isso de fase assintomática), durante a qual se verifica uma gradual e irreversível depleção dos linfócitos T-CD4+ circulantes<sup>5</sup>. A esta fase assintomática, que poderá prolongar-se por meses, anos ou mesmo décadas, segue-se a fase sintomática onde, em consequência da imunodeficiência entretanto estabelecida, aparecerão as infecções oportunistas características da SIDA.

### A Entrada do Vírus na Célula e os Receptores Celulares

As fases iniciais do ciclo replicativo do VIH, que conduzem à entrada do vírus na célula, envolvem a interacção entre duas glicoproteínas constituintes do invólucro viral (a glicoproteína de superfície, ou SU e a glicoproteína transmembranar, ou TM) e receptores específicos localizados na membrana citoplasmática da célula alvo<sup>6</sup>. O primeiro receptor do VIH a ser identificado foi a molécula CD4<sup>7,8</sup>. Esta molécula, presente na membrana de várias células, nomeadamente linfócitos T-auxiliadores, macrófagos e células dendríticas, é importante na fixação do VIH à membrana da célula alvo. No entanto a sua presença, apesar de necessária, não é suficiente para que a entrada do vírus e, conseqüentemente, a infecção da célula ocorra. A constatação de que era necessário co-existirem na mesma célula o receptor CD4 e um receptor adicional (co-receptor) para que o VIH entre na célula, veio permitir compreender por que razão certas estirpes de VIH eram capazes de infectar determinadas células CD4+ e não outras. Estes co-receptores foram identificados como pertencentes à família dos receptores das quimiocinas<sup>9,10</sup> e actualmente são 19 os que, *in vitro*, demonstraram ter actividade de co-receptor<sup>11,12</sup> para a entrada do VIH-1 e VIH-2 na célula (Quadro 1).

De acordo com o modelo actualmente aceite<sup>6</sup>, o VIH entra na célula através da ligação inicial da glicoproteína SU à molécula CD4 presente na membrana celular. Esta ligação induz alterações conformacionais na estrutura da SU que permitem expor ou formar o local de ligação à molécula do co-receptor, que por sua vez induz alterações adicionais na estrutura da glicoproteína TM conduzindo posteriormente à fusão com a membrana celular e à entrada do VIH na célula. Apesar da grande variedade de receptores das quimiocinas que *in vitro* parecem contribuir para a entrada do VIH na célula, *in vivo* somente os receptores das quimiocinas CCR5 e CXCR4 parecem ser os únicos relevantes na patogénese da infecção do VIH<sup>13</sup>.

Vários estudos usando o VIH-1 demonstraram que a utilização do co-receptor CCR5 é uma característica comum das variantes virais presentes na fase inicial e durante a fase assintomática da infecção. As variantes com a capacidade de utilizarem o co-receptor CXCR4, em substi-

tuição ou adicionalmente ao uso do CCR5, emergem nas fases mais avançadas da infecção e são predominantes em cerca de 50% dos indivíduos infectados apresentando sintomatologia evidente<sup>14</sup>. Estas estirpes utilizadoras do co-receptor CXCR4 (X4) estão normalmente associadas a uma depleção mais acentuada dos linfócitos T CD4+ e a uma evolução mais acelerada para a imunodeficiência<sup>15</sup>.

A capacidade de utilização do co-receptor CCR5 é uma característica aparentemente fundamental para a transmissão e para o estabelecimento da infecção no novo hospedeiro por parte do VIH-1. Vários estudos revelam que as variantes utilizadoras do co-receptor CCR5 (estirpes R5) são encontradas em circulação pouco tempo após o contágio o que sugere que estas serão as estirpes preferencialmente transmitidas, mesmo quando no inoculo original predominem estirpes X4. De igual forma sugestiva da importância das estirpes R5 na transmissão do VIH-1 é o facto de indivíduos homozigóticos para uma deleção do gene *ccr5* ( $\Delta 32ccr5$ ), que determina a ausência de expressão da molécula CCR5 na membrana citoplasmática, apresentarem uma extraordinária resistência à infecção<sup>16</sup>. As raras infecções descritas nestes indivíduos parecem estar associadas à transmissão de estirpes X4 e envolvendo a via de transmissão parentérica. Este conjunto de dados realça o envolvimento directo e aparentemente crucial das estirpes R5 na transmissão do VIH-1 pelo menos nas vias que envolvem a passagem de mucosas.

A importância das estirpes R5 na patogénese da infecção pelo VIH é reforçada pelo facto de, durante a longa fase assintomática, predominarem este tipo de variantes na população viral presente no indivíduo infectado<sup>17</sup>. Este facto sugere que serão estas estirpes as mais aptas a escapar ao controlo imunológico do hospedeiro e as que, por mecanismos directos ou indirectos, serão as responsáveis pela gradual depleção de linfócitos T-CD4+ e ao aparecimento da situação de imunodeficiência. Neste cenário, as estirpes X4 emergem e, em alguns casos, tornam-se predominantes, provavelmente como consequência da já debilitada capacidade de resposta imunológica do hospedeiro.

### O VIH-2 e o Uso dos Receptores Celulares

A maioria dos dados relativos à patogénese e transmissão do VIH têm sido obtidos usando como modelo o VIH-1. No entanto, vários dados apontam para a existência de importantes diferenças entre o VIH-1 e o VIH-2. De facto, apesar de serem biológica e estruturalmente semelhantes e de ambos estarem associados à imunodeficiência e ao aparecimento da SIDA, o VIH-1 e o VIH-2 diferem substancialmente em vários aspectos. A taxa de transmis-

Quadro 1 – Co-receptores descritos para o VIH-1, VIH-2 e VIS

Receptores	Ligandos	Expressão predominante tecidual	Vírus <sup>b</sup>
CCR1	MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ RANTES, MCP-3	Monócitos, células NK, linfócitos T activados e não activados, CD imaturas	VIH-2, VIS
CCR2b	MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4	Monócitos, linfócitos T activados, linfócitos B	VIH-1, VIH-2, VIS
CCR3	Eotaxin, RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MCP-3, MCP-4	Eosinófilos, basófilos, linfócitos T activados, células microgliais astrócitos	VIH-1, VIH-2
CCR4	TARC, MDC	Timócitos, linfócitos B, células NK, monócitos e neutrófilos	VIH-2
CCR5	MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES, MCP-2	Linfócitos T activados, monócitos, linfócitos T de memoria, DC imaturas, células de Langerhans, astrócitos, células microgliais	VIH-1, VIH-2, VIS
CCR8	I-309	Monócitos, timócitos, linfócitos T Th2, neutrófilos, outros tecidos: cerebral, pulmonar, esplénico, muscular esquelética	VIH-2, VIS
CCR9	TECK, RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$	Timócitos, linfócitos	VIH-1, VIH-2
CXCR2	GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , ENA-78, GCP-2, IL-8	Neutrófilos, monócitos, placenta	VIH-2
CXCR4	SDF-1 $\alpha$ , SDF-1 $\beta$	Linfócitos T CD4+ e CD8+, monócitos, CD, linfócitos B, astrócitos, células microgliais, tecido pulmonar e esplénico	VIH-1, VIH-2
CXCR5	BLC/BCA-1	Linfócitos B, Linfócitos T CD4+, CD8+, CD25-, CD44+, CD62L-, CD45RO+	VIH-2
CXCR6	CXCL16	Linfócitos T CD4+, Linfócitos T de memoria, células NK, placenta, monócitos	VIH-2, VIS
CX3CR1	Fractalkine	Linfócitos T CD8+, células NK, monócitos, neutrófilos,	VIH-2, VIS
GPR-1	ND	Macrófagos tecidulares	VIH-2, VIS
GPR-15	ND	Linfócitos T	VIH-2, VIS
Apj	ND	Células do SNC	VIH-2, VIS
ChemR23	ND	Macrófagos, CD	VIH-1, VIS
RDC1	ND	Linfócitos T CD4+, SNC	VIH-2, VIS
BLTR	ND	Leucócitos, linfócitos B	VIH-1, VIH-2
US28	RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$	Fibroblastos infectados com HCMV	VIH-1, VIH-2

<sup>a</sup> A nomenclatura adoptada para as quimiocinas e respectivos receptores é a oficialmente recomendada<sup>11,12</sup>.

<sup>b</sup> Vírus descritos como usando estes co-receptores.

Abreviaturas: BCA, B cell-activating chemokine; BLC, B lymphocyte chemoattractant; SNC, sistema nervoso central; DC, células dendríticas; ENA78, epithelial-derived neutrophil-activating peptide-78; GCP, granulocyte chemoattractant protein; GPR, G protein coupled receptor; GRO, growth-related oncogene; HCMV, citomegalovirus humano; IL, interleucina; MCP, monocyte chemotactic protein; MDC, macrophage-derived chemokine; MIP, macrophage inflammatory protein; ND, não determinado; RANTES, regulated on activation, normal T cell expressed and secreted; SDF, stromal cell-derived factor; NK, natural killer; TARC, thymus- and activation-related chemokine; TECK, thymus-expressed chemokine; VIS, virus da imunodeficiência dos símios

são (quer sexual quer vertical) do VIH-2 é muito menor do que a do VIH-1. Reflectindo este facto, os perfis epidemiológicos da infecção pelo VIH-1 e VIH-2 são igualmente diferentes: enquanto que a infecção pelo VIH-1 estende-se virtualmente a todas as regiões geográficas, a prevalência da infecção pelo VIH-2 é muito mais limitada, estando praticamente confinada à região ocidental de África e aos países que, como Portugal e França, têm ou tiveram relações directas com esses países. A taxa de progressão para SIDA e a mortalidade associada à infecção pelo VIH-2 é marcadamente inferior quando comparada com a do VIH-1<sup>18</sup>, o que permite concluir que o potencial de patogenicidade *in vivo* apresentado pelo VIH-2 é significativamente inferior ao do VIH-1, sugerindo uma menor humanização do VIH-2 relativamente ao VIH-1.

Além disso, os níveis plasmáticos de carga viral do VIH-2 são em geral muito inferiores, em qualquer fase da infecção, quando comparados com doentes em fases idênticas infectados pelo VIH-1<sup>19</sup>. Tendo em conta que a carga viral *in vivo* é um indicador do equilíbrio dinâmico que se estabelece entre a capacidade replicativa da população viral presente num indivíduo infectado e a capacidade de eliminação dessa mesma população, é óbvio concluir que nas infecções pelo VIH-1 e VIH-2 estabelecem-se equilíbrios diferentes.

As razões subjacentes a estes factos estão ainda por determinar e serão certamente multi-factoriais. Alguns dos aspectos a considerar com determinantes desta menor capacidade patogénica do VIH-2 estão ligados à sua capacidade replicativa, seja durante o processo de entrada na célula, seja nos passos intracelulares do ciclo replicativo, nomeadamente na transcrição do ADN proviral, ou no processo de morfogénese e libertação da partícula viral. No entanto, a hipótese por nós proposta sugere que as diferenças de patogenicidade apresentadas por estes dois vírus poderá estar relacionada com diferenças na respectiva capacidade replicativa, mais concretamente com uma menor eficiência na interacção das glicoproteínas do invólucro com os receptores celulares que conduza a uma menor eficácia na entrada do VIH-2 na célula alvo e a uma menor capacidade de fuga ao sistema imunológico do hospedeiro<sup>20</sup>.

De facto, considerando a forma como utilizam os receptores celulares, o VIH-1 e o VIH-2 diferem substancialmente. Assim, enquanto que no VIH-1 são raras as estirpes capazes de utilizarem com eficácia outros co-receptores para além do CCR5 e CXCR4, no VIH-2 é frequente a identificação de estirpes com a capacidade de usarem outros co-receptores (CCR1, CCR2, ou CCR3, por exemplo) de uma forma tão ou mais eficiente com que utilizam o CCR5 ou o CXCR4<sup>21</sup>. Por outro lado, a entrada do vírus na

célula na ausência do receptor celular CD4 foi exclusivamente observado em estirpes primárias (estirpes obtidas directamente do indivíduo infectado e somente propagadas em linfócitos primários humanos) de VIH-2<sup>22</sup>. Em ambos os casos, estas características fenotípicas estão relacionadas com a estrutura conformacional das glicoproteínas constituintes do invólucro viral, codificadas pelo gene *env* do VIH, sugerindo que essa estrutura é diferente no VIH-1 e VIH-2.

Mais recentemente, identificaram-se estirpes que, ao contrário do descrito até então, são incapazes de infectar qualquer linha celular co-expressando a molécula CD4 e os vários receptores das quimiocinas<sup>23</sup>, embora o fizessem em células mononucleadas do sangue periférico (CMSP) humanas. Além disso, foi possível demonstrar que estas estirpes são resistentes à inibição pelos ligandos naturais e anticorpos monoclonais dirigidos para o CCR5 e CXCR4, sugerindo que são capazes de utilizar outras moléculas co-receptoras para entrarem nas CMSP que não os referidos CCR5 e CXCR4<sup>24</sup>. Estes dados sugerem que a infecção natural pelo VIH-2 na espécie humana pode ocorrer através de estirpes que não usam como co-receptores as moléculas CCR5 e CXCR4.

### O Co-Receptor CCR5 e a Infecção pelo VIH

A capacidade de usar o receptor das quimiocinas CCR5, parece ser fundamental para o sucesso do VIH como agente patogénico protagonista numa infecção crónica/persistente capaz de conduzir à imunodeficiência e à SIDA. Qual a razão da importância dessa utilização? Uma das explicações prováveis é a que se relaciona com o padrão de expressão do CCR5 nas células sanguíneas, em particular nos linfócitos. A expressão do CCR5 é particularmente notória nos linfócitos T-CD4+ de memória (CD45RO) e muito baixa nos linfócitos T-CD4+ *naïve* (CD45RA), os quais mostraram ser altamente susceptíveis à infecção pelo VIH-1<sup>25</sup>. Paralelamente, vários estudos *in vitro* sugerem que o estado de activação das células parece ser um factor fundamental na infecção produtiva por parte do VIH-1. É significativo o facto da entrada do VIH-1 em linfócitos CD45RA necessitar duma activação celular posterior, sem a qual a infecção produtiva não ocorre. Ou seja, a capacidade de utilizar o CCR5 permitirá ao VIH infectar células estimuladas, totalmente permissíveis à replicação viral, e pode ser vista como uma importante e mesmo crucial vantagem evolutiva.

### Os Inibidores dos Co-Receptores

A introdução da terapêutica anti-retroviral de alta eficiência, (HAART – *highly active antiretroviral therapy*) em

meados da década de 90, melhorou consideravelmente a expectativa de sobrevivência e de controlo da infecção nos doentes infectados com o VIH. O sucesso desta terapêutica a longo prazo tem sido no entanto comprometido pelo contínuo surgimento de variantes virais resistentes aos fármacos usados, bem como pelos níveis de toxicidade associados a estes fármacos. Estes factores determinam a contínua busca por fármacos mais eficazes, menos tóxicos e menos sujeitos ao aparecimento de variantes virais resistentes.

O bloqueio da interacção entre os receptores celulares e a glicoproteína SU do VIH é uma estratégia lógica de supressão da replicação viral. Os inibidores da entrada, cujo alvo é a etapa de fusão entre o invólucro viral e a membrana citoplasmática da célula, mediada pela glicoproteína TM, surgiram em consequência dessa mesma estratégia. Um desses inibidores, enfuvirtide (único já aprovado), demonstrou uma elevada capacidade de inibição da infecção pelo VIH, tanto *in vitro* como *in vivo*. No entanto, variantes virais resistentes a este fármaco foram desde logo descritas<sup>26</sup>.

Pelo contrário, a inibição da interacção entre o vírus e os co-receptores, em particular o CCR5, parece constituir uma estratégia teoricamente mais eficaz de inibir a infecção pelo VIH. A razão principal advém de, neste caso, o alvo farmacológico serem proteínas celulares e não de origem viral, pelo que o desenvolvimento de resistências devido a alterações na molécula alvo não é de esperar. Devido a este facto, ao qual se adiciona a importância fulcral da utilização do CCR5 para o sucesso da transmissão e infecção do VIH no hospedeiro humano, não será de estranhar que vários inibidores do CCR5 estejam em várias fases de ensaios clínicos, tendo alguns deles demonstrado uma notável capacidade de redução das concentrações plasmáticas do VIH em indivíduos infectados<sup>27</sup>. Estes consistem em pequenas moléculas de natureza não peptídica antagonistas do co-receptor CCR5. A estes antagonistas têm sido dado nomes genéricos apresentando todos o sufixo *-viroc*, uma abreviação do termo em inglês *viral receptor occupancy*. Vários destes inibidores têm sido avaliados quanto ao seu potencial interesse terapêutico, nomeadamente, TAK-779, TAK-220, TAK-652, aplaviroc, maraviroc, AK602, SCH31125 (SCH-C) e vicriviroc. Além destes antagonistas do co-receptor CCR5, têm também sido desenvolvidos vários anticorpos monoclonais específicos do CCR5, incluindo o PRO140 e o CCR5mAb004.

O desenvolvimento e aplicabilidade destes inibidores não são, no entanto, desprovidos de desafios. Pequenas variações na conformação das ansas extracelulares do CCR5 podem resultar em diferenças significativas na sensibilidade a uma determinado inibidor *in vivo*. Por outro lado, a

resistência viral a este tipo de fármacos pode surgir quer pelo aparecimento de variantes capazes de utilizarem um co-receptor alternativo, quer por uma adaptação ao uso do mesmo co-receptor apesar da presença do inibidor. Qualquer uma destas formas de resistência foram já descritas em doentes sob tratamento<sup>28-30</sup>. A pergunta óbvia que se coloca será se estas resistências irão afectar – e de que forma o podem fazer – a evolução clínica desses doentes.

De notar que o uso destes inibidores traz implicações muito particulares, todas elas baseadas na relação entre o uso dos co-receptores com o tropismo celular e a patogénese viral. Como já foi referido, a capacidade de uma dada variante do VIH utilizar um dado co-receptor, determina quais as células alvo que esse vírus é capaz de infectar. Por outro lado, a alteração no co-receptor utilizado (CCR5 para CXCR4), verifica-se em cerca de 50% dos casos de doentes na fase sintomática da infecção e traz por inerência a predominância de uma população viral mais citopática e com taxas de replicação mais elevadas, responsável por uma depleção mais rápida dos linfócitos CD4+ e por cargas virais mais elevadas. Esta transição da população viral, de vírus R5 para vírus X4, foi já descrita em doentes sob terapêutica com o inibidor maraviroc<sup>29</sup> e parece ter ocorrido por selecção de variantes X4 pré-existentes em reservatórios celulares. Por outro lado, o surgimento e predominância destas variantes, será mais provável nas fases avançadas da infecção, não só porque o sistema imunológico do hospedeiro se encontrará mais debilitado, como também porque a contínua replicação viral terá permitido uma maior acumulação de mutações e, a infecção de um maior número de células. As implicações desta mudança do fenótipo viral, por selecção farmacológica, na evolução da infecção necessitam de ser esclarecida, mediante acompanhamento das características da população viral existente no doente ao longo do tratamento.

Finalmente, o uso dos inibidores do CCR5 na prática clínica requer um rastreio prévio, por forma a identificar e seleccionar os doentes que possuam uma população R5. Como já foi referido, o VIH pode ser classificado como tendo um dos seguintes fenótipos: R5 (no caso de usar somente o co-receptor CCR5), X4 (usando o CXCR4 isoladamente) ou R5X4 (capaz de utilizar com igual eficiência o CCR5 e CXCR4, e eventualmente outros). No entanto, uma vez que o VIH existe no hospedeiro como uma mistura de variantes com características diferentes, existe ainda uma quarta hipótese: mistura de vírus com tropismos diferentes. Nas duas últimas situações referidas, a administração de um inibidor do CCR5 criará obviamente condições à selecção das variantes X4 (no caso de uma população mista) ou obrigará o uso exclusivo do CXCR4 como co-

receptor (no caso das variantes virais com duplo tropismo). Tal com já foi referido, as consequências desses processos selectivos necessitam de estudos de acompanhamento clínico e virológico que permitam concluir sobre os seus efeitos em termos da progressão da doença, degradação imunológica, carga viral e características fenotípicas virais.

## CONCLUSÃO

O desenvolvimento de fármacos inibidores da interacção entre a glicoproteína de superfície do VIH e o receptor das quimiocinas CCR5 (principal co-receptor envolvido no processo de fusão do vírus com a célula alvo) constitui uma nova e importante alternativa terapêutica, como acarreta inerentes problemas clínicos fundamentais. Se a selecção dos potenciais candidatos à terapêutica com estes inibidores é de extrema importância, o acompanhamento dos doentes ao longo do tempo revela-se crucial, quer no apoio à prática clínica, quer na perspectiva da investigação básica, mediante a identificação e caracterização fenotípica de eventuais variantes resistentes e das implicações que tais emergentes poderão ter na patogénese da infecção.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

O trabalho de investigação subjacente a este artigo de revisão foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (Projecto POCI/SAU-IMI/55726/2004).

## BIBLIOGRAFIA

- GOTTLIEB MS, SCHROFF R, SCHANKER HM, et al.: Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981;305:1425-31
- BARRE-SINOSSI F, CHERMANN JC, REY F et al: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-71
- CLAVEL F, GUETARD D, BRUN-VEZINET F et al: Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1986;233:343-6
- HO DD, NEUMANN AU, PERELSON AS et al: Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123-6
- STEVENSON M: HIV-1 pathogenesis. *Nat Med* 2003;9:853-60
- CLAPHAM PR, MCKNIGHT A: Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses. *J Gen Virol* 2002; 83:1809-29
- KLATZMANN D, CHAMPAGNE E, CHAMARET S et al: T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984;312:767-8
- DALGLEISH AG, BEVERLEY PC, CLAPHAM PR et al: The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984;312:763-7
- DENG H, LIU R, ELLMEIER W et al: Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996;381:661-6
- ALKHATIB G, COMBADIÈRE C, BRODER CC et al: CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 1996;272:1955-8
- MURPHY PM: International Union of Pharmacology. XXX. Update on chemokine receptor nomenclature. *Pharmacol Rev* 2002;54:227-9
- MURPHY PM, BAGGIOLINI M, CHARO IF et al: International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev* 2000;52:145-76
- ZHANG YJ, DRAGIC T, CAO Y et al: Use of coreceptors other than CCR5 by non-syncytium-inducing adult and pediatric isolates of human immunodeficiency virus type 1 is rare *in vitro*. *J Virol* 1998;72:9337-44
- BERGER EA, MURPHY PM, FARBER JM: Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu Rev Immunol* 1999;17:657-700
- CONNOR RI, SHERIDAN KE, CERADINI D, CHOE S, LANDAU NR: Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1-infected individuals. *J Exp Med* 1997; 185:621-8
- DEAN M, CARRINGTON M, WINKLER C et al: Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CKR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, Multicenter Hemophilia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study. *Science* 1996;273:1856-62
- SIMMONS G, WILKINSON D, REEVES JD et al: Primary, syncytium-inducing human immunodeficiency virus type 1 isolates are dual-tropic and most can use either Lestr or CCR5 as coreceptors for virus entry. *J Virol* 1996;70:8355-60
- MARLINK R, KANKI P, THIOR I et al: Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science* 1994;265:1587-90
- POPPER SJ, SARR AD, TRAVERS KU et al: Lower human immunodeficiency virus (HIV) type 2 viral load reflects the difference in pathogenicity of HIV-1 and HIV-2. *J Infect Dis* 1999; 180:1116-21
- AZEVEDO-PEREIRA JM, SANTOS-COSTA Q, MONIZ-PEREIRA J: HIV-2 infection and chemokine receptors usage – clues to reduced virulence of HIV-2. *Curr HIV Res* 2005;3:3-16
- MCKNIGHT A, DITTMAR MT, MONIZ-PERIÈRE J et al: A broad range of chemokine receptors are used by primary isolates of human immunodeficiency virus type 2 as coreceptors with CD4. *J Virol* 1998;72:4065-71
- REEVES JD, HIBBITTS S, SIMMONS G et al: Primary human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) isolates infect CD4-negative cells via CCR5 and CXCR4: comparison with HIV-1 and simian immunodeficiency virus and relevance to cell tropism *in vivo*. *J Virol* 1999;73:7795-804
- AZEVEDO-PEREIRA JM, SANTOS-COSTA Q, MANSINHO K, MONIZ-PEREIRA J: Identification and characterization of HIV-2 strains obtained from asymptomatic patients that do not use CCR5 or CXCR4 coreceptors. *Virol* 2003;313:136-146
- BLEUL CC, WU L, HOXIE JA, SPRINGER TA, MACKAY

CR: The HIV coreceptors CXCR4 and CCR5 are differentially expressed and regulated on human T lymphocytes. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:1925-30

25. SPINA CA, PRINCE HE, RICHMAN DD: Preferential replication of HIV-1 in the CD45RO memory cell subset of primary CD4 lymphocytes in vitro. J Clin Invest 1997;99:1774-85

26. WEI X, DECKER JM, LIU H et al: Emergence of resistant human immunodeficiency virus type 1 in patients receiving fusion inhibitor (T-20) monotherapy. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:1896-905

27. DORR P, WESTBY M, DOBBS S et al: Maraviroc (UK-427,857), a potent, orally bioavailable, and selective small-molecule inhibitor of chemokine receptor CCR5 with broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. Antimicrob

Agents Chemother 2005;49:4721-32

28. MAROZSAN AJ, KUHMAN SE, MORGAN T et al: Generation and properties of a human immunodeficiency virus type 1 isolate resistant to the small molecule CCR5 inhibitor, SCH-417690 (SCH-D). Virol 2005;338:182-99

29. WESTBY M, LEWIS M, WHITCOMB J et al: Emergence of CXCR4-using human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) variants in a minority of HIV-1-infected patients following treatment with the CCR5 antagonist maraviroc is from a pretreatment CXCR4-using virus reservoir. J Virol 2006;80:4909-20

30. WESTBY M, SMITH-BURCHNELL C, MORI J 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



*Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa*