

QUIMIOKINAS Y SUS RECEPTORES**DOS NUEVOS ACTORES EN LA FISIOPATOLOGIA DE LA INFECCION POR HIV****RAUL E. DAVARO¹, EDGARDO BOTTARO²**¹ *Memorial Health Care and University of Massachusetts, Worcester, MA, USA;*² *Medicina Integral Metropolitana, Buenos Aires*

Resumen El reciente descubrimiento de dos nuevos co-receptores utilizados por el HIV-1 para la penetración de células blanco permite una mejor comprensión de los mecanismos de interacción virus-huésped. El concomitante descubrimiento de que estos receptores son utilizados por quimiokinas allana aún más el camino en la interpretación de la biología molecular y la fisiopatología de la infección por HIV. Estos hallazgos permiten planear nuevas estrategias terapéuticas destinadas a bloquear la interacción virus-receptor.

Abstract *Chemokines and their receptors. Two new actors in the physiopathology of HIV infection.* The discovery of two novel structures (CXCR4, CCR5) that act as HIV-1 coreceptors in target cells has allowed a better understanding of the virus-cell interaction. The recent discovery that chemokines interact with the same receptors as HIV-1 has shed light in the comprehension of the viral molecular biology and pathophysiology, setting the stage for new efforts aimed at blocking virus-cell interaction.

Key words: HIV, chemokines, co-receptors

En los últimos meses se han producido numerosos avances en la comprensión de la biología molecular del HIV (virus de la inmunodeficiencia humana). Técnicas novedosas permiten cuantificar al virus en plasma¹⁻³, nuevas drogas disminuyen la replicación de manera importante⁴, y un modelo matemático permite identificar diferentes poblaciones virales⁵ con una muy alta capacidad de replicación⁶.

La reciente identificación de los receptores de las quimiokinas como cofactores para la penetración del HIV en linfocitos y macrófagos y la dilucidación de la estructura química y función de algunas quimiokinas han permitido dar pasos muy importantes para comprender mejor los mecanismos de fusión y penetración viral como también explorar nuevas estrategias que permitan alternativas terapéuticas diferentes a las disponibles⁸.

El receptor CD4, primer receptor específico descubierto

Poco después del descubrimiento HIV, se descubrió que éste ingresaba a los macrófagos y linfocitos colabo-

radores (helper) a través del receptor CD4^{9, 10}. Rápidamente se observó que si bien el receptor CD4 era capital para la fusión y penetración viral, el mismo interactuaba con otras estructuras no identificadas en la membrana celular. Esto se comprobó realizando experiencias en células animales modificadas para expresar solamente el receptor humano CD4. El virus fracasaba en la penetración celular cuando estas células sólo expresaban dicho receptor¹¹. Esto permitió hipotetizar que otros factores presentes en células humanas y ausentes en estas células híbridas eran necesarios para explicar el fenómeno de fusión y penetración celular¹². Esto motivó la búsqueda de estructuras de membrana que permitieran dilucidar el mecanismo íntimo de penetración celular utilizado por el HIV.

Lo que sigue es una integración del conocimiento actual de la interacción virus-huésped y las hipótesis que esto permite formular.

Tropismo del HIV, un obstáculo para la interpretación del mecanismo de penetración

Un hecho que complicó la identificación de co-receptores que interactuaran con el CD4 es la existencia de cepas virales con tropismo in vitro por diferentes tipos celulares¹³. Esto sugería la existencia de penetración viral a través de

Recibido: 21-V-1997

Aceptado: 24-VII-1997

Dirección postal: Dr. Edgardo Bottaro, Miranda 4402 9° A - 1407 - Buenos Aires

receptores diferentes en tipos celulares diferentes, hecho confirmado por los recientes descubrimientos¹⁴.

Existen cepas del HIV con tropismo por células transformadas de linfocitos o monocitos, que se llaman cepas T-trópicas. Estas cepas inducen in vitro la formación de sincicios celulares entre las células infectadas (SI, en inglés *syncitium inducing*). Otras cepas del HIV presentan tropismo in vitro por macrófagos y linfocitos periféricos CD4 y se denominan M-trópicas, éstas no forman sincicios (NSI en inglés *non syncitium inducing*)¹⁵⁻¹⁸.

Cuando se trata de infectar macrófagos in vitro con cepas T-trópicas se fracasa, lo mismo ocurre con las cepas M-trópicas que fracasan al intentar penetrar linfocitos colaboradores. Este tropismo por diferentes tipos celulares de cepas del HIV in vitro sugiere la utilización de diferentes receptores para la fusión y penetración.

Como veremos abajo este fenómeno de tropismo viral in vitro tiene correlación in vivo ya que las cepas M-trópicas participan en la mayoría de los casos de transmisión heterosexual¹⁹.

El tropismo viral por los diferentes tipos celulares es determinado por la región variable 3 (V3 loop) de la región gp 120 de la proteína de envoltura viral²⁰.

En células del sistema nervioso central y en células colónicas Levy describió la galactosil-ceramida como cofactor necesario para la infección viral, y cuando el virus forma complejos con anticuerpos la penetración se produciría a través del receptor para la región Fc de las inmuno-globulinas²¹.

En síntesis la existencia de cepas virales con tropismo diferente permite inferir que existen diferentes vías de penetración en tipos celulares diversos.

Identificación casi simultánea de dos nuevos receptores

En el lapso de 40 días entre el 10 de mayo y el 20 de junio de 1996 dos grupos de investigadores trabajando en centros diferentes describieron dos tipos de receptores que participan en forma activa conjuntamente con el CD4 durante la fusión y penetración viral.

Feng et al,²² utilizando una ingeniosa técnica de clonación, describieron un receptor que asociado al CD4 en células humanas permitía la penetración del HIV, el receptor fue bautizado "Fusina" o LESTR (*leukocyte-expressed seven-transmembrane-domain-receptor*). Este receptor es utilizado por cepas T-trópicas del virus para penetrar en linfocitos helper y está constituido por 7 segmentos diferentes asociados a la proteína G. La síntesis del mismo está dirigida por un gen localizado en el cromosoma 2²³. Paxton et al por su parte describieron el receptor CCR 5 como co-receptor del CD4 para ce-

pas M-trópicas del HIV^{24, 25}. El gen que dirige la síntesis del receptor CCR5 se ha localizado en el cromosoma 3p21²⁶. El receptor Fusina, ahora rebautizado CXCR4 y el receptor CCR5 se describieron en linfocitos y macrófagos respectivamente^{22, 24-25}.

Dos nuevos receptores utilizados por las cepas HIV M-trópicas fueron descritos inmediatamente después, el CCR-3 y el CCR-2b^{26, 27}. Teleológicamente estos receptores interactúan con mensajeros químicos solubles denominados quimiokinas atrayendo glóbulos blancos a las áreas de inflamación. El nombre de "quimiokinas" se debe a que combinan la capacidad de generar quimioatracción y de actuar como citokinas²⁸. Las quimiokinas son polipéptidos de 70 a 90 aminoácidos que se clasifican en alfa quimiokinas y beta quimiokinas²⁹.

Químicamente las alfa quimiokinas también conocidas como CXC tienen un aminoácido entre los dos primeros residuos de cisteína y el gen que dirige su síntesis se encuentra en el cromosoma 4. Las beta quimiokinas o CC carecen de residuos de aminoácidos entre las dos primeras cisteínas. Estas pequeñas moléculas atraen diferentes tipos de leucocitos a los sitios de infección. Las alfa quimiokinas como la Interleukina 8 activan neutrófilos, y las beta quimiokinas activan linfocitos T, basófilos, eosinófilos, y macrófagos²⁸.

Los receptores para las quimiokinas actúan ante señales muy diversas como catecolaminas y péptidos²⁹. Estos receptores están asociados al sistema intracelular de la proteína G. La familia de los receptores asociados al sistema de la proteína G está constituida por numerosos miembros, entre ellos: los receptores a las catecolaminas, acetilcolina, dopamina, histamina, prostaglandinas, péptidos como la vasopresina, ocitocina y angiotensina, y proteínas como el glucagón y la tirotrópina²⁷. El receptor CXCR4 interactúa con la quimiokina SDF-1 (*stromal cell-derived factor 1*) cuya función es inducir proliferación de linfocitos B y reclutar linfocitos T^{30, 31}. El receptor CCR5 interactúa con varias quimiokinas entre ellas RANTES (*regulated-upon-activation normal T expressed and secreted*), MIP-1 alfa (*macrophage inflammatory protein 1 alpha*), y MIP-1 beta (por *macrophage inflammatory protein 1 beta*) producidas por linfocitos CD8^{24, 25}. Es posible que estos receptores respondan no solo a estos sino también a otros estímulos químicos²⁹.

Posible rol de las quimiokinas. Controversia no resuelta

Es interesante señalar que seis meses antes de la descripción de los 2 nuevos co-receptores, dos grupos de investigadores identificaron cuatro quimiokinas con capacidad supresiva de la replicación in vitro del HIV, por lo que la capacidad supresiva de las quimiokinas in

vitro se conoció antes que los receptores sobre los cuales estas sustancias actuaban³². Cocchi et al³³ publicaron que tres quimiokinas RANTES, MIP1-alfa y MIP-1 beta producidas por linfocitos CD8 jugaban un rol importante en el control de la replicación in vitro del HIV en células mononucleares periféricas. Baler et al³⁴ a su vez identificaron que la interleukina-16 uniéndose al receptor CD4 producía por mecanismos desconocidos inhibición de la replicación del HIV²⁴.

Poco después del descubrimiento del receptor CCR5 Moore y Koup²⁴ armonizaron los hallazgos de la acción in vitro de las quimiokinas con el receptor CCR5. Estos investigadores observaron que las recientemente descritas quimiokinas RANTES, MIP1-alfa, y MIP1-beta interferían en la unión de cepas de HIV M-trópico al receptor CCR5 ya que las quimiokinas y el HIV competirían por el mismo blanco.

El descubrimiento que las quimiokinas inhibían in vitro la penetración y posterior proliferación de cepas M-trópicas del HIV permitió formular varias hipótesis: 1) Zanussi³⁵, y Clerici³⁶ postularon que los pacientes infectados con HIV sin descenso de CD4 ni infecciones oportunistas luego de 7 años y que se clasifican como no progresores (*Long term non progressors*, LTNP) producían quimiokinas en mayor cantidad que los que presentan progresión más acelerada, lo que explicaría la evolución clínica más lenta de los primeros. Esta hipótesis no pudo ser demostrada dado que no se observó diferencia entre los no progresores y los que tuvieron progresión clínica en la producción media de quimiokinas; 2) Chen y Gupta³⁷ corroboraron la capacidad de los linfocitos CD8 para producir las quimiokinas RANTES, MIP1-alfa, y MIP1-beta pero estas sustancias in vitro fracasaron en inhibir la infección de células T; 3) Blazevic et al³⁸, corroboraron los hallazgos de Chen y Gupta.

En suma, existen hallazgos que indican que las quimiokinas tienen la capacidad de bloquear la penetración y posterior replicación del HIV-1 a la célula blanco in vitro. Dependiendo del tipo de cepa viral estudiada este bloqueo puede oscilar entre un 7 a un 99%^{39,40}. No está claro el efecto que estas sustancias tienen in vivo al competir por los mismos receptores que el HIV.

Mecanismo de penetración

Descubiertos los nuevos receptores podemos comprender mejor el mecanismo de interacción, fusión y penetración del virus en células que poseen al receptor CD4 y la interacción de éste con los mismos. El HIV se une al receptor CD4 a través de una región de la proteína de envoltura, la región gp 120¹³. Posiblemente esta unión genera cambios conformacionales tanto en el receptor CD4 como en la región gp 120 de la envoltura viral²¹. Estos cambios aparentemente "expondrían"

especialmente regiones químicamente capaces de unirse al receptor CXCR4 en el caso de cepas T trópicas²². En el caso de cepas M trópicas el receptor utilizado sería el CCR5^{24,25}. La proteína de envoltura del HIV tiene dos conspicuas regiones la gp 120 y la gp 40¹³. Una vez que el receptor CD4 y el CXCR4 o CCR5 interactúan con la región gp120 de la proteína de envoltura, la región gp 41 de esta proteína sufre cambios conformacionales⁵⁴ e interactúa con regiones de la membrana plasmática produciéndose la fusión del virus a la célula y su posterior penetración²¹. En estos mecanismos postulados para la penetración del HIV se basan los conocimientos actuales, pero no explican la penetración en todos los diferentes tipos celulares afectados por el virus ni la interacción completa del virus con la célula huésped (Fig. 1).

Tropismo celular, vías de infección

Como expresamos anteriormente existen cepas virales con tropismo in vitro por diferentes tipos celulares¹⁵⁻¹⁸. Este hallazgo tiene connotaciones prácticas importantes. Las cepas que causan la mayor parte de la transmisión de la infección por vía heterosexual son las M-trópicas¹⁹, utilizan el receptor CCR5 y en menor medida el CCR3 como co-receptor del CD4 para fusionarse y penetrar en macrófagos y en linfocitos que tengan estos receptores⁴¹.

Las cepas T-trópicas infectan linfocitos T que poseen el receptor CD4 y el receptor para las quimiokinas alfa CXCR4. Existen aún receptores no identificados como se deduce de estudios in vitro⁴¹.

Existen cepas que pueden utilizar ambos receptores y también los receptores CCR-2b y CCR-3^{26,27}. La desigual distribución de las diferentes cepas sugiere que es posible que la misma sea consecuencia de las diferentes vías de transmisión predominante en cada una de ellas.

Existen diferentes genotipos de HIV que se clasifican de acuerdo a las secuencias de los genes *env* y *gag*⁴². El primero de los genes codifica las proteínas de la envoltura que median la unión y fusión con la membrana plasmática de la célula huésped. El gen *gag* codifica las proteínas de la nucleocápside¹³. Los subtipos se han clasificado con las letras del alfabeto latino de A a I. Los subtipos A, C y D predominan en el Africa subsahariana, el C en India y el E en Tailandia. El tipo B predomina en América y Europa. Estos nueve genotipos pertenecen al grupo M. Recientemente se ha descrito un nuevo grupo, el O, de aparente distribución predominante en Africa⁴². Esta diversidad genética tiene importancia médica pues existe evidencia suficiente que sustenta diferencias en la trasmisibilidad de las diferentes cepas.

Durante la infección por vía heterosexual con cepas M-trópicas se han propuesto las células de Langerhans

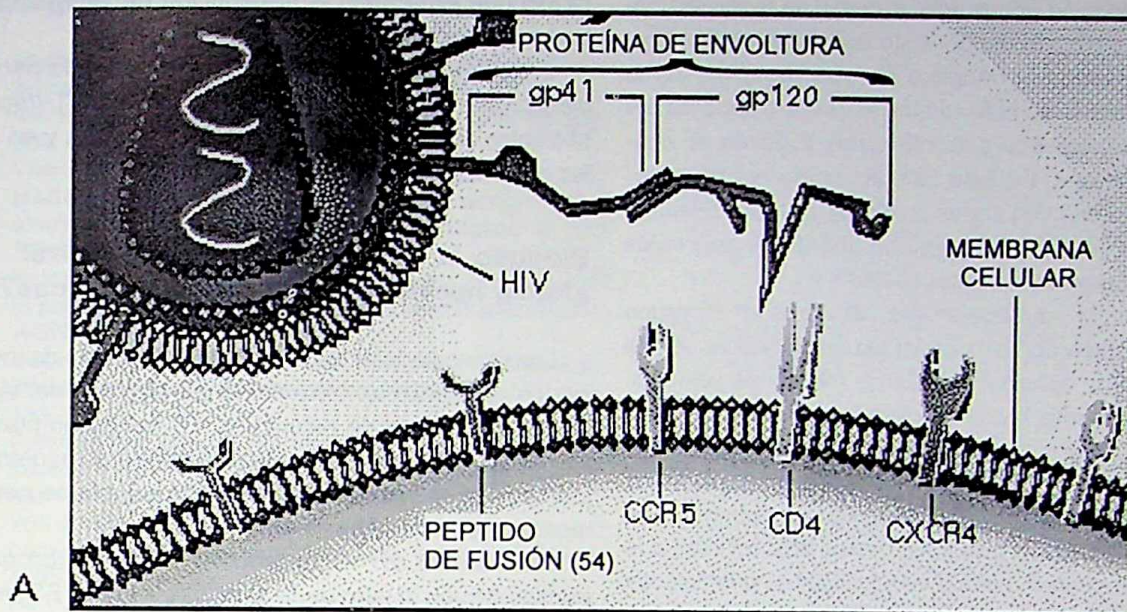


Fig. 1.— Interacción entre la proteína de envoltura viral a través de sus dos subunidades con el receptor CD 4 y los co-receptores CCR5 y CXCR4 (en este último caso dependiendo del tipo de célula T-trópica o M-trópica respectivamente). El péptido de fusión es una estructura de la membrana de la célula blanco que se une a la subunidad gp 41 de la proteína de envoltura viral, esta interacción es seguida por la penetración del core viral^{21, 50}.

(CL) como un posible blanco primario del HIV¹⁹. Estas células que expresan el receptor CD4 se encuentran en la mucosa oral y genital. Recientemente, se ha demostrado que el virus aislado de individuos infectados tailandeses (predominancia de Cepa E) tenía un mayor tropismo por las CL que el virus aislado de infectados homosexuales estadounidenses (Cepa B). Los autores proponen que el subtipo E que se transmite por vía heterosexual tendría mejor adaptación a esta transmisión que las cepas aisladas de los homosexuales (cepa B) que se transmitiría más eficientemente por vía parenteral y homosexual que son las dos formas de transmisión predominante en EEUU actualmente. Esto sin embargo no explica la aparente adaptación de la cepa B a la transmisión heterosexual en América Latina donde ésta predomina en la transmisión heterosexual.

En suma, existen diferentes genotipos virales con distribución geográfica predominante para cada uno de ellos que pueden ser consecuencia de una selección Darwiniana; a su vez, estos genotipos presentarían una forma de transmisión predominante en las diferentes áreas que habitan.

Mutación de los receptores y protección contra la infección

Desde el comienzo de la epidemia y como en toda enfermedad infecciosa existen individuos que a pesar

de haber sido expuestos al HIV no se han contagiado. El reciente descubrimiento de co-receptores para el HIV ha permitido demostrar que en algunos casos esto puede ser parcialmente explicado por modificaciones en los mismos. Samson et al⁴⁴ descubrieron un alelo mutante del CCR5: el CCR5Δ 32 producto de una deleción de 32 pares de bases que resulta en la síntesis de un receptor no funcional resistente a la unión con cepas M-trópicas o a la infección por cepas con capacidad dual macrófago y linfocito-trópicas. Esta mutación es bastante frecuente en individuos caucásicos con una frecuencia de 1% para homocigosis y de 15 al 20% para heterocigosis. A pesar de esta alta prevalencia de homocigosis en estudios realizados en unos 3000 infectados no se encontraron individuos infectados homocigotas para esta mutación (CCR5Δ 32) en EEUU.

En tres individuos homocigotas para la deleción 32 del CCR5 recientemente descritos, contrariamente a lo esperado se produjo infección por HIV, postulándose en este caso que la fusión y penetración se podrían haber producido por los receptores CCR1, CCR2, CCR3, o debido a la infección con una cepa T-trópica que utiliza el receptor CXCR4^{45, 55, 56}.

En un extenso estudio poblacional se cuantificó el polimorfismo del receptor CCR5 en 406 individuos HIV positivos y en 261 seronegativos. Los pacientes infectados por HIV, con expresión de defectos genéticos a nivel del gen para el receptor CCR-5 tuvieron una progresión más lenta y los no infectados una mayor protección

contra la infección por el HIV a pesar de tener relaciones sexuales de alto riesgo. Esto señala un efecto "protector" producido por defectos en este receptor. Como señalamos anteriormente existen virus con tropismos por diferentes células que son infectadas a través de diferentes receptores. En este estudio, como era de esperar, los pacientes con cepas linfotrópicas (que utilizan el receptor CXCR4) no presentaron beneficios aparentes con mutaciones del receptor CCR5⁴⁶.

Paxton et al⁴⁷ publicaron sus hallazgos en un grupo de 25 pacientes con antecedentes de conducta sexual de alto riesgo, definida ésta como relaciones sexuales con individuos infectados sin mediar protección. El estudio in vitro de los linfocitos CD4 de estos individuos mostró que los mismos eran menos susceptibles a la infección que los linfocitos CD4 de un grupo control. Los linfocitos CD8 de los pacientes menos susceptibles a la infección mostraron una mayor actividad de quimiocinas RANTES, MIP-1 alfa y MIP-1 beta. Sólo dos de estos 25 pacientes tenían cambios conformacionales a nivel del

CCR5 que explicaban la disminución de la susceptibilidad a la infección.

En la Figura 2 se esquematizan dos vías de penetración diferentes utilizadas por cepas de virus T-trópico y M-trópico en células con receptores normales y en células con receptores CCR5 mutantes.

Bloqueo in vitro de la penetración viral. ¿Hacia nuevas alternativas terapéuticas?

Los últimos adelantos han impulsado líneas de investigación que tratan de bloquear la penetración del virus a través del bloqueo de receptores. Es necesario puntualizar que en el pasado el intento de bloquear la penetración del virus administrando receptor CD4 soluble no permitió alcanzar resultados terapéuticos útiles^{48, 49}.

Simmons et al⁵⁰ recientemente demostraron que la administración in vitro de la quimiocina RANTES modificada químicamente en su extremo amino terminal para brindarle una afinidad más alta por el receptor CCR5 inhibía la infección de macrófagos y linfocitos por cepas de HIV M-trópico. Esto brinda pistas para explorar las potencialidades terapéuticas de esta sustancia o sustancias similares. Las cepas M-trópicas estarían involucradas en el 90% de la transmisión heterosexual, en consecuencia el receptor CCR5 sería muy importante en el comienzo y establecimiento de la infección⁵⁰.

Seisdedos-Arenzana et al⁵¹ modificaron químicamente la quimiocina RANTES eliminando los primeros ocho aminoácidos de la misma. Esto se tradujo en pérdida de la capacidad quimiotáctica y de la capacidad de activar leucocitos. Esta proteína modificada mostró una alta afinidad por el receptor CCR5 bloqueando la penetración in vitro de cepas M-trópicas de VIH.

Si bien estos dos equipos han logrado demostrar la utilidad in vitro de estas quimiocinas modificadas químicamente la aplicación de estos principios in vivo presenta aún numerosos obstáculos. Es necesario lograr el desarrollo de quimiocinas modificadas que posean únicamente la capacidad bloqueante de los receptores sin ninguna de las otras propiedades que las caracterizan.

En suma, el descubrimiento de dos nuevos co-receptores del CD4, la mejor comprensión de la acción de algunas quimiocinas, la modificación química de las mismas para bloquear la fusión y penetración viral y la dilucidación de modificaciones genéticas de los receptores que permiten explicar la disminución de la susceptibilidad de algunos individuos al HIV, son parte de los hallazgos recientes que permiten abrir nuevas vías de investigación en la comprensión de la biología molecular del virus, su interacción con el huésped y las alternativas terapéuticas futuras.^{52, 53}

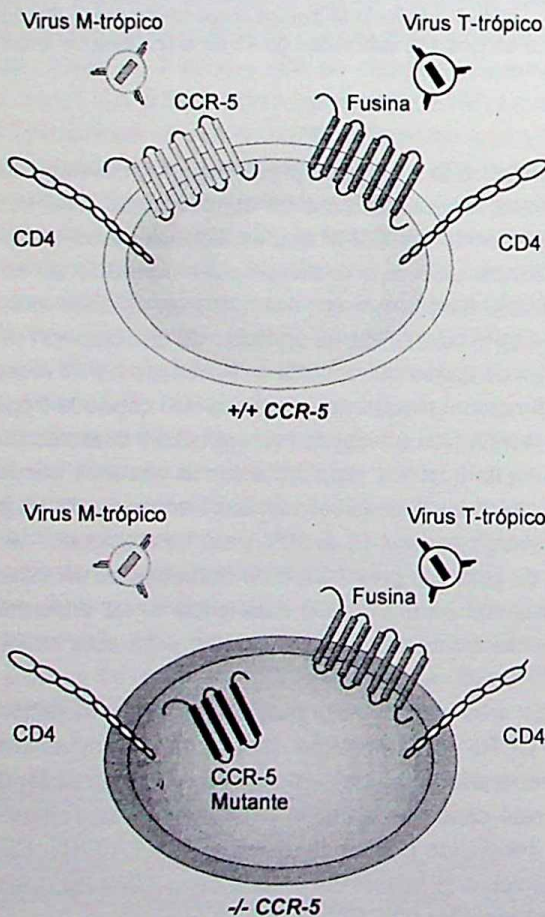


Fig. 2.- Interacción entre los diferentes tipos de virus M-trópico o T-trópico con los diferentes sub-tipos de receptores Fusina (CXCR4) o CCR5 respectivamente. En el esquema inferior se observa la consecuencia de la mutación del receptor CCR5, esta mutación no modifica la interacción con el receptor a la Fusina.

Bibliografía

1. Mulder J. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 in plasma: application to acute retroviral infection. *J Clin Micro* 1994; 32: 292-330.
2. Van German B. A one tube quantitative HIV-1 ARN NASBA nucleic acid amplification assay using electrochemiluminiscent (ECL) labelled probes. *J Virol Meth* 1994; 49: 156-67.
3. Parch C. Rapid and precise quantification of HIV-1 ARN in plasma using Branch DNA signal amplification assay. *AIDS* 1995; 8: 446-64.
4. Deeks SG, Smith M, Holodiny M, Kahn JO. HIV-1 protease inhibitors. A review for clinicians. *JAMA* 1997; 277: 145-153.
5. Perelson AS, Neuman AU, Markowitz M, et al. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271: 1582-6.
6. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995; 373: 117-22.
7. 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.
8. Havlir DV, Richman DD. Viral dynamics of HIV: implications for drug development and therapeutic strategies. *Ann Inter Med*. 1996; 124: 984-94.
9. Dagleish AG, Beverley PC, Clapham PR, et al. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor of the AIDS retrovirus. *Nature* 1984; 312: 763-7.
10. Klatzman D, Champagne E, Chamaret S, et al. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984; 312: 767-8.
11. Maddon PJ. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell* 1986; 47: 333-48.
12. Landau NR, Warton M, Littman DR. The envelope glycoprotein of the human immunodeficiency virus binds to the immunoglobulin like domain of CD4. *Nature* 1991; 334: 159-62.
13. Greene WC. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection *N Engl J Med* 1991; 324: 308-17.
14. Weiss RA, Clapham PR. Hot fusion of HIV. *Nature* 1996; 381: 647-8.
15. Gartner S, Markovits P, Markowitz DM, et al. The role of mononuclear phagocytes in HTLV-III/LAV infection. *Science* 1986; 233: 215-9.
16. Castro BA, Cheng-Mayer C, Evans LA, et al. HIV heterogeneity and viral pathogenesis. *AIDS* 1988; 2: Suppl 1: S17-S27.
17. Tersmette M, et al. Differential syncytium-inducing capacity of human immunodeficiency virus isolate: frequent detection of syncytium inducing isolates in patients with acquired immunodeficiency virus syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *J Virol* 1988; 62: 2026-32.
18. Tersmette M. Evidence for a role of virulent human immunodeficiency virus (HIV) variants in the pathogenesis of acquired immunodeficiency virus syndrome: Studies of sequential isolates. *J Virol* 1989; 63: 2118-25.
19. Soto Ramírez LE, Renjifo B, McLane MF, et al. HIV-1 Langerhans' cell tropism associated with heterosexual transmission of HIV. *Science* 1996; 271: 1291-3.
20. Hwang SS, Boyle TJ, Lysterly KH, Cullen BR. Identification of the envelope V3 loop as the primary determinant of cell tropism in HIV-1. *Science* 1991; 253: 71-4.
21. Levy JA. Infection by human immunodeficiency virus - CD4 is not enough *N Engl J Med* 1996; 335: 1528-9.
22. Feng Y, Broder CC, Kennedy P, Berger EA. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 1996; 272: 872-7.
23. Federspiel B, et al. Molecular cloning of the cDNA and chromosomal localization of the gene for a putative seven-transmembrane segment (7-TMS) receptor isolated from human spleen. *Genomics* 1993; 16: 707-12.
24. Dragic T, Litwin V, Allaway GP, et al. HIV-1 entry into CD4 cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR5. *Nature* 1996; 381: 667-73.
25. Deng HK, Liu R, Ellmeier W, et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996; 381: 661-6.
26. Doranz BJ, et al. A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusin and the beta-chemokine receptor CKR5, CKR3, and CKR2b as fusion cofactors. *Cell* 1996; 85: 1149-58.
27. Hyeryun C, et al. The beta-chemokine receptor CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell* 1996; 85: 1135-48.
28. Murphy PM. The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 593-633.
29. D'Souza MP, Harden VA. Chemokines and HIV-1 second receptors. *Nature Med* 1996; 2: 1293-1300.
30. Oberlin E, Amara A, Bachelier F, et al. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature* 1996; 382: 833-5.
31. Bleul CC, Farzan M, Choe H, et al. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature* 1996; 382: 829-32.
32. Fauci AS. An elusive suppressor. *Nature* 1995; 378: 561.
33. Cocchi F, De Vico AL, Garzino-Demo A, et al. Identification of RANTES, MIP-1 alfa, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8 T cells. *Science* 1995; 270: 1811-5.
34. Baler M, Werner A, Banner N, et al. HIV suppression by Interleukin-16. *Nature* 1995; 378: 563.
35. Zanussi S, D'Andrea M, Simonelli C, Tirelli U. Serum levels of RANTES and MIP-1 alfa in HIV positive long-term survivors and progressor patients. *AIDS* 1996; 271: 1431-2.
36. Clerici M, Balotta C, Trabattoni D, et al. Chemokine production in HIV-seropositive long-term asymptomatic individuals. *AIDS* 1996; 271: 1432-3.
37. Chen Y, Gupta P. CD8 T-cell-mediated suppression of HIV-1 infection may not be due to chemokine RANTES, MIP-1 alfa and MIP-1 beta. *AIDS* 1996; 271: 1434-5.
38. Blazevic V, Heino M, Ranki A, et al. RANTES, MIP and Interleukin-16 in HIV infection. *AIDS* 1996; 271: 1435-6.
39. Weissman D. Role and potential mechanism of action of chemokines in HIV replication. XI International Conference on AIDS. Vancouver, 1996.
40. Poli G, Ghezzi S, Alfano M, Vicenzi E. Suppression of HIV-1 replication by RANTES occurs at an early pre-integration level. XI International Conference on AIDS. Vancouver, 1996.
41. Moore JP. Coreceptors: implications for HIV pathogenesis and therapy. *Science* 1997; 276: 51-2.
42. Hu DJ, Dondero TJ, Rayfield MA, et al. The emerging genetic diversity of HIV. *JAMA* 1996; 275: 210-6.
43. Hill CM, Littman DR. Natural resistance to HIV? *Nature* 1996; 382: 668-9.
44. Samson M, Libert F, Doranz BJ, et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996; 382:

- 722-5.
45. Bliti R, French R, Young J, et al. HIV-1 infection in an individual homozygous for the CCR5 deletion allele. *Nature Med* 1997; 3: 252-3.
 46. Michael NL, Chang G, Louie LG, et al. The role of viral phenotype and CCR-5 gene defects in HIV-1 transmission and disease progression. *Nature Med* 1997; 3: 338-41.
 47. Paxton WA, Martin SR, Tse D, et al. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposures. *Nature Med* 1996; 2: 412-7.
 48. Fisher RA, Bertonis JM, Meier W, et al. HIV infection is blocked in vitro by recombinant soluble CD4. *Nature* 1988; 331: 76-8.
 49. Daar ES, Li XL, Moudgil T, Ho DD. High concentrations of recombinant soluble CD4 are required to neutralize primary human immunodeficiency virus type 1 isolates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6574-8.
 50. Simmons G, Clapham PR, Picard L, et al. Potent inhibition of HIV-1 infectivity in macrophages and lymphocytes by a novel CCR5 antagonist. *Science* 1997; 276: 276-9.
 51. Seisdedos-Arenzana F, Virelizier JL, Rousset D, et al. HIV blocked by chemokine antagonist. *Nature* 1996; 383: 400.
 52. Pennisi E, Cohen J. Eradicating HIV from patient: Not just a dream? *Science* 1996; 272: 1884.
 53. Weiss RA. HIV receptors and the pathogenesis of AIDS. *Science* 1996; 272: 1885.
 54. Chan DC, Fass D, Berger JM, et al. Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell* 1997; 89: 263-73.
 55. O'Brien TR, Winkler C, Dean M, et al. HIV-1 infection in a man homozygous for CCR5 Δ 32. *Lancet* 1997; 349: 1219.
 56. theodoru Y, Meyer L, Magierowska M, et al. HIV-1 infection in an individual homozygous for CCR Δ 32. *Lancet* 1997; 349: 1219-20.
 57. Insel PA. Adrenergic receptors. Evolving concepts and clinical implications. *N Engl J Med* 1996; 334: 580-5.

Les idées préconçues sont le phare qui éclaire l' expérimentateur et qui lui sert de guide pour interroger la nature. Elles ne deviennent un danger que si on les transforme en idées fixes. C'est pourquoi je voudrais voir inscrites sur le seuil de tous les temples de la science ces profondes paroles: le plus grand dérèglement de l'esprit est de croire les choses parce qu'on veut qu'elles soient.

Las ideas preconcebidas son el faro que ilumina al investigador y que le sirve de guía para interrogar a la Naturaleza. Se tornan un peligro sólo cuando se transforman en ideas fijas. Es por eso que yo quisiera ver escrito en el umbral de todos los templos de la ciencia estas palabras profundas: el más grande desvío espiritual es creer en las cosas porque se quiere que ellas sean así.

Louis Pasteur (1822-1895)

Le lettre de l'Institut Pasteur 1995; 9: 17