



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**“Terapia de reactivación de reservorios de VIH”**

Autor: Lucía Rivero Prieto

D.N.I.: 47299461-F

Tutor: Luis Miguel Bedoya del Olmo

Convocatoria: Febrero 2016

## RESUMEN

Introducción: El VIH continúa siendo uno de los problemas de salud pública más importantes. Los reservorios latentes que forma el VIH en algunos tipos celulares del organismo y el estado de agotamiento inmune debido al carácter crónico de la enfermedad, suponen una barrera para la erradicación viral en pacientes infectados.

Método: La realización del trabajo conlleva la búsqueda de información bibliográfica en bases de datos como Pubmed. Debido a que existe una gran variedad de aproximaciones terapéuticas, la diversidad de opiniones en cuanto al tratamiento es elevada. En la selección de la información se han utilizado las hipótesis publicadas en revistas de mayor impacto.

Resultados: El estado de latencia está asociado a un silenciamiento transcripcional del provirus integrado y es mediado, en parte, por una serie de proteínas conocidas como histonas desacetilasas (HDAC). Estas moléculas van a regular el grado de acetilación de las histonas y la accesibilidad del DNA a los distintos factores de transcripción. De manera extraordinaria, la inhibición de dichas proteínas tiene como consecuencia una reactivación del virus. Esta observación llevo a la puesta en práctica de la teoría “shock and kill”. La reactivación del virus permite su expresión génica y detección en el organismo por la respuesta inmune, erradicando de esta manera los reservorios latentes en células infectadas. Sin embargo, no está claro que esta reactivación vaya a ser suficiente para erradicar el virus de manera definitiva y se están estudiando otras pautas terapéuticas en combinación para mejorar la efectividad de la respuesta inmune como son las vacunas terapéuticas y los inhibidores del estado de agotamiento de las células T CD4+, principal reservorio del VIH.

Conclusión: A pesar de los prometedores resultados, todavía no se ha podido establecer una pauta terapéutica concreta basada en la reactivación de reservorios debido al bajo perfil de seguridad y los efectos adversos. Al mismo tiempo, se estudian otras terapias en combinación para mejorar la respuesta inmune del paciente y realizar un análisis exhaustivo para lograr el tratamiento más adecuado.

## INTRODUCCIÓN

El VIH/SIDA continúa siendo uno de los más graves problemas de salud pública a nivel mundial, especialmente en los países de ingresos bajos o medios. Actualmente, más de 35,3 millones de personas están infectadas por el VIH, de las que 2,1 millones son adolescentes (de 10 a 19 años). (1)

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) es un lentivirus (la replicación se da muy lentamente) y es el causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), una condición en la cual el fallo progresivo del sistema inmune permite a ciertas infecciones oportunistas y distintos tipos de cáncer prosperar. La infección por VIH se produce por la transferencia de sangre, semen, fluidos vaginales o leche materna. Dentro de estos fluidos, el VIH está presente en forma de partículas libres e infectando a las células del sistema inmunitario. El VIH infecta células del sistema inmune como los linfocitos T (específicamente TCD4+, macrófagos y células dendríticas. La infección por el virus provoca una depleción de células TCD4+ a través de una serie de mecanismos, incluyendo la muerte de las TCD4+ a través de los linfocitos citotóxicos CD8 que reconocen las células infectadas, o directamente como consecuencia de la replicación del virus en dichas células. (2)

Gracias a los adelantos recientes en el acceso al tratamiento con antirretrovíricos, las personas VIH-positivas pueden ahora vivir más tiempo y en mejor estado de salud, evitando la transmisión del virus de una persona infectada a su pareja. Sin embargo, aún se encuentran en estudio múltiples alternativas terapéuticas que permitan la completa erradicación del virus así como una vacuna segura y eficaz.

### Taxonomía y estructura viral

El virus del VIH pertenece a la familia Retroviridae, es decir, se trata de un RNA virus cuya característica fundamental es la presencia de una enzima denominada transcriptasa inversa, encargada de general DNA viral a partir del RNA y completar así el ciclo vital del virus. (4)“Se han identificado dos tipos diferentes del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), el VIH-1 y el VIH-2, los cuales comparten propiedades

epidemiológicas, pero desde un punto de vista serológico y geográfico son relativamente diferentes.” (3). Una característica que distingue a los lentivirus de los otros retrovirus es la complejidad de su genoma, relacionado directamente con el grado de patogenicidad. Los lentivirus poseen, como todos los retrovirus, tres genes estructurales: env, gag y pol. El gen Env codifica para las glicoproteínas de envoltura (gp 160, gp 120 y gp 41). El gen Gag codifica para las proteínas estructurales (p55, p24 y p17) y, finalmente, el gen Pol codifica para la transcriptasa reversa, proteasa (p66, p51 y p31), integrasa y ribonucleasa.

A parte de estos 3 genes fundamentales, el genoma también posee 6 genes adicionales (vif, vpu, vpr, tat, rev y nef), a los cuales se debe la patogenicidad del HIV-1 y son los encargados de regular la replicación viral y la interacción del genoma vírico con el genoma celular. (4,5)

#### Ciclo vital y proceso de replicación

El ciclo vital del VIH comienza con la adsorción de los viriones (partículas víricas) a la célula huésped, donde la glicoproteína gp 120 de la envoltura interacciona en primer lugar y de manera específica con el receptor CD4, y en segundo lugar con el co-receptor CXCR4 y CCR5. Como otros virus envueltos, el VIH entra en la célula tras un proceso de fusión con la membrana celular. La envoltura viral se fusiona con la membrana celular permitiendo de esta manera la entrada de la cápside viral al interior de la célula. Este proceso está mediado por la glicoproteína gp41. Dentro de la célula las proteínas de la cápside permanecen asociadas al RNA viral (RNA<sub>v</sub>) mientras se copia a una cadena de DNA por medio de la DNA polimerasa dependiente de RNA/DNA y de la transcriptasa reversa. Después el RNA es degradado por la ribonucleasa H y se sintetiza la cadena complementaria de DNA para generar DNA de doble cadena (provirus), el cual se integra al genoma celular mediante una serie compleja de reacciones que son catalizadas por la enzima integrasa. El provirus integrado puede permanecer latente por tiempo indefinido o puede forzar a la maquinaria celular para producir RNA<sub>v</sub>, el cual puede ser usado para la producción de proteínas virales, las que con el genoma del virus ensamblan nuevos viriones. Eventualmente, las células infectadas se lisan y finalmente los nuevos viriones se liberan. (6)

La infección por VIH es un proceso crónico que implica una producción elevada y constante de nuevos viriones, acompañada de la consecuente destrucción de linfocitos CD4+ (efecto citopático). Esta destrucción celular es compensada durante varios años, hasta que las reservas corporales se agotan, lo que desemboca en una depleción de estos linfocitos, que son las células coordinadoras de la respuesta inmune, razón por la cual se produce una inmunodeficiencia adquirida y el cuerpo es vulnerable a distintas infecciones llamadas “oportunistas”.

### Terapia antirretroviral (ART)

La terapia de tratamiento para tratar la infección por VIH es la terapia ART. La disponibilidad de esta terapia desde 1996 ha tenido un efecto dramático sobre el VIH/SIDA. La ART consiste en una combinación individualizada de diferentes tipos de fármacos basándose en factores como la carga viral del paciente, el número de linfocitos CD4+ y los síntomas clínicos.

Generalmente, ART incluye tres o más fármacos de por lo menos dos clases de medicamentos distintos: Inhibidores de transcriptasa inversa no nucleósidos (NNRTI), Inhibidores de transcriptasa inversa nucleósidos (NRTI), Inhibidores de proteasa (PI), Inhibidores de fusión, Antagonistas de CCR5, Inhibidores de integrasa. (7)

Sin embargo, esta terapia ha demostrado no ser del todo eficaz, ya que existen determinadas situaciones que favorecen la presencia del virus en el organismo. El desarrollo de resistencias se considera la causa más importante de fracaso terapéutico, a lo que también contribuyen la falta de adherencia a la terapia, la intolerancia a la medicación, variaciones individuales de la farmacocinética, interacciones medicamentosas y la existencia de un “estado de latencia”.

### Estado de latencia viral

Los reservorios celulares del VIH-1 representan el mayor obstáculo en la eliminación del virus en el hospedador. Este reservorio del virus en células T CD4+ no activadas constituye la mayor barrera para curar totalmente la infección por VIH. Actualmente este reservorio es la principal diana para conseguir la total erradicación de la infección

de un paciente, ya que incluso en pacientes sometidos a terapias agresivas con niveles indetectables de virus en plasma se ha demostrado la persistencia de virus en estado latente. Al mismo tiempo, las distintas cepas mutantes van quedando almacenadas en el cuerpo, haciendo cada vez más difícil el tratamiento y requiriendo medidas más individualizadas. (8)

El estado de latencia viral es un estado reversible de infección no productiva que permite a algunos virus evadir la respuesta inmune. Los principales reservorios del VIH-1 son los linfocitos T-CD4+ en reposo, aunque también se ha planteado que los monocitos/macrófagos, las DC y otras células pueden servir como reservorios del virus. Son varios los mecanismos implicados en el establecimiento y mantenimiento de la latencia, entre ellos el estado de hipercondensación de la cromatina y la baja expresión de distintos factores de transcripción. Uno de los más importantes es el factor Nf-kB, capaz de reclutar a las proteínas acetiladoras de histonas y silenciar el proceso de transcripción. El virus permanece en dichas células como un provirus y produce una baja cantidad de proteínas virales de manera constante. En este estado no le afectan ni la respuesta inmune ni los fármacos antirretrovirales. (9, 10).

Debido a que las HDAC juegan un papel fundamental en el mantenimiento de la latencia, al promover un estado de hipercondensación de la cromatina, y silenciar la transcripción interactuando con varios factores celulares, se ha estudiado el efecto de varios inhibidores de HDAC (HDACi) en el proceso de reactivación del VIH-1.

## OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es la revisión de las estrategias terapéuticas actuales para la erradicación de la infección por VIH. La actual terapia antirretroviral no es capaz de erradicar la infección por VIH, debido a la presencia de reservorios virales en algunos tipos celulares como los linfocitos T CD4+. Consecuentemente, la presencia del virus se torna indefinida en el organismo. Con el objetivo de erradicar estos reservorios y avanzar hacia la cura definitiva del VIH, se han llevado a cabo una serie de aproximaciones terapéuticas que implican la reactivación del estado de latencia para que el virus, al estar nuevamente activo, pueda ser eliminado mediante la terapia

antirretroviral convencional y la respuesta inmune. La puesta en práctica de esta nueva terapia supondría un gran avance para el tratamiento del VIH, reduciendo la carga viral y, en última instancia, erradicando la infección.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

Se ha realizado una revisión bibliográfica mediante la plataforma de bases de datos Pubmed. Así como los libros y artículos encontrados a partir de Google académico y Google libros. Los artículos se han seleccionado atendiendo a su año de publicación, el idioma, inglés o español, y a su índice de impacto. Al mismo tiempo, se ha consultado el informe oficial de VIH aportado por La “Organización Mundial de la Salud” del pasado año 2015. (1)

Algunas palabras claves para la búsqueda de artículos fueron: “HIV latency status”, “reservoirs”, “transcription silencing”, “therapeutical approaches”, “HDAC inhibitors”, entre otras.

## RESULTADOS

### Latencia viral

Se han identificado varios mecanismos que juegan un papel importante en el mantenimiento del estado de latencia del VIH. Clásicamente se han dividido en mecanismos cis y trans. Los mecanismos cis incluyen el lugar de integración del provirus en el genoma humano, y la función de la condensación de la cromatina en el proceso de latencia. (11, 12). En cuanto a los mecanismos trans, se encuentra el estado de activación de las células T CD4+ y engloban una serie de factores capaces de activar la transcripción como son el factor NF-kB y los cofactores Sp1, AP-1, NF-AT e IRF, pero al mismo tiempo cuenta con represores transcripcionales para regularizar este proceso (13, 14, 15).

Uno de los factores más importantes en la reactivación viral es el factor Nf-Kb, que permite la reactivación de la célula T infectada a través del siguiente mecanismo: El factor Nf- kB se encuentra en el citoplasma de las células inactivas como una forma transcripcionalmente activa del dímero p50/p65 unido a una proteína inhibidora denominada Ikbalfa. La activación del factor NF-kB incluye la fosforilación de la subunidad inhibidora por el complejo IKK. La fosforilación de los residuos de serina de la subunidad inhibidora las marca para ser degradadas por una ruta de ubiquitinación, permitiendo la activación del complejo Nf-Kb y su traslocación al núcleo, activando el proceso de transcripción. (16)

En cuanto a los mecanismos cis, destacamos el papel estructural de la cromatina, que juega un papel clave en el mantenimiento del estado de latencia. El tratamiento de células T en reposo con inhibidores de histonas desacetilasas (HDAC's), una familia de enzimas modificadoras de histonas, es suficiente para inducir la reactivación del VIH. Estas observaciones han aumentado el interés sobre el papel de estas pequeñas moléculas con el objetivo de erradicar el estado de latencia del virus.

### Importancia de las HDAC

Los HDAC regulan el mecanismo de latencia del VIH de manera directa induciendo la desacetilación de las histonas en los lugares de integración del VIH. En condiciones normales, la forma homodimérica p50 del factor Nf-Kb es la más abundante en el núcleo celular. Este complejo es capaz de reclutar a las HDAC, que promueven la deacetilación de las histonas y reducen la transcripción (16)

La acetilación de las histonas consiste en la adición de un grupo acetil al grupo E-amino de un residuo de lisina. Dicha acetilación se traduce en una activación de la transcripción. La carga positiva del grupo amino añadido ayudan a regular el grado de compactación de la cromatina y, consecuentemente, la accesibilidad de los distintos factores de transcripción. (17).

Al igual que la acetilación de las histonas conduce a la activación transcripcional, la des-acetilación de las histonas crea una estructura cromatínica más condensada que favorece el silenciamiento de la transcripción de los genes incluidos en la esa región genómica. (18)

Las HDAC identificadas hasta el momento se agrupan en cuatro subclases o categorías en función de su semejanza con sus respectivas homólogas en levaduras: clase I, II, III y IV. En estos organismos, la proteína Rpd3 equivale a las HDAC clase I, la HdaI equivale a las de clase II y las Sir2 se corresponden con las de clase III; (las de clase IV no tienen homólogos reconocidos en levaduras). Dentro de la clase I, se incluyen HDAC 1, 2, 3 y 8. La clase II cuenta con dos subclases: IIa incluye HDAC 4, 5, 7, 9 y IIb incluye a HDAC6 y 10. Las clases I, II y IV tienen en común la presencia de un bolsillo catalítico con un ión  $Zn^{2+}$ , afirmando por tanto que son enzimas dependientes de este compuesto. El caso de las HDAC de tipo III es diferente, son dependientes del factor  $NAD^{+}$ .

La secuencia promotora del VIH está empaquetada en forma de cromatina y los distintos nucleosomas se integran en posiciones concretas dentro de la secuencia LTR (long terminal repeat) del VIH. Esta secuencia cuenta con numerosos sitios de unión para factores de transcripción tales como Sp1, TFIID, NF- $\kappa$ B, NFAT y AP-1. La unión de algunos factores específicos de transcripción a la secuencia LTR permiten el reclutamiento de la histonadesacetilasa, resultando en una desacetilación de la histona y la represión de la transcripción. Estos resultados sugieren por tanto que inhibidores de estas histonas desacetilasas podrían inducir la expresión génica del VIH-1 en las células latentes. (19)

El nucleosoma denominado nuc-1 se localiza al inicio de la secuencia de transcripción presente en el estado proviral del VIH. En estado de latencia impide la elongación de la secuencia. La remodelación de este nucleosoma, que se encuentra cerca de la secuencia LTR, va a dar lugar a un cambio conformacional de la cromatina y, consecuentemente, a la reactivación del virus. Esta remodelación ocurre en respuesta a una serie de agentes como son el factor de necrosis tumoral, TNF-alfa, esteroides de forbol y la proteína transactivadora Tat. El tratamiento por tanto con inhibidores de HDAC es suficiente para inducir la remodelación de la cromatina en el nucleosoma nuc-1.

## Tipos de inhibidores de HDAC

Varios inhibidores de HDAC han mostrado tener cierta función en la reactivación del estado latente del VIH.

### Ácido Valproico

El ácido valproico es un agente antiepiléptico que ha sido ampliamente empleado en el tratamiento de la epilepsia, migraña o el trastorno bipolar. El mecanismo de acción en el sistema nervioso central permanece desconocido, pero se cree que puede tener que ver con la modulación de los niveles de neurotransmisores o la inhibición de los canales de sodio voltaje-dependientes. (20)

Al mismo tiempo, el ácido valproico ha probado ser útil en la inhibición de las moléculas HDAC tipo I y II. cuando es administrado a concentraciones milimolares. Se realizó un estudio de concepto en cuatro voluntarios infectados con VIH y tratados con terapia antirretroviral (ART). Tras intensificar el efecto de la terapia ART con enfurtivida subcutánea dos veces al día durante 4-6 semanas para prevenir la diseminación del virus, se añadió ácido valproico por vía oral (500-750 mg) dos veces al día durante tres meses. Tras este periodo se cuantificó la infección latente de las células T CD4+ en reposo antes y después de este estudio. La cantidad de células en reposo era estable antes de la adición de enfurtivida y ácido valproico, pero decreció después. Esta disminución fue significativa en 3 de los 4 pacientes y los pacientes mostraron buena tolerancia al tratamiento. Sin embargo, estudios posteriores no han detectado una reducción del tamaño de los reservorios en comparación con los pacientes tratados únicamente con terapia antirretroviral. Al mismo tiempo, se mantenían en sangre bajos niveles de viremia y se le atribuyó cierto carácter tóxico. (21)

## SAHA/Vorinostat

El inhibidor de HDAC's más estudiado es el vorinostat (VOR). Se trata de un potente inhibidor de HDAC's que actualmente está aprobado para el tratamiento del linfoma de células T. Archin NM y colaboradores aislaron células T CD4+ en reposo de pacientes cuyo nivel de viremia había sido suprimido por completo gracias a la terapia antirretroviral, y se estudió el efecto del VOR directamente en este reservorio. (22) El VOR activa la secuencia promotora del VIH, induce la hiperacetilación de los nucleosomas de la secuencia promotora y suprime la unión de las HDAC a la secuencia promotora del VIH. En otro estudio, un grupo de 11 pacientes tratados con terapia antirretroviral fueron seleccionados en base a dos parámetros: se escogieron pacientes que presentaron niveles de RNA inferiores a 50 copias/ml y un recuento de células TCD4+ superior a 300/microlitro. En cada uno de los pacientes estudiados, una dosis única de VOR incrementaba los biomarcadores de la acetilación celular e inducía un incremento de la expresión del mRNA viral en las células TCD4. (23). Entre estos pacientes, el Vorinostat fue bien tolerado, sin efectos adversos significativos. (Tabla 1)

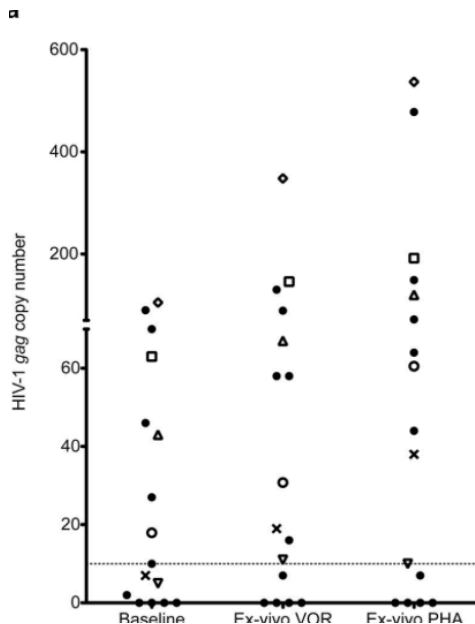


Tabla 1

Número de copias de ARN viral (gag) en células TCD4+ en reposo de 13 individuos VIH positivos tras el tratamiento con VOR. Se observa un aumento en los niveles de expresión génica cuando los pacientes fueron tratados con este fármaco. Al mismo

tiempo, los niveles de RNA medidos fueron similares tras la estimulación de las células con PHA.

En la siguiente tabla, se muestran los resultados obtenidos con el tratamiento de ácido valproico y vorinostat.

Agent	Regimen	Intensification	Phase	No.	Results
Valproic acid	500–750 mg bid 4–6 weeks	Enfuvirtide (90 µg)	I/II	4	Mean 75% reduction in IUPB
	1000 mg od 16 weeks	None	II	12	More than 50% reduction in IUPB of 4 patients out of 12
	Plasma valproic acid, mean 58 mg/L	None	II	11 (13) <sup>b</sup>	No significant reduction in HIV DNA copy per million cells
	500–750 mg bid 96 weeks	Raltegravir (400 mg bid)	II	18	No significant reduction in IUPB
	500 mg bid 16 or 32 weeks	None	II	56	No significant reduction in IUPB
Vorinostat	400 mg given 3 times a week 8 weeks	None	I/II	8	Mean 4.8 fold increase in HIV RNA in resting CD4 T cells

Tabla 2

Efectos del ácido valproico y el vorinostat sobre diferentes poblaciones celulares latentes de células TCD4+. En el caso del ácido valproico, se aplican distintas pautas terapéuticas y se mide la reducción de la población latente: los mejores resultados se obtienen cuando se administra en combinación con la enfurtivida, mostrando una reducción del 75%. En el caso del vorinostat, se midió la reactivación celular a través del incremento del mRNA en las células T CD4+.

#### Vorinostat

Se trata de un ácido hidroxámico empleado por sus propiedades antiinflamatorias y antitumorales in vitro e in vivo. Como agente antiinflamatorio, se administró a niños que padecían artritis juvenil idiopática durante un periodo de 12 semanas sin presentar ningún problema de seguridad y con prometedores resultados terapéuticos. Tras demostrar su potente acción antiinflamatoria como supresor de citoquinas a concentraciones nanomolares, se dedujo que podría ser un potente estimulador de la expresión genética del VIH-1 en células latentes. (24)

Givinostat, un inhibidor de histona desacetilasa probó ser eficaz y seguro por vía oral por lo que se procedió a comparar su efecto en la eliminación de reservorios de VIH con los proporcionados por el ácido valproico.

Para ello, las células infectadas en estado latente, fueron incubadas de manera indistinta con givinostat o con ácido valproico y se midieron los niveles de la proteína p24. Al mismo tiempo, monocitos de pacientes no infectados fueron tratados con Givinostat para medir mediante citometría de flujo la expresión de los correceptores CCR5 y CXCR4. (25)

El givinostat presentó tres ventajas principales con respecto al ácido valproico: induce el VIH-1 10 veces más que el ácido valproico, que apenas llega a dos veces. En segundo lugar, es bien tolerado por vía oral en adultos y en niños. Finalmente, el Givinostat no incrementa la expresión del correceptor CCR5 en superficie. Generalmente, los inhibidores de las histonas desacetilasas tienden a incrementar la expresión génica, sin embargo se observó como en células T CD4+ en estado latente este inhibidor disminuía la expresión de los correceptores CXCR4 y CCRR5, cuantificando los resultados en forma de mRNA a través de la técnica PCR. (26). Tabla 3

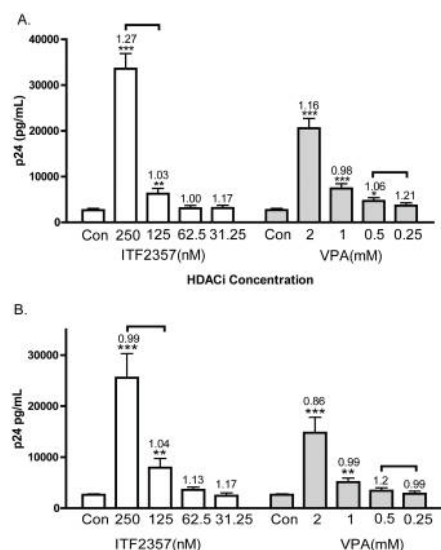


Tabla 3

Concentración de la proteína p24 en las células latentes TCD4+ tras el tratamiento con ITF2357 y VPA.

Desde un punto de vista clínico, la densidad de co-receptores de superficie juega un papel fundamental en el proceso de infección del VIH. La densidad del co-receptor CCR5 en las células T CD4+ está directamente relacionado con el proceso de replicación, la carga viral y la progresión de la enfermedad, siendo por tanto de gran importancia su disminución.

#### Panobinostat

Se trata de otro derivado de ácido hidroxámico que ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de trastornos hematológicos y tumores sólidos. La diana de este fármaco son las histonas desacetilasas de tipo I, II y IV a concentraciones nanomoleculares bajas. Es al menos 10 veces más potente que el vorinostat. (27)

#### Entinostat y mocetinostat

Entinostat induce la expresión del VIH en células latentes infectadas. Su diana son, preferentemente, las histonas desacetilasas de clase I (HDAC 1, 2 y 3, las más relevantes para la regulación del VIH). Debido a su baja toxicidad y eficacia, es uno de los más empleados en la reactivación de reservorios. (28)

En cuanto al mocetinostat, se encuentra aún en fase de ensayos clínicos para el tratamiento del linfoma de Hodgkin y otros tipos de cáncer. Ha demostrado ser eficaz en la inhibición de las histonas desacetilasas de tipo I. (29)

#### Combinaciones terapéuticas y alternativas.

A pesar de tener evidencia de que es posible alterar los reservorios de VIH-1 y reactivar el virus a partir de su estado de latencia, no está claro que estas células vayan a producir suficiente productos génicos para ser eliminados por los mecanismos virales citopáticos o reconocidos y posteriormente eliminados por el sistema inmune del hospedador. Consecuentemente, otras aproximaciones basadas en la combinación terapéutica serían necesarias para la erradicación del virus. (30)

Existen estrategias inmunológicas como las vacunas terapéuticas que aumentan la función de las células dendríticas y, combinadas con citoquinas como la IL-7, potencian la actividad citotóxica de las células T CD4+ y restaurarían la correcta homeostasis de las células T. Actualmente se están llevando a cabo varios ensayos clínicos entre los que destaca el ensayo NCT010119551, encargado de comprobar la inmunomodulación de las células T CD4 bajo la influencia de la IL-7. Tras varias pruebas, se ha comprobado que la reactivación de las células con la estimulación de la interleucina es solamente parcial y las células latentes proliferan con mayor rapidez, corroborando la necesidad de un efecto sinérgico con la IL-2 y las vacunas terapéuticas. (31).

Otra aproximación de gran interés aun no probada en la clínica consiste en el uso de agentes que pueden revertir el estado de agotamiento de la respuesta inmune anti-VIH. El fallo para la cura del VIH-1 es el resultado de la creación de reservorios latentes en las células T CD4+ acompañado de una disfunción de las mismas debido a la estimulación inmunológica crónica. Existe un gran interés en el papel que juegan los denominados inmunocheckpoin inhibitors, especialmente PD-1 (programmed death 1), en causar una disfunción persistente de las células T en la infección por VIH. PD-1 es regulado en la superficie de las células TCD4+ y T CD8+ y se ha comprobado como durante la infección por VIH sus niveles son muy elevados. Esto se asocia con una activación de células T continua, provocando un estado de agotamiento inmunológico. Muchos estudios han mostrado como bloqueando la interacción de PD-1 con su ligando se pueden revertir estos efectos y favorecer el correcto funcionamiento de las células anteriores. (32)

Existen otra serie de compuestos empleados en la reactivación de reservorios como los esteroides de forbol. El más empleado es la prostatina y se trata de un modulador de la actividad de la proteína quinasa C que induce la expresión del VIH-1 latente. Este compuesto es capaz de reclutar y favorecer la acumulación en el núcleo del factor de transcripción heterodimérico Nf-kB p65-p60 y favorecer así la activación del proceso replicativo. En combinación con los inhibidores de acetilasa de tipo I es capaz de iniciar la transcripción, como se demostró midiendo el reclutamiento de RNA polimerasa tipo II a la secuencia 5' del LTR. Dentro de este grupo de fármacos activadores de la vía PKC encontramos a la briostatina de tipo I. Se trata de un fármaco de origen marino que reactiva el VIH a través de la vía clásica dependiente de PKC. Al

mismo tiempo, activa la vía MAPKs y el factor Nf-Kb y tiene un efecto sinérgico con los inhibidores de histonas desacetilasas para reactivar el VIH-1. (33)

## DISCUSION

La persistencia de reservorios transcripcionalmente silenciados, pero competentes desde un punto de vista replicativo en los linfocitos T CD4+ y la persistente viremia supone la mayor barrera actualmente para la erradicación del virus. Al mismo tiempo, al tratarse de una infección de carácter crónico, la continua activación inmune ha dado lugar a una disfunción de estas células que dificulta la correcta acción inmunológica.

La reactivación génica de estos reservorios en combinación con la terapia antirretroviral ha sido propuesta como una alternativa que tiene como objetivo disminuir la presencia de estos reservorios y, de esta forma, erradicar de forma permanente el virus.

El reservorio de células T CD4+ latentes se establece poco después de la infección aguda. Este reservorio es extremadamente estable, tiene una vida media aproximada de 6 a 44 meses incluso en pacientes que son tratados de manera continua con terapia antirretroviral y muestran una carga viral prácticamente nula durante largos periodos de tiempo. (34) Debido a la larga vida media que presentan, la total erradicación de los reservorios es un proceso lento que llevaría aproximadamente 70 años de tratamiento, tornándolo así en improbable. Este pronóstico puede variar algunos años empezando la terapia antirretroviral antes o intensificándola, pero no es suficiente como método de erradicación. (35)

El mecanismo replicativo del VIH-1 es tremendamente complejo. El estado de latencia está asociado con un silenciamiento transcripcional del provirus mediado por las histonas desacetilasas, una familia de proteínas que regulan la acetilación de las histonas y el acceso del DNA a los distintos factores de transcripción. Esta observación dio lugar a una idea que centraba sus esfuerzos en inhibir la acción de las histonas, de tal forma se forzaría la activación transcripcional del VIH y se eliminarían de forma definitiva los reservorios.

Los principales inhibidores de histonas han sido desarrollados contra el tipo I, de los más importantes en la regulación del VIH. Actualmente los últimos esfuerzos se han centrado en incrementar la especificidad contra estas HDAC.

A pesar de los prometedores resultados obtenidos con estos inhibidores y haber demostrado una reactivación in vivo del estado de latencia, es poco probable que una

aproximación terapéutica en solitario sea capaz de luchar contra los múltiples mecanismos que forman parte de la persistencia del virus. Otra desventaja de estos inhibidores es su toxicidad celular. En el caso del ácido valproico, fue uno de sus principales inconvenientes y, en estudios actuales de otros inhibidores, se requiere una monitorización muy rigurosa de las cantidades administradas para evitar efectos adversos. Por lo tanto, es importante evaluar su toxicidad y seleccionar aquéllas más tolerables, dado que la inhibición de la HDAC podría afectar a múltiples procesos del organismo y generar múltiples efectos adversos. Se ha comprobado que el parabinostat, por ejemplo, puede presentar toxicidad cardiaca.(36)

Estas moléculas pueden combinarse con otros agentes químicos, como los esteres de forbol, para lograr un efecto sinérgico y mejorar los resultados. La combinación de agentes antilátencia junto con estrategias para aumentar y mejorar la efectividad de la respuesta inmune es extremadamente prometedora, ya que permitiría activar los mecanismos de transcripción y, al mismo tiempo, acelerar el proceso de eliminación de las células infectadas.

## CONCLUSION

La existencia de reservorios latentes de células infectadas constituyen la mayor barrera para la cura del VIH. A pesar de los múltiples esfuerzos invertidos en consolidar la terapia de reactivación como pauta terapéutica, la mayoría de fármacos descubiertos presentan problemas de toxicidad a largo plazo y no han demostrado un perfil de seguridad adecuado. Al mismo tiempo, y debido al carácter crónico de la enfermedad, se produce un agotamiento inmunológico que dificulta la acción contra el VIH. Debido a esto, se contemplan tratamientos que aumenten esta respuesta inmune en combinación con los fármacos reactivadores para la erradicación definitiva del virus.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) <http://www.who.int/features/factfiles/hiv/es/>
- (2) Alkadwivedi, Vijaylaxminaxena, Shrasti Gupta Swinderjeet Singh Kalra. New Strategy to Find Out Microwave –Assisted Synthesis of B- Phenyl Isoleucine Dipeptides as a Potential Inhibitor Candidate for HIV1 Protease and Amino Peptides. International Journal of Pharmaceutical Science Invention. ISSN (Online): 2319 – 6718, ISSN (Print): 2319 – 670X
- (3) <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/virologia/sida-vih.html>
- (4) [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0034-83762004000200005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0034-83762004000200005&script=sci_arttext)
- (5) <http://www.biologia.edu.ar/virologia/hiv1biologiamolecular.htm>
- (6) HIV Integrase: Mechanism and Inhibitor Design. Volume 9 of Wiley Series in Drug Discovery and Development. Nouri Neamati. ISBN: 1118015363, 9781118015360. Chapter 1: HIV 1 life cycle. Targets for Anti- HIV Agents. Pág. 26-27.
- (7) <http://www.drugabuse.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/el-vih/sida/que-es-la-haart>
- (8) <https://stepsforliving.hemophilia.org/es/otro-paso-mas/tratamiento-sin-factor/terapia-antirretroviral-de-gran-actividad>
- (9) Samuel A Williams,1,2 Lin-Feng Chen,1,\* Hakju Kwon,1 Carmen M Ruiz-Jarabo,1 Eric Verdin,1,3 and Warner C Greene1,3,4,a NF- $\kappa$ B p50 promotes HIV latency through HDAC recruitment and repression of transcriptional initiation Published online 2005 Dec 1. doi: 10.1038/sj.emboj.7600900
- (10) Ashburner BP, Westerheide SD, Baldwin AS Jr (2001) The p65 (RelA) subunit of NF- $\kappa$ B interacts with the histone deacetylase (HDAC) corepressors HDAC1 and HDAC2 to negatively regulate gene expression. Mol Cell Biol 21: 7065–7077
- (11) Jordan A, et al. HIV reproducibly establishes a latent infection after acute infection of T cells in vitro. EMBO J. 2003;22:1868–1877.
- (12) 10. Jordan A, et al. The site of HIV-1 integration in the human genome determines basal transcriptional activity and response to Tat transactivation. Embo J. 2001;20:1726–1738.
- (13) Adams M, et al. Cellular latency in human immunodeficiency virus-infected individuals with high CD4 levels can be detected by the presence of promoter-proximal transcripts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1994;91:3862–3866.
- (14) He G, Margolis DM. Counterregulation of chromatin deacetylation and histone deacetylase occupancy at the integrated promoter of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) by the HIV-1 repressor YY1 and HIV-1 activator Tat. Molecular and cellular biology. 2002;22:2965–2973

- (15) Rafati H, et al. Repressive LTR nucleosome positioning by the BAF complex is required for HIV latency. *PLoS biology*. 2011;9:e1001206
- (16) Ref. Samuel A Williams,1,2 Lin-Feng Chen,1,\* Hakju Kwon,1 Carmen M Ruiz-Jarabo,1 Eric Verdin,1,3 and Warner C Greene1,3,4,a NF- $\kappa$ B p50 promotes HIV latency through HDAC recruitment and repression of transcriptional initiation. Published online 2005 Dec 1. doi: 10.1038/sj.emboj.7600900
- (17) Shogren-Knaak M, et al. Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions. *Science*. 2006;311:844–847.
- (18) <http://www.unav.es/ocw/genetica/tema2-3.html>
- (19) Kotaro Shirakawa,1,2 Leonard Chavez,1,2 Shweta Hakre,1,2 Vincenzo Calvanese,1,2 and Eric Verdin1,2. Reactivation of latent HIV by histone deacetylase inhibitors. Published online 2013 Mar 18. doi: 10.1016/j.tim.2013.02.005
- (20) <http://jid.oxfordjournals.org/content/195/6/833.full.pdf+html>
- (21) Lehrman G, et al. Depletion of latent HIV-1 infection in vivo: a proof-of-concept study. *Lancet*. 2005;366:549–555
- (22) Archin NM, et al. Valproic acid without intensified antiviral therapy has limited impact on persistent HIV infection of resting CD4+ T cells. *AIDS*. 2008;22:1131–1135.
- (23) Blankson JN, Persaud D, Siliciano RF. The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection. *Annu Rev Med*. 2002;53:557.
- (24) Matalon S, et al. The histone deacetylase inhibitor ITF2357 decreases surface CXCR4 and CCR5 expression on CD4(+) T-cells and monocytes and is superior to valproic acid for latent HIV-1 expression in vitro. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2010;54:1–9.
- (25) Matalon S, et al. The histone deacetylase inhibitor ITF2357 decreases surface CXCR4 and CCR5 expression on CD4(+) T-cells and monocytes and is superior to valproic acid for latent HIV-1 expression in vitro. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2010;54:1–9.
- (26) Archin NM, et al. Expression of latent HIV induced by the potent HDAC inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid. *AIDS research and human retroviruses*. 2009;25:207–212.
- (27) Atadja P. Development of the pan-DAC inhibitor panobinostat (LBH589): successes and challenges. *Cancer letters*. 2009;280:233–241
- (28) Keedy KS, et al. A limited group of class I histone deacetylases acts to repress human immunodeficiency virus type 1 expression. *Journal of virology*. 2009;83:4749–4756.
- (29) Bumber Y, et al. Mocetinostat (MGCD0103): a review of an isotype-specific histone deacetylase inhibitor. *Expert opinion on investigational drugs*. 2011;20:823–829.
- (30) Shan L, Deng K, Shroff NS, et al. Stimulation of HIV-1-specific cytolytic T lymphocytes facilitates elimination of latent viral reservoir after virus reactivation. *Immunity*. 2012;36:491–501.

- (31) Garcia F, et al. A therapeutic dendritic cell-based vaccine for HIV-1 infection. *J Infect Dis.* 2011;203:473–478.
- (32) Levy Y, et al. Enhanced T cell recovery in HIV-1-infected adults through IL-7 treatment. *J Clin Invest.* 2009;119:997–1007
- (33) Dyavar Shetty R, Velu V, Titanji K, et al. PD-1 blockade during chronic SIV infection reduces hyperimmune activation and microbial translocation in rhesus macaques. *J Clin Invest.* 2012;122:1712–1716.
- (34) Pérez M1, de Vinuesa AG, Sanchez-Duffhues G, Marquez N, Bellido ML, Muñoz-Fernandez MA, Moreno S, Castor TP, Calzado MA, Muñoz E. Bryostatin-1 synergizes with histone deacetylase inhibitors to reactivate HIV-1 from latency. 2010 Sep;8(6):418-29
- (35) Rutao Luo, PhD student, Michael J. Piovoso, Professor, and Ryan Zurakowski, Assistant Professor. Quantitative analysis of viral persistence and transient viral load rebound from HIV clinical data.  
doi: 10.1109/IEMBS.2011.6090599
- (36) Choudhary SK, Margolis DM, Curing HIV. Pharmacologic approaches to target HIV-1 latency. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2011;51:397–418.