

Métodos de determinación del tropismo viral: tests genotípicos y fenotípicos

Mayte Perez-Olmeda^a y Eva Poveda^b

^aUnidad de Inmunopatología del Sida. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.

^bDepartamento de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España.

La reciente aprobación del primer antagonista de CCR5, maraviroc (MVC, Celsentri®), con una actividad antiviral específica frente a variantes virales R5-trópicas ha generado la necesidad de disponer de ensayos para la determinación del tropismo viral en todos los pacientes candidatos a iniciar tratamiento con este nuevo fármaco. Aunque los métodos genotípicos parecen ser la herramienta más útil por su rapidez y sencillez, en el caso del tropismo viral, las técnicas fenotípicas son actualmente consideradas las más fiables. En los últimos años, se han desarrollado diferentes ensayos fenotípicos para la determinación del uso del correceptor. Sin embargo, el ensayo fenotípico de Trofile™ es el ensayo utilizado actualmente para la determinación de tropismo, ya que es el único que cuenta con validación clínica. Dado que la presencia de variantes X4-trópicas en la población viral se ha asociado con fracaso virológico a MVC, el principal reto de las herramientas tanto genotípicas como fenotípicas es optimizar su sensibilidad para la detección de variantes X4-trópicas presentes de forma minoritaria en la población viral. Al mismo tiempo, se está evaluando la correlación entre métodos genotípicos y fenotípicos para determinar si las herramientas genotípicas pueden utilizarse para tomar decisiones terapéuticas.

Palabras clave: VIH. Tropismo viral. Genotipo y fenotipo.

Methods for determining viral tropism: genotype and phenotype tests

The recent approval of the first CCR5 antagonist, Maraviroc (MVC, Celsentri®), with specific antiviral activity against R5-tropic virus variants has generated the need for studies to determine the viral tropism in all those patient candidates for starting treatment with this new drug. Although genotyping methods appear to be the most useful tool due to its speed and simplicity, in the case of viral tropism, phenotyping techniques are currently considered the most reliable. In the last few years,

different phenotyping assays have been developed to determine the use of the co-receptor. However, the Trofile™ phenotype assay is currently the one most used for the determination of tropism, since it is the only one that has been clinically validated. Given that the presence of X4-tropic variants in the viral population has been associated with virological failure to MVC, the main challenge of both genotyping and phenotyping tools is to optimise their sensitivity for detecting X4-tropic variants present in a minority of the viral population. At the same time, the correlation between genotyping/phenotyping methods is being evaluated to determine whether genotyping tools can be useful to make therapeutic decisions.

Key words: HIV. Viral tropism. Genotype and phenotype.

Introducción

Los estudios de tropismo han adquirido un especial interés desde el inicio del desarrollo clínico de fármacos antagonistas de los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4, y más recientemente desde la aprobación del antagonista de CCR5, maraviroc (MVC, Celsentri®), para el tratamiento de la infección por el VIH^{1,2}.

MVC actúa inhibiendo específicamente la replicación de las variantes virales R5-trópicas. Además, la presencia de variantes X4-trópicas en la población viral de los pacientes se ha asociado con fracaso virológico a MVC^{3,4}. Por esta razón, se recomienda la realización de un estudio de tropismo antes de la prescripción de MVC en pacientes VIH positivos para asegurar la respuesta al tratamiento con este nuevo inhibidor de la entrada. El ensayo de Trofile (Monogram Biosciences, South San Francisco, CA, Estados Unidos)⁵ es el utilizado actualmente para la determinación del uso del correceptor en todos los pacientes que planean iniciar una terapia con MVC como parte de su tratamiento antirretroviral. Sin embargo, en los últimos años el interés por los estudios de tropismo ha venido acompañado del diseño y desarrollo de nuevos ensayos fenotípicos para la determinación del uso del correceptor.

Los ensayos fenotípicos, a partir de aislados virales o virus recombinantes, son considerados los más fiables para la determinación del uso del correceptor. Sin embargo, se están buscando alternativas más económicas, rápidas y sencillas de desarrollar en los laboratorios especializados en VIH para la determinación del uso del correceptor en la práctica clínica. Los estudios genotípicos que predicen el uso del co-

Correspondencia: Dra. M. Pérez-Olmeda
Unidad de Inmunopatología del Sida. Instituto de Salud Carlos III.
Sinesio Delgado, 6. 28029 Madrid. España.
Correo electrónico: mayteperez@isciii.es

receptor según la secuencia de aminoácidos de una región de la envuelta viral podrían ser una buena alternativa. Actualmente existe un enorme interés en conocer la exactitud de las herramientas genotípicas para la determinación del uso del correceptor y evaluar su posible utilización para tomar decisiones terapéuticas.

En este capítulo se describen los diferentes métodos, tanto genotípicos como fenotípicos, actualmente disponibles para la determinación del uso del correceptor, así como sus ventajas y limitaciones para su utilización en la práctica clínica (tabla 1).

La región V3 de la envuelta viral: principal determinante del tropismo

La entrada del VIH en la célula consiste en una sucesión de interacciones entre la envuelta viral y receptores celulares. El primer paso en el proceso de entrada es la unión de la glucoproteína de la envuelta viral (gp120) con el receptor celular CD4 presente en la superficie celular. La interacción gp120-CD4 provoca cambios conformacionales en la envuelta viral que permiten al complejo gp120-CD4 interactuar con los receptores de quimiocinas CCR5 o CXCR4, principalmente⁶. La región V3 de la gp120 es el principal dominio involucrado en esta interacción, aunque otras regiones de la envuelta como V1/V2 y C4 también están implicadas en esta interacción⁷.

La región V3 de gp120 se considera, por tanto, el principal determinante, aunque no el único, del uso del correceptor. La secuencia de aminoácidos de V3 determina en gran medida el uso preferencial del receptor CCR5 o CXCR4 por el VIH-1 para entrar en la célula^{8,9}. Algunos estudios han demostrado que la sustitución de la región V3 de la envuelta de un virus R5 por la región V3 de un virus X4-tropical es suficiente para cambiar el tropismo viral por los receptores de quimiocinas^{10,11}. De manera que por la secuencia de aminoácidos de la región V3 los aislados de VIH-1 pueden cla-

sificarse como CCR5-tropicos (R5), CXCR4-tropicos (X4) o duales/mixtos (R5-X4/R5+X4), dependiendo del correceptor utilizado para entrar en la célula¹².

Tanto la región V3 como los receptores CCR5 y CXCR4 están cargados debido a la presencia de aminoácidos básicos como la arginina (R) o la lisina (K) y aminoácidos ácidos como el ácido aspártico (D) o el ácido glutámico (E). Las interacciones electrostáticas entre la envuelta viral y los receptores de quimiocinas van a determinar la eficacia y la especificidad de la unión. Los aislados R5 tropicos normalmente presentan una menor carga neta en la región V3 que las variantes X4, lo cual se relaciona con el hecho de que el receptor CCR5 tenga mayor carga positiva que el receptor CXCR4. Se han descrito mutaciones que afectan a la carga neta de la región V3 que se han relacionado con la utilización de un receptor u otro. De igual forma, otros cambios que no afectan a la carga neta también se han asociado con la utilización de un receptor u otro, indicando que constricciones estructurales también son relevantes para la interacción gp120-correceptor¹³⁻¹⁵.

Herramientas genotípicas actualmente disponibles para la predicción del uso del correceptor

Desde principios de los años noventa, se han descrito y desarrollado diferentes reglas y algoritmos de interpretación para la determinación del tropismo viral basados fundamentalmente en las características de la secuencia de aminoácidos de región V3 de la envuelta viral¹⁶.

La «regla 11/25» fue el primer algoritmo de interpretación propuesto, además de ser uno de los más sencillos y populares. Dicha regla se basa en la observación de que los virus que en la región V3 presentan aminoácidos básicos (R o K), es decir, cargados positivamente, en las posiciones 11 y/o 25 se asocian a un fenotipo X4-tropical o SI (figura 1). Si

TABLA 1. Herramientas para la determinación del tropismo viral. Principales obstáculos para su introducción en la práctica clínica

Ensayos	Metodología	Limitaciones
MT-2	Capacidad de los aislados virales de formar sincitios en células MT-2	Obtención de aislados virales
Líneas celulares	Capacidad de los aislados primarios o virus recombinantes de explicar en líneas celulares que expresan los receptores CCR5 y CXCR4 en su superficie	Diferentes valores de correceptores entre las líneas celulares y las dianas naturales del VIH
Virus recombinantes	Trofile (Monogram Bioscience, San Francisco, CA, Estados Unidos) PhenoScript (Eurofins-VirAlliance, Kalamazoo, MI) Antivirogram (Virco BVBA, Mechelen, Bélgica) PhenX-R (InPheno, Basilea, Suiza)	Umbral de detección de virus X4 en una población mixta de virus (R5 + X4), aunque mejorando Necesidad de instalaciones y personal cualificado para su desarrollo en centros de referencia
Genotipo	Identificación de residuos de aminoácidos en V3 que influyen en el uso viral del correceptor	Baja sensibilidad para la determinación de variantes X4 Pocos datos que relacionan el fenotipo virtual y el fenotipo real

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3402733>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3402733>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)