

TERAPÉUTICA

La sensibilidad de la transcriptasa inversa no mutante del VIH-1 a los dideoxinucleótidos depende de la longitud del molde; la de los mutantes fármaco-resistentes, no

Boyer PL, Tantillo C, Jacobo-Molina A, et al. Sensitivity of wild-type human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase to dideoxynucleotides depends on template length; the sensitivity of drug resistant mutants does not. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4.882-4.886.

El análisis de la estructura tridimensional de la transcriptasa inversa (TI) del VIH-1 unida a ADN de doble cadena, indica que mientras que muchas mutaciones nucleósido resistentes no están en el lugar de unión dNTP putativo, varias están en posiciones para interactuar con el molde-iniciador. Se han analizado la TI nativa del VIH-1 y dos variantes nucleósido resistentes, Leu74-Val y Glu89-Gly, para determinar la base de la resistencia. La capacidad de la enzima nativa para incorporar, o rechazar, un 2', 3'-dideoxinucleósido trifosfato (ddNTP), estaba afectada fuertemente por las interacciones que tienen lugar entre la enzima y la extensión de la cadena del molde, 3-6n más allá del sitio activo de la polimerasa. La inspección de un modelo de la enzima con un molde extendido sugiere que esta interacción involucra los dedos de la subunidad p66 en la proximidad de la Leu74. Estos datos proporcionan la evidencia directa de que el subdominio de los dedos de la subunidad p66 de la TI del VIH-1, interactúa con la cadena del molde. La enzima nativa es resistente al ddITP si la extensión del molde es 3nt o menor, y se vuelve sensible solamente cuando el molde se extiende más de 3 ó 4nt más allá del final de la cadena del iniciador. Sin embargo, las enzimas mutantes son resistentes tanto a las extensiones largas como a las cortas de los moldes. Reuniendo la estructura tridimensional de la TI del VIH-1 junto con el ADN de doble cadena, estos datos sugieren que la resistencia a los inhibidores de los dideoxinucleótidos proviene de un reposicionamiento o cambio en la conformación del molde-iniciador que altera la capacidad de la enzima de seleccionar o rechazar un dNTP naciente.

El conocimiento de la existencia de resistencias a los antirretrovíricos que actúan inhibiendo la acción de la transcriptasa inversa (TI), ha permitido establecer que éstas se hallan ligadas a la presencia de mutaciones puntuales en la molécula. Así se ha descrito su existencia en posiciones 41, 67, 70, 210, 215 y 219 para el AZT, 65, 74, 135 y 184 para el ddI, 65 y 69 para el ddC, 75 para el D4, 184 para el 3TC.

Por otra parte, el establecimiento de la estructura tridimensional de la TI con una resolución de 3,0-Å ha permitido establecer el sitio activo de la polimerasa y la zona de interacción entre molde y cebador, con relación a la conocida forma que adopta la molécula y que se distingue por palma, pulgar, dedos y zona de conexión. Los autores han desarrollado un modelo basado en la estructura de un complejo entre la TI del VIH-1 y el ADN de doble cadena en la forma salvaje y en mutantes Leu74 Val y Glu891 Gly estableciendo que la interacción entre la enzima y el molde extendido 3-6 nucleótidos más allá del sitio activo de la polimerasa condiciona la capacidad de la enzima salvaje (*wild-type*) para incorporar o rechazar un 2', 3'-dideoxinucleótido trifosfato (ddNTP) y que por otra parte en el caso de TI mutantes la resistencia a ciertos antirretrovíricos se debe a una alteración de la forma o posición del molde que impiden un reconocimiento de la molécula mutante en comparación con el tipo salvaje. Esta falta de reconocimiento impediría la incorporación de ddNTP frenando así la retrotranscripción en las RT mutantes independientemente de la longitud de la extensión del molde, siendo resistentes tanto con moldes cortos como largos. Dado que ambas mutaciones (Leu74 Val y Glu80 Gly) parecen afectar la posición del molde-cebador, tendrían efecto sobre la incorporación de distintos ddNTP. Y puesto que las TI mutantes pueden, a pesar de ello, incorporar los dNTP de forma todavía eficaz, querría decir que el efecto tiene que ser sutil, no debiendo sorprender que se puedan apreciar diferencias en los niveles relativos de resistencia con varios dideoxianálogos. Las mutaciones T69D (ddC) y las 67, 70 (AZT) se sitúan en el bucle entre las zonas beta-3 y beta-4 en la zona de los dedos, relativamente cerca de Leu74 por lo que pueden afectar la posición del molde directamente y/o la forma o la posición de la hebra beta-4 por lo que pueden responder a un mecanismo de acción similar al de la mutación L74V. Las mutaciones de resistencia al AZT T215Y, T215F, K219Q y K219E, posiblemente la recientemente descrita 210 (no mencionada en el texto) podrían afectar también la posición del molde de alguna forma, aunque no tan clara como las anteriores. Finalmente, en el caso de otras mutaciones que como la M41L (AZT) se encuentran en la zona hidrofóbica de los dedos en la subunidad p66, lejos del molde y del cebador, el mecanismo de acción es menos claro, no aplicándose el mecanismo descrito. Otras mutaciones como las M181I y M184V se encuentran muy cerca del sitio activo de la polimerasa y localizadas directamente bajo el final de la hebra del cebador. No está claro si estas mutaciones afectan la posición del molde-cebador o si cambian residuos que interaccionan directamente con los dNTP. El avance en el conocimiento íntimo de los mecanismos de acción de los antirretrovíricos permitirán el desarrollo de medicamentos con mayor efectividad y menor toxicidad.

R. Nájera Morrondo
Centro Nacional de Biología Celular y Retrovirus (CNBCR).
Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Candidiasis resistente a fluconazol en una cohorte de VIH

Baily GG, Perry FM, Denning DW, Mandal BK. Fluconazole-resistant candidiasis in an HIV cohort. *AIDS* 1994; 8:787-792.

Objetivos. Informar sobre la aparición de candidiasis mucosa relacionada con el VIH que no responde al fluconazol, para establecer la correlación entre los estudios de susceptibilidad in vitro y el fallo clínico, y valorar la eficacia de tratamientos alternativos. Diseño. Revisión de la historia clínica de todos los pacientes con fracaso del tratamiento con fluconazol de todos los pacientes con recuentos de CD4+ < 50 x 10⁶/l que continuaban respondiendo al fluconazol, y estudio prospectivo de susceptibilidad in vitro de la Candida. Localización. Un centro regional de tratamiento para individuos infectados por el VIH en el noroeste de Inglaterra. Pacientes. Una cohorte de 155 individuos VIH positivos con recuentos de CD4 < 300 x 10⁶/l células. Principales medidas de los resultados. El fracaso clínico de fluconazol se definió como candidiasis orofaríngea esofágica sintomática a pesar del fluconazol >100 mg al día, durante 10 días. La susceptibilidad in vitro al fluconazol se determinó para aislados de Candida. Se registran dosis acumulativas de fluconazol durante 12 meses y el momento del primer tratamiento y profilaxis con fluconazol. Resultados. Se identificaron nueve pacientes (5,8%) que cumplían la definición de fracaso del fluconazol. En todos los casos se redujo la susceptibilidad in vitro al fluconazol de los aislados orofaríngeos relacionados temporalmente. La anfotericina B por vía intravenosa fue el único tratamiento efectivo para estos pacientes cuando los síntomas eran severos y sugiriendo una resistencia cruzada al grupo azol. Un paciente, que había recibido tratamientos alternativos durante nueve meses, revirtió a una sensibilidad in vitro y clínica al fluconazol pero recayó dentro de las seis semanas de reiniciar el fluconazol. La dosis media de fluconazol durante los 12 meses anteriores para los ocho casos de adultos fue de 386 mg semanales. La dosis media durante el mismo período fue de 79 mg a la semana en 28 pacientes con recuentos de CD4 < 50 x 10⁶/l pero sin fracaso del fluconazol (diferencia, 307; intervalo de confianza del 95%, 199 - 514; p<0,0001). Conclusión. Se ha desarrollado el importante problema del fracaso clínico al fluconazol entre los pacientes VIH positivos que tienen candidiasis mucosas problemáticas recurrentes.

En los dos últimos años la candidiasis orofaríngea o esofágica resistente a fluconazol en pacientes infectados por el VIH ha sido cada vez más detectada. La observación de resistencia clínica a fluconazol obliga a descartar interacciones medicamentosas con el fluconazol, obtención de un cultivo para tipar las cepas de *Candida* productora del proceso y la realización del fungograma en un centro de referencia. En raras ocasiones la candidiasis orofaríngea ha sido debida a *Candida krusei* o *Candida glabrata*, pero la especie más frecuentemente identificada es *Candida albicans*. Por otro lado, en la actualidad no existe consenso en la normalización de la determinación de la sensibilidad a antifúngi-

cos *in vitro*. Este factor, unido a los pocos estudios que se han realizado de la correlación entre pruebas de sensibilidad a antifúngicos con la respuesta al tratamiento con azoles, nos ha dificultado la valoración de estos resultados. Sin embargo, en casi todos los estudios publicados de resistencia clínica a fluconazol, las cepas de *Candida albicans* presentaban unas CMI varias veces más altas que las cepas que eran clínicamente sensibles, con independencia del método utilizado. Se han descrito resistencias a fluconazol en pacientes tratados por episodio de candidiasis durante siete o diez días, en los tratados con dosis única por episodio, en los tratados diariamente durante tiempo prolongado con fluconazol y en los que recibían profilaxis secundaria con dosis semanales del medicamento. En el presente trabajo los autores revisan los casos de candidiasis oral resistente a fluconazol y comparan estos pacientes con un grupo control que son sensibles. Se comunica por primera vez la incidencia de candidiasis resistente a fluconazol y está calculada en un 5,8% (9 de 155 pacientes), de ellos 7 por *Candida albicans* y dos con dos cepas diferentes. Otro dato importante es que los pacientes con resistencia habían recibido más dosis acumulada de fluconazol que el grupo sensible en los 12 meses previos. Dado el escaso número de pacientes, no sacan conclusiones definitivas sobre las alternativas terapéuticas al fracaso con fluconazol, excepto el uso de anfotericina B intravenosa. Sin embargo, diversos grupos en nuestro país han observado eficacia con dosis altas de ketoconazol o itraconazol (600-800 mg/día) ingeridas con bebidas refrescantes que poseen un pH bajo e incrementan la absorción de estos medicamentos. La cifra que reflejan los autores no debe ser extrapolada a otras unidades de tratamiento de pacientes VIH positivos, ya que ellos utilizaban siempre fluconazol para tratar la candidiasis oral y realizaban profilaxis secundaria semanal con el mismo, y ambos factores pueden favorecer el desarrollo de resistencia.

F. Laguna Cuesta
Centro Nacional de Investigación Clínica y Medicina Preventiva.
Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Correlaciones entre la fosforilación de la zidovudina con marcadores de la progresión de la enfermedad por VIH y de la toxicidad farmacológica

Stretcher BN, Pesce AJ, Frame PT, et al. Correlates of zidovudine phosphorylation with markers of HIV disease progression and drug toxicity. *AIDS* 1994; 8:763-769.

Objetivo. Determinar las relaciones entre la fosforilación de la zidovudina (ZDV) in vivo en células procedentes de pacientes infectados por el VIH y los marcadores asociados con la progresión de la enfermedad y la toxicidad farmacológica.