

Glucoproteína P e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana

Galo Peralta^a, María Blanca Sánchez^b, Santiago Echevarría^c, Elsa María Valdizán^b y Juan Antonio Armijo^b

^aServicio de Medicina Interna. Hospital Sierrallana. Torrelavega. Cantabria. Servicios de ^bFarmacología Clínica y ^cMedicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. España.

La glucoproteína P (PGP) es una proteína de membrana, producto del gen *MDR-1*, que actúa como bomba expulsora de diversos fármacos, entre ellos los inhibidores de proteasa (IP) del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Numerosos estudios *in vitro*, en animales y en pacientes, han analizado las relaciones de esta proteína con la farmacocinética y farmacodinamia de los antirretrovirales, con conclusiones dispares. Por otra parte, las publicaciones que analizan la influencia de los polimorfismos de nucleótido único del gen *MDR-1*, principalmente el C3435T en el exón 26, y el G2677A/G2677T en el exón 21, con las concentraciones plasmáticas de los antirretrovirales, su eficacia y efectos secundarios también demuestran resultados variables que se han tratado de explicar mediante la influencia de otros polimorfismos como el del citocromo p-450.

Palabras clave: Glucoproteína P. Gen *MDR-1* VIH. Polimorfismos. Antirretrovirales. Farmacogenética.

P-glycoprotein and human immunodeficiency virus infection

P-glycoprotein (PGP) is a membrane protein and product of the *MDR-1* gene, which acts as an efflux pump for several drugs, such as protease inhibitors (PI) used in HIV. Numerous studies *in vitro*, in experimental animals, and in patients have analyzed the relationships between PGP and the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of antiretroviral agents, with differing conclusions. In addition, studies focusing on the impact of single nucleotide polymorphisms in the *MDR-1* gene, mainly C3435T in exon 26 and G2677A/G2677T in exon 21, on antiretroviral plasma concentrations, efficacy and adverse effects, have reported varying results, which have been attributed to the influence of other polymorphisms, such as cytochrome P450.

Key words: P-glycoprotein. *MDR-1* gene. HIV. Polymorphisms. Antiretroviral therapy. Pharmacogenetics

Correspondencia: Dr. G. Peralta.
Servicio de Medicina Interna. Hospital Sierrallana.
Barrio de Ganzo, s/n. 39300 Torrelavega. Cantabria. España.
Correo electrónico: gpf@mundivia.es

Manuscrito recibido el 7-7-2006; aceptado el 14-12-2006.

Introducción

La respuesta de los pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) al tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) es muy variable, por lo que el tratamiento, tras el primer año, fracasa entre el 20 y el 88% de los pacientes¹. Los factores que influyen en este fracaso son diversos y se relacionan con el propio virus, con el tratamiento farmacológico o con el paciente, y es la adherencia al tratamiento un factor clave²⁻⁴. Aspectos relacionados directamente con el enfermo y de gran importancia son los factores genéticos que determinan la gran variabilidad en la farmacocinética y farmacodinamia de los antirretrovirales^{5,6}. La farmacogenética trata de explicar estas diferencias interindividuales y estudia cómo influyen los polimorfismos genéticos en la respuesta a los diferentes fármacos^{7,8}. En los últimos años sus avances han ayudado a comprender aspectos relacionados con la respuesta a los antirretrovirales, o sus efectos adversos. Ejemplos de ello son las asociaciones de los haplotipos HLA-B*5701, HLA-DR7, y HLA-DQ3 y hsp70-hom con la hipersensibilidad al abacavir, del genotipo 1 de la enzima uridín difosfato glucuronil transferasa con la hiperbilirrubinemia causada por atazanavir, y del HLA-DRB1*01 con la hepatitis y exantema cutáneo originados por nevirapina⁶.

En el futuro, la farmacogenética se esboza como una herramienta necesaria para crear fármacos a la carta^{7,9}. Una de las proteínas que más ha estudiado esta disciplina es la glucoproteína P (PGP), una proteína de membrana con un papel clave en los procesos de transporte y eliminación de diversos fármacos como los antirretrovirales¹⁰⁻¹³.

La glucoproteína P

Las células del epitelio intestinal, túbulo renal, placenta, testículos y barrera hematoencefálica (BHE) expresan diversos tipos de proteínas transportadoras que sirven para bombear fuera de la célula sustancias potencialmente tóxicas, como, por ejemplo, fármacos¹¹. Una de estas proteínas es la PGP, una proteína transmembrana de 170 kD, compuesta por 1.280 aminoácidos con seis dominios, perteneciente al grupo de las proteínas ABC (*ATP-binding cassette*). Está compuesta por dos homólogos simétricos que tienen como misión transportar azúcares, péptidos, polisacáridos, nucleósidos, proteínas y algunos fármacos desde el interior al exterior de la célula, obteniendo la energía necesaria para este transporte, contra gradiente de concentración, de la hidrólisis del ATP¹⁰⁻¹³.

La PGP es codificada por el gen ABCB-1 (*ATP-binding cassette*, subfamilia B) también llamado gen *MDR-1* (*Multi Drug Resistance*)¹². En roedores existen tres genes *mdr* (*mdr-1a*, *mdr-1b* y *mdr-2*) y en el hombre dos *MDR* (*MDR-1* y *MDR-3*). Los genes *MDR-1*, *mdr-1a* y *mdr-1b* codifican la PGP, mientras que los genes *MDR-3* y *mdr-2* codifican una ATPasa^{12,13}.

La PGP se expresa en multitud de tejidos: tejido hematopoyético, células sanguíneas, BHE, hepatocitos, células del túbulo proximal renal, enterocitos, epitelio del plexo corioideo, placenta, ovarios y testículos¹⁰. La PGP no es imprescindible para la vida de los ratones como demuestran los estudios con ratones *knock-out* que tienen una viabilidad y supervivencia normal. Estos mismos estudios han demostrado una cierta especialización: la PGP codificada por el gen *mdr-1a* se expresa en el hígado y el riñón, mientras que la PGP codificada por el gen *mdr-1b* se expresa en el intestino, la BHE y la placenta¹³.

Aunque esta revisión se centra en la importancia de la PGP dentro de la infección por VIH, hay que destacar que buena parte de la literatura médica que se refiere a esta glucoproteína se ha centrado en la relación de la PGP con la respuesta al tratamiento en diversos tumores y enfermedades hematológicas.

PGP y fármacos

Son sustratos de la PGP bien documentados fármacos como la digoxina, diversos antitumorales, los anticalcineurínicos (ciclosporina y tacrolimus), algunos antiepilépticos y los inhibidores de la proteasa (IP) del VIH^{10,11}. La PGP actúa sobre ellos con su acción de bomba expulsora con especial repercusión en el intestino, los riñones y la vía biliar¹⁰. En el intestino causa una secreción hacia la luz de sus sustratos^{11,14} como por ejemplo los IP, lo que se manifiesta con una limitación de su absorción¹⁵. En el túbulo renal se localiza igualmente en la membrana apical y expulsa hacia la orina los fármacos que acceden a la célula desde la sangre¹⁶. También se localiza en la membrana apical del canalículo biliar, donde causa un efecto similar¹⁷.

Así pues, tanto por su efecto intestinal, como renal y biliar, la PGP contribuye a una disminución de la absorción y a un aumento de la eliminación del organismo de los fármacos que son sus sustratos. Por ello, los inductores de la PGP como la rifampicina, reducen las concentraciones de IP, contribuyendo de manera muy importante a esta acción el efecto inductor simultáneo de la rifampicina sobre el citocromo P-450¹⁸. Por el contrario, la inhibición de la PGP aumenta la absorción de los fármacos. Así, el ritonavir, que inhibe la PGP¹⁹, aumenta la concentración plasmática de la digoxina²⁰.

Muchos de estos fármacos que actúan sobre la PGP, como el ritonavir y la rifampicina, son a la vez sustratos del CYP3A4, y muchas células coexpresan ambas proteínas. Por ello, se ha sugerido que la expresión conjunta del CYP3A4 y de la PGP en el hígado o el intestino puede tener un papel sinérgico de protección del organismo frente a agentes exógenos^{10,11}. Además, se debe tener en cuenta que la PGP tiene un importante papel en la modulación de la expresión del CYP3A4, lo que puede complicar la predicción de interacciones de fármacos que sean sustratos de ambas proteínas¹⁰.

La PGP tiene un papel clave en la distribución tisular de los fármacos, limitando su paso al compartimiento intracelular y a determinados tejidos, especialmente al sistema nervioso central (SNC), a los testículos y al feto a través de la placenta^{10,11,15}. De hecho, la captación celular de los IP por linfocitos CD4+ está limitada por acción de la PGP^{21,22}. Utilizando modelos experimentales con ratones carentes del gen *mdr-1*, se ha comprobado que la PGP tiene un papel limitante clave sobre la entrada al SNC de fármacos como ciclosporina, digoxina, vinblastina¹⁰ y los IP^{15,23-25}. De manera similar la concentración fetal de los IP aumenta notablemente cuando se bloquea la PGP o en ratones sin el gen *mdr-1*²⁴⁻²⁶. La inhibición farmacológica de la PGP en pacientes, utilizando ritonavir en dosis bajas, también aumenta la concentración de los IP en semen y líquido cefalorraquídeo²⁷.

Puesto que la PGP limita la entrada de diversos fármacos al organismo y su llegada a determinados tejidos y células, puede ser responsable de la ineficacia de los tratamientos con fármacos que son sus sustratos. De hecho, el papel clave de la PGP en la eliminación de algunos fármacos explica la relación entre su expresión y la respuesta al tratamiento de algunas neoplasias y leucemias²⁸. De manera similar la PGP puede contribuir a la limitación del acceso de los fármacos antirretrovirales a santuarios, que actúan como reservorios de virus, en los que el VIH se replica a pesar del TARGA. Éste es uno de los aspectos clave que puede impedir la erradicación del VIH de los pacientes infectados²⁹⁻³¹. La PGP se plantea como una atractiva diana terapéutica para facilitar la llegada de los fármacos a estos reservorios, aunque los inhibidores de la PGP pueden actuar sobre otros fármacos administrados simultáneamente que también sean sustratos de la PGP, originando un aumento de su absorción y entrada en distintos compartimientos que conlleve mayor toxicidad.

Polimorfismo de la PGP

La PGP presenta una gran variabilidad en su expresión entre individuos. Esta gran variabilidad interindividual en la expresión de la PGP se debe, al menos en parte, a la presencia de polimorfismos genéticos^{10,17}. Hasta el momento, se han descrito 29 polimorfismos de un sólo nucleótido en el gen *MDR-1*¹⁰. De ellos, 26 no alteran la expresión ni la función de la PGP y sólo tres polimorfismos (el C3435T en el exón 26, el G2677A/G2677T en el exón 21 y el T129C en el exón 1b) se han asociado con variaciones en la expresión y/o función de la PGP^{10,14,32-34}. En el polimorfismo C3435T, los homocigotos CC expresan más PGP en el intestino, placenta y en los linfocitos que los TT^{14,33,34}. También se ha descrito que el polimorfismo C3435T puede coexistir con el polimorfismo G2677T/A, e incluso con el polimorfismo C1236T (polimorfismo sinónimo en el exón 12), lo que hace que algunos efectos atribuidos al polimorfismo C3435T puedan deberse realmente a otros¹⁰. Los polimorfismos se distribuyen de manera diferente según las poblaciones. Así por ejemplo, el alelo T del polimorfismo C3435T es raro en la población africana y frecuente en varias poblaciones caucásicas y asiáticas^{8,32}. En nuestro país, la distribución de frecuencias del polimorfismo C3435T es similar a la de otros países caucásicos³⁵.

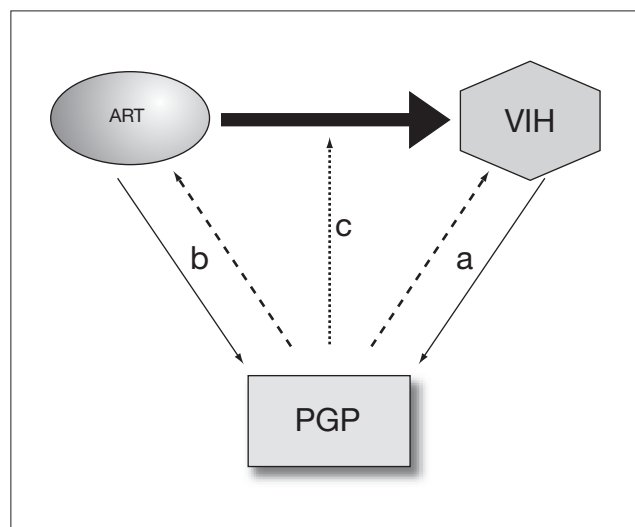


Figura 1. Las interacciones entre la glucoproteína P (PGP) y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) son complejas. La PGP parece influir en la infectividad por el VIH y, a su vez, la infección por el VIH altera la expresión de la PGP (a). Por otra parte, algunos antirretrovirales afectan a la expresión de la PGP y, a su vez, la PGP influye en su farmacocinética (b) y farmacodinamia (c).

Algunos datos sugieren que el polimorfismo TT, que implica una menor expresión de la PGP, se asocia con una mejor respuesta a fármacos antineoplásicos²⁸, antiepilépticos³⁶, esteroides en niños trasplantados de corazón³⁷ e inhibidores de proteasa en pacientes con infección por VIH^{38,39}. Este efecto beneficioso se suele explicar a través de los efectos sobre la biodisponibilidad y distribución tisular de los fármacos que suponen las alteraciones de la PGP, pero en el caso de los antirretrovirales podría ser contrarrestado por otros factores celulares como el aumento de trifosfatos endógenos que compiten con los análogos de los nucleósidos o la disminución de la timidincinasa que se observa en tratamientos prolongados con zidovudina. Esta disminución de la timidincinasa puede ser secundaria a una sobreexpresión de PGP, que impediría la acumulación intracelular de la cinasa⁴⁰.

Relaciones entre la PGP y la infección por el VIH

Las interacciones de la PGP, el VIH y los antirretrovirales son complejas. Numerosos datos indican que la infección por el VIH y la PGP influyen mutuamente uno sobre otro, bien directamente o como consecuencia de las interacciones, también bidireccionales, entre la PGP y el tratamiento antirretroviral (fig. 1). Estas interacciones incluyen: a) la influencia de la PGP en la infectividad del VIH y progresión de la enfermedad; b) una acción del propio VIH sobre la expresión y función de la PGP; c) acción de los antirretrovirales sobre la expresión y la función de la PGP, y d) influencia de la PGP sobre la farmacocinética y farmacodinamia de algunos antirretrovirales.

Todo ello hace difícil interpretar las alteraciones de la PGP en pacientes con infección por el VIH tratados con antirretrovirales. Asimismo, es difícil tratar de correlacionar el polimorfismo, la expresión y la función de la PGP con la evolución de la infección en pacientes con infección por VIH con tratamiento antirretroviral.

Influencia de la PGP sobre la infección por el VIH

Estudios *in vitro*. Cuando se produce una sobreexpresión *in vitro* de la PGP en líneas celulares CD4+, se consigue una disminución de la capacidad infectante y de replicación del virus de hasta 100 veces (tabla 1). Esta disminución se debe a una limitación en la fusión del VIH con la membrana celular y también a alteraciones en fases posteriores del ciclo viral, que revierte al inhibir específicamente la PGP con verapamilo^{41,42}. Se han obtenido resultados similares con otros virus como el de la gripe⁴³. Sin embargo, ni las diferencias de dos a tres veces en la expresión de la PGP que se observan fisiológicamente en los linfocitos CD4, ni los diferentes alelos C3435T y G2677A/T se asocian a diferente permisividad de la infección por VIH⁴⁴.

La relación entre sobreexpresión de PGP inducida *in vitro* y la disminución de la infectividad del VIH no parece tener relación con el receptor CD4 ni con el correceptor CXCR4 ni CCR5, necesarios para que la infección por el VIH se produzca, puesto que en líneas celulares la sobreexpresión de PGP no se acompaña de una alteración de la

TABLA 1. Modelos *in vitro* que valoran el efecto de la expresión de la PGP en la infectividad del virus de la inmunodeficiencia humana

Tipo celular	Expresión de la PGP	Efecto sobre la infectividad	Influencia de la PGP	Medición del efecto	Referencia
12D7 (línea leucémica CD4+), CD4-HeLa, infectadas con VIH _{NL4-3}	↑↑ (mediante transfección)	↓ infectividad VIH × 40 (en la fusión y pasos posteriores)	Sí	Actividad de la RT (12D7) Western blot p-24 (CD4-HeLa)	41
CCRF-CEM infectada con VIH _{IIIB}	↑↑ (mediante vinblastina) ↓ (mediante verapamilo)	↓ infectividad VIH × 70-100 ↑ infectividad VIH	Sí Sí	Producción de p-24 (ELISA) Producción de viriones VIH (células MAGI)	42
Linfocitos T CD4+ de donantes sanos infectados <i>in vitro</i> con VIH _{NL4-3}	Se mide la variación interindividual (2,04 ± 1,73 veces)	No correlación expresión de PGP-infectividad. No diferencias en la infectividad en función de los polimorfismos G2677T y C3435T	No	Producción de p-24 (ELISA)	44

PGP: glucoproteína P; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

TABLA 2. Efecto del polimorfismo del gen *MDR-1* sobre la evolución de la infección por VIH. Estudios en pacientes

Nº	Pacientes	Polimorfismos estudiados	Influencia de los diferentes genotipos			Referencia
	Características		Efecto en los CD4	Efecto en la carga viral	Conclusión	
123	EFV o NFV y en el 87% 2 ITINAN Supresión del VIH de larga duración (n = 67) y <i>naïve</i> (n = 56)	C3435T	↓ CD4 semana 24: TT: 257 céls./μl CT: 165 céls./μl CC: 121 céls./μl	No diferencias en ↓ en semana 24	Influye en la respuesta al tratamiento (CD4)	38
479	<i>Naïve</i>	C3435T	No diferencias	Fallo virológico más precoz en genotipo CC (p = 0,07)	Influye en la respuesta al tratamiento (fallo virológico)	39
411	Cohorte Suiza. <i>Sin tratamiento</i>	G2677T/A C3435T	Tiempo en ↓ CD4 de 500 a 200/μl similar		No influye en la progresión espontánea del VIH	44
71	Niños. Protocolo PACTG382. <i>Naïve tratados con 1 o 2 ITIAN + EFV o NFV</i>	C3435T	No diferencias en semanas 2, 4, 20	< 400 c/ml sem. 8: CT: 91%; CC: 59% (p < 0,05). No diferencias en la semana 2 y 20	Influye en la respuesta al tratamiento (descenso de carga viral)	73
129	3TC + d4T + IDV (n = 60) NVP + d4T + IDV (n = 69)	G2677T/A C3435T	No diferencias en la semana 72	No diferencias en la semana 72	No influye en la respuesta al tratamiento	76
504	<i>Naïve tratados con EFV</i> (n = 340), NFV (n = 348) + 2ITINAN	G2677T/A C3435T	No diferencias	Fallo virológico menos probable en C3435T genotipo TT tratados con EFV	Influye en la respuesta al tratamiento (fallo virológico) y en la frecuencia de resistencias	77
31	Protocolo ACTG 315 RTV + AZT + 3TC	G2677T/A C3435T	No diferencias en ↑ CD4 en semana 24	No diferencias en el ↓ en fase 1 y 2	No influye en la respuesta al tratamiento	86
149	Caucásicos. <i>Naïve</i> 2ITIAN + IP (n = 106), o ITINAN (n = 43)	C3435T	No diferencias en ↑ CD4 en semanas 12 y 24	No diferencias en ↓ en semanas 12 y 24	No influye en la respuesta al tratamiento	87

3TC: lamivudina; AZT: zidovudina; d4T: estavudina; EFV: efavirenz; IDV: indinavir; IP: inhibidores de la proteasa; ITIAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósido; ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido; NFV: nelfinavir; NVP: nevirapina; RTV: ritonavir; sem: semana; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

expresión de ambas moléculas^{41,45}. Parece que el efecto de la PGP sobre la infectividad y capacidad de replicación del VIH puede deberse a una asociación entre la PGP y unos dominios de membrana ricos en glucoproteínas que tienen gran importancia en la fusión del VIH⁴⁶.

Estudios en humanos. Se ha estudiado la relación de los diferentes polimorfismos del gen *MDR-1* con la infectividad de VIH y progresión de la infección por este virus con o sin tratamiento antirretroviral (tabla 2). A pesar de que los resultados de los experimentos *in vitro* indican una asociación entre la sobreexpresión de la PGP y una menor infectividad del VIH, un estudio prospectivo en 137 pacientes con prácticas de riesgo para adquisición del VIH no encontró diferencias en la distribución de frecuencias de las variantes del *MDR-1*, T-129C, G2677T/A o C3435T entre pacientes VIH positivos y VIH negativos⁴⁷.

Respecto a la relación entre polimorfismo del *MDR-1* y progresión de la infección por VIH sin tratamiento, el único estudio que valora este aspecto encontró que la media de tiempo que pasaba desde que los pacientes tenían 500 CD4/μl hasta que llegaban a 200 CD4/μl era 3,68 años sin que hubiera diferencias significativas entre los pacientes que tenían los diferentes genotipos C3435T y G2677A/T⁴⁴.

Por otra parte, varios estudios han analizado la relación entre el polimorfismo del *MDR-1* y la respuesta al tratamiento antirretroviral con resultados dispares que se comentarán más adelante (tabla 2).

Influencia de la infección por VIH sobre la PGP

Estudios *in vitro*. En líneas celulares U937 y H9 la infección por VIH originó un incremento de expresión de la PGP de unas 10 veces⁴⁸. Recientemente, se ha demostrado que la proteína Tat del VIH induce *in vitro* la expresión de la PGP en líneas celulares de endotelio microvascular cerebral⁴⁹.

Estudios en animales. En la superficie de las células mononucleares de sangre periférica y de tejido linfóide de monos infectados por el virus de la inmunodeficiencia simio-humana (SVIH), la PGP se expresa menos que en monos no infectados; estos datos son contrarios a los obtenidos *in vitro*⁵⁰.

Estudios en humanos. Varios estudios señalan que los linfocitos de pacientes con infección por VIH de sangre periférica de diferentes subtipos (CD40+, CD8+, CD16+, CD19+) muestran una menor expresión y función de la PGP que los de los controles sanos, por lo que se ha llegado a sugerir que la expresión de la PGP podría ser un marcador de la evolución de la enfermedad⁵¹⁻⁵⁶ (tabla 3). No todos los estudios presentan resultados uniformes; en el estudio realizado por Andreana et al⁵¹ se detectó un déficit funcional de la PGP acorde con el resto de trabajos, pero con un aumento de la expresión de la PGP, y en el realizado por Bossi et al⁵⁷ no se observaron diferencias en la expresión de la PGP de los linfocitos CD4+ de pacientes infectados con VIH respecto a otros no infectados, ni se vio

TABLA 3. Estudios con pacientes en los que se analiza el efecto de la infección por virus de la inmunodeficiencia humana y el tratamiento antirretroviral sobre la expresión y función de la proteína P

N.º	Pacientes	Efecto sobre la expresión de la PGP*	Efecto sobre la función de la PGP**	Método de medición del efecto	Referencia
	Características de los sujetos				
16	Grupo I CD4 < 200/μl ± AZT (n = 8) Grupo II CD4 > 200/μl ± AZT (n = 8) Controles (n = 8)	↑ en CD4+: controles < grupo I < grupo II Tratamiento con AZT sin efecto	↓ en CD4+, CD8+: sanos < grupo I < grupo II	*Citometría con Ac-Mo MRK-16 **Acumulación intracelular de Rh 123	51
44	Estadio A2 (n = 13), B2 (n = 15), C3 (n = 16), 21 con AZT (6 controles sanos)	↓ en linfocitos CD4+, y CD19+ Tratamiento con AZT sin efecto	↓ en CD16+, CD19+	*Citometría con Ac-Mo MRK-16 **Acumulación intracelular de Rh 123	52
21	Naïve (n = 4), TARGA (n = 17) (21 controles sanos)	↓ en linfocitos totales Sin relación con CD4 totales	—	*Citometría con Ac-Mo UIC2	53
38	11 asintomáticos 8 LGP* 19 estadio C3	↓ en CD8+, CD16+	—	*Citometría con Ac-Mo MRK-16, y MM4.17	54
18	18 con 2 ITIAN + IP, 8 con fallo virológico (21 controles sanos)	En CD4+: sin relación con infección por VIH, fracaso, ni TARGA	Sin relación con infección por VIH, ni TARGA	*Citometría con Ac-Mo MRK-16 **Acumulación intracelular de Rh 123	55
32	16 asintomáticos, 16 sida, 16 naïve, 16 TARGA	Sin relación con infección por VIH, carga viral o TARGA	—	*Citometría con Ac-Mo MRK-16	58
70	35 estadio A, 25 C con TARGA, 20 VIH sin tratamiento	—	↓ en CD4+ y CD8 en VIH naïve ↓ en linfocitos de pacientes con IP: RTV > SQV > NFV > IDV	**Acumulación intracelular de Rh 123	65
185	131 con TARGA	—	Mayor actividad en CD4+ asociadas con menor carga viral. Sin relación con el tratamiento	**Citometría de flujo con DiOC2(3)	72

AZT: zidovudina; IDV: indinavir; ITIAN: inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósido. IP: inhibidor de proteasa; LGP: linfadenopatía generalizada persistente; NFV: nelfinavir; RTV: ritonavir; SQV: saquinavir; TARGA: tratamiento antirretroviral de gran actividad; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

una relación con la carga viral. También se ha estudiado la expresión de la PGP en monocitos de sangre periférica de pacientes VIH, sin encontrar alteraciones respecto al grupo de controles sanos⁵⁸.

Efectos de los antirretrovirales sobre la PGP

Los IP como amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir y tipranavir son sustratos de la PGP^{10,19,21,22}, por lo que si causan alteraciones de la PGP pueden repercutir sobre su propia farmacocinética. Por el contrario, los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos como efavirenz y nevirapina (ITINAN) no son considerados sustrato de la PGP⁵⁹, aunque este dato está en duda últimamente, al menos en el caso de la nevirapina⁶⁰.

Estudios *in vitro*. Los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN) (se han estudiado AZT, DDI y DDC) no parecen tener efectos en la actividad de la PGP en las distintas subpoblaciones linfocitarias de sangre periférica^{52,58} (tabla 4). Los ITINAN (delavirdina, efavirenz y nevirapina) aumentan la expresión y función de la PGP tanto en líneas celulares como en células mononucleares de sangre periférica^{59,61}. Sin embargo, entre los distintos IP existen diferencias con respecto a los efectos que se producen sobre la expresión y la función de la PGP; el nelfinavir aumenta la expresión de la PGP⁶¹, mientras que el indinavir y el ritonavir no la modifican en células

mononucleares de sangre periférica⁵⁸. Respecto a la función de la PGP, todos los IP la inhiben^{19,24,61-70}. En el estudio realizado por Saitoch et al⁷¹, el plasma de pacientes tratados con nelfinavir inhibió la PGP de los linfocitos de pacientes no infectados ni tratados, siendo este efecto concentración-dependiente, mayor para el nelfinavir que para su metabolito M8 y mayor sobre CD4+ que sobre CD8+. No obstante, las consecuencias de la inhibición de la PGP que producen los IP en los linfocitos no se conocen bien. Cabe suponer que pueden aumentar la concentración de los antirretrovirales que sean sustrato de la PGP en los linfocitos y, por tanto, la eficacia del tratamiento. Sin embargo, también podrían aumentar la timidincinasa, que es un sustrato de la PGP y, como consecuencia, facilitar la replicación vírica. Por otra parte, los efectos que los antirretrovirales causan sobre la PGP en linfocitos no parecen extrapolables a otras células. Así, por ejemplo, en el estudio de Lucia et al⁵⁸, la expresión de la PGP en monocitos de sangre periférica procedente de pacientes con infección VIH no se vio afectada por el tratamiento antirretroviral.

Estudios en animales. Las alteraciones en la expresión de la PGP detectadas en algunos estudios *in vitro* no implican una alteración funcional en la PGP en modelos animales. Por ejemplo, el ritonavir (que inhibe la PGP) en dosis altas no es capaz de aumentar el acceso del saquinavir (un sustrato de la PGP) al SNC en roedores²⁴ y el efavirenz no altera la expresión de PGP en el intestino de ra-

TABLA 4. Efecto de la exposición a antirretrovirales en la expresión o función de la PGP. Modelos *in vitro*

Tipo celular	Antirretrovirales	Expresión de PGP*	Función de la PGP	Método de medición del efecto	Referencia
Células endoteliales Capilares cerebrales	RTV, IDV, NFV	—	RTV: ↓ × 2,5 IDV, NFV: ↓ < potente	Captación de [¹⁴ C]SQV	19
CMSP	AZT, ddI, ddC	—	Sin efecto	Acumulación intracelular de Rh 123	52
Caco-2	NVP, EFV, DLV	NVP ↑ × 3,5, EFV ↑ × 1,75, DLV ↑ × 2,35	↑	Western blot Acumulación intracelular de Rh 123	59
CMSP	IP (SQV, RTV, LPV, NFV, AMP) ITINAN (NVP, EFV) a 10 µg/ml y 100 µg/ml	10 µg/ml: ↑ PGP con NFV, EFV 100 µg/ml: ↑ PGP (excepto APV) con toxicidad	—	*Citometría de flujo con AcMo UIC2	61
Células tubulares renales proximales de pez	RTV, SQV	—	RTV: ↓ × 20 SQV: 40 veces menos potente	Microscopio confocal (acumulación de sustratos fluorescentes en la luz tubular)	62
Línea celular LS-180V	RTV, SQV, NFV, IDV, APV, 3 y 10 µm	RTV ↑ × 4,2, APV ↑ × 3,5, NFV ↑ × 3,5, SQV ↑ × 2,4, IND ↑ × 1,6	—	*Immunoblot con AcMo C219	64
LSP, células CD34 +	RTV, SQV, NFV, IDV	—	↓ con RTV > SQV > NFV > IDV (afecta a CD4+ y CD8+) ^a	Acumulación intracelular de Rh 123	65
Sangre total	NFV, metabolito M8-NFV	—	↓ (afecta a CD4+ y CD8+)	Acumulación intracelular de DiOC ₂ (3)	66
Caco-2, CMSP	SQV, RTV, NFV, IDV	—	RTV ↓ × 7, SQV ↓ × 6, NFV ↓ × 5, IDV ↓ × 4	Acumulación intracelular de Rh 123 (CMSP) Transporte [¹⁴ C]SQV (Caco-2)	67

APV: amprenavir; AZT: zidovudina; CMSP: células mononucleares de sangre periférica; ddC: zalcitabina; ddI: didanosina; DLV: delavirdina; EFV: efavirenz; IDV: indinavir; IP: inhibidor de proteasa; ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósido; LPV: lopinavir; LSP: linfocitos de sangre periférica; NFV: nelfinavir; NVP: nevirapina; RTV: ritonavir; SQV: saquinavir.

tón⁷². En monos infectados por VIH se ha estudiado la expresión de la PGP en la superficie de las células mononucleares de sangre periférica y de tejido linfóide demostrando que en los tratados con AZT, 3TC e indinavir se expresa menos PGP que en los tratados con placebo⁵⁰.

Estudios en humanos. El tratamiento con AZT no altera la expresión ni la función de la PGP en linfocitos totales de sangre periférica ni en subpoblaciones CD4, CD8, CD16 o CD19 positivas de pacientes con infección por el VIH⁵². En un estudio no se detectaron diferencias en la expresión ni función de la PGP de los linfocitos CD4 entre tratados y no tratados con IP⁵⁷. En otro tampoco se observó una influencia significativa del tratamiento respecto a la actividad de la PGP en linfocitos CD4 y CD8 de sangre periférica⁷³.

Glucoproteína P y respuesta al tratamiento de la infección VIH

PGP y concentraciones plasmáticas de antirretrovirales

Aunque algunos estudios indican una relación entre el polimorfismo de la PGP y las concentraciones plasmáticas de algunos antirretrovirales, estos hallazgos se deben interpretar con precaución, ya que podrían depender de la ingesta de componentes de la dieta u otros factores ambientales que afecten a la PGP y que tengan efectos inductores o inhibidores del metabolismo a través del CYP3A4¹⁰.

Estudios en animales. La importancia de la PGP como limitadora de la absorción de los IP y favorecedora de su eliminación se demuestra en ratones sin gen *mdr-1a*, en los que la concentración de saquinavir, nelfinavir o indinavir tras su administración oral es de dos a cuatro veces mayor que en ratones normales^{15,24}. Por otra parte, los inhibidores de la PGP aumentan las concentraciones plasmáticas de IP en animales²⁴.

Estudios en humanos. Los principales estudios que han analizado la relación entre polimorfismo del gen *MDR-1* y concentraciones de antirretrovirales muestran resultados variables. En contra de lo esperable, se ha descrito que los pacientes con genotipo 3435CC (asociado a alta expresión de PGP) tenían mayores concentraciones plasmáticas de efavirenz y de nelfinavir que los pacientes con genotipo TT³⁸. Por el contrario, en otro estudio, los pacientes con genotipo 3435CC tenían menores concentraciones plasmáticas de nelfinavir⁷¹ y menores concentraciones valle de nevirapina⁷⁴. Otros estudios no han encontrado diferencias en las concentraciones plasmáticas de efavirenz^{75,76}, lopinavir⁷⁵, indinavir⁷⁶ y nelfinavir⁷⁷ en los pacientes con genotipo 3435CC frente a 3435TT. El polimorfismo del exón 21 (G2677A/T) tampoco se ha asociado a diferencias en las concentraciones plasmáticas de efavirenz o nelfinavir⁷⁷.

PGP y concentraciones tisulares de antirretrovirales

Estudios *in vitro*. La entrada dentro de la célula de los IP viene determinada por la actividad de la PGP como se

pone de manifiesto en experimentos *in vitro* en los que se detecta una disminución drástica de la concentración intracelular de nelfinavir, indinavir y ritonavir en las líneas celulares CEM_{VBL}, que hiperexpresan PGP, respecto a las líneas CEM que no la hiperexpresan^{22,23}. También se ha comprobado una gran diferencia en la concentración celular de saquinavir entre líneas celulares que expresan PGP (línea celular Dx5) y células que no la expresan (línea MES-SA)²⁵. Además, líneas celulares epiteliales de riñón transfectadas con el gen *MDR-1* transportan muy eficazmente ritonavir y saquinavir²⁴. Por otra parte, las células que hiperexpresan PGP son menos susceptibles a la acción antiviral del AZT, debido a que se alcanzan concentraciones intracelulares menores⁷⁸.

Sin embargo, la expresión de la PGP varía de forma importante de una células a otras y, por tanto, no pueden extrapolarse los datos obtenidos de un tejido a otro⁷⁹. De especial relevancia en la infección por VIH puede ser la expresión de PGP linfocitaria y monocitaria. Los estudios indican que su expresión es mayor en monocitos que en linfocitos^{51,52}.

El acceso al espacio intracelular está limitado, además de por la PGP, por otras proteínas de membrana como la asociada a multiresistencia a fármacos (MRP) y la proteína de resistencia del cáncer de mama (BCPR)^{11,21,40,42}. *In vitro* la inhibición de cada una de estas proteínas supone un aumento de las concentraciones intracelulares de saquinavir⁸⁰.

Estudios en animales. Los estudios en animales confirman de manera consistente el papel de la PGP como limitador del acceso de los IP a los tejidos. El LY-335979, que es un potente inhibidor de la PGP, aumentó las concentraciones de nelfinavir en testículos y cerebro de ratones 4 y 15 veces, respectivamente, en comparación con la concentración plasmática²³. En modelos con ratones deficientes del gen *mdr-1*, se observó una acumulación de IP en cerebro y testículos con un incremento del cociente concentración tisular/plasmática de 2 a 10 veces^{15,25}. También aumenta la concentración fetal de saquinavir en ratones deficientes de los genes *mdr-1a* y *mdr-1b*, y en ratones no deficientes cuando se tratan con inhibidores de la PGP como PSC833 o GG918²⁶.

Estudios en pacientes. Aunque en un estudio con pacientes tratados con antirretrovirales se ha correlacionado de manera inversa la expresión del gen *MDR-1* (ARNm) con la concentración intracelular de varios IP (nelfinavir, indinavir, amprenavir, ritonavir)⁸¹, otros no han encontrado correlación entre la expresión de la PGP en la superficie de células mononucleares de sangre periférica medida con citometría de flujo y la concentración intracelular de nelfinavir⁸², saquinavir o ritonavir⁸³ en pacientes tratados con estos fármacos. A pesar de ello, la asociación de ritonavir, que inhibe la PGP, con el tratamiento aumenta el cociente concentración intracelular/plasmática de otros IP^{81,82}. En otro estudio en el que se administró a pacientes una dosis baja de ritonavir (100 mg/12 h) aumentó la concentración de indinavir en suero, en semen y en LCR, y el aumento intracelular resultó mayor de lo esperado para el aumento observado en la concentración sérica, lo que se atribuyó a la inhibición de la PGP²⁷. Las concentraciones de efavirenz dentro de células mononucleares de sangre periférica en pacientes tratados con este fármaco no tienen relación con la expresión de la PGP⁸⁴. Sin embar-

go, la concentración intracelular de nevirapina se correlaciona inversamente con la expresión de la PGP⁸⁵.

PGP y respuesta al tratamiento antirretroviral

Los resultados de los estudios que analizan la influencia de los polimorfismos del gen *MDR-1* en la respuesta al tratamiento antirretroviral no son uniformes (tabla 2). En 123 pacientes con infección por el VIH se encontró una respuesta al tratamiento antirretroviral, medida como ascenso de CD4 a los 3 y 6 meses de iniciar el tratamiento, significativamente mayor en los pacientes con genotipo 3435TT, sin encontrar diferencias en la caída de la carga viral entre los genotipos TT, CT y CC³⁸. En 479 pacientes de nuevo diagnóstico, los pacientes con genotipo 3435CC presentaron menor tiempo hasta el fracaso virológico (definido por una carga viral > 500 copias/ml) que los genotipos 3435CT y TT, aunque con diferencias en el límite de la significación estadística³⁹. Este estudio no encontró diferencias entre los diferentes genotipos en el desarrollo de resistencias a antirretrovirales. En niños, el estudio PACTG382 encontró una menor proporción de niños que alcanzaban carga viral inferior a 400 copias/ml en la semana 8 de tratamiento antirretroviral en los de genotipo 3435CC (59%) que en los de genotipo 3435CT (91%)⁷³. Un dato discordante en este estudio fue la respuesta de sólo el 57% en los niños con genotipo 3435TT, que los autores consideraron no valorable debido al escaso número de pacientes de este grupo (sólo 7). Más recientemente se ha encontrado una asociación entre el genotipo 3435TT y una menor probabilidad de fracaso virológico y aparición de resistencias en pacientes tratados con efavirenz⁷⁷. Dado que el efavirenz no es sustrato de la PGP⁵⁷, se plantea la posibilidad de que esta asociación se deba a un ligamiento del *MDR-1* con otros genes⁷⁷.

En otros estudios no se encontraron diferencias en la caída de carga viral entre los genotipos del exón 26 (C3435T) y del exón 21 (G2677T) en 31 pacientes del ensayo ACTG315⁸⁶, ni se encontró relación del polimorfismo C3435T con el ascenso de la carga viral, ni el ascenso de los CD4, a los 3 y 6 meses de iniciar tratamiento antirretroviral⁸⁷. Recientemente, tampoco se ha encontrado asociación entre el genotipo de los polimorfismos del exón 21 y del exón 26 y la respuesta al tratamiento⁷⁶.

En cuanto a la relación entre actividad funcional de la PGP y evolución de la infección por VIH, se ha descrito en 185 pacientes con infección por VIH una relación inversa entre la actividad de la PGP y la carga viral⁷². En el análisis multivariable de este estudio, la actividad de la PGP no se asoció a otras variables demográficas o terapéuticas, lo que sugiere que la PGP tenía *per se* una actividad inhibidora sobre la replicación viral⁷².

Las diferencias entre los datos obtenidos *in vitro* e *in vivo* se han atribuido a que la sobreexpresión de la PGP obtenida *in vitro* puede llegar a ser 1.000 veces la de las células mononucleares de sangre periférica, mientras que las diferencias de la expresión de PGP entre pacientes son de dos a tres veces⁴⁴.

PGP y efectos adversos de los antirretrovirales

Puesto que la PGP puede influir sobre las concentraciones plasmáticas, tisulares e intracelulares de los antirretrovirales, es esperable que también pueda influir sobre la incidencia de sus efectos adversos. Partiendo de la base de

que las concentraciones plasmáticas de efavirenz tienen relación con su neurotoxicidad y fracaso terapéutico^{88,89}, se estudiaron los polimorfismos del CYP2B6 y del *MDR-1* en una cohorte de pacientes VIH positivos tratados con efavirenz en la que se evaluaron de manera prospectiva las concentraciones plasmáticas y sus efectos tóxicos sobre el SNC. Se encontró una relación entre las concentraciones y la neurotoxicidad con el polimorfismo del CYP2B6, pero no con los polimorfismos del exón 21 y 26 del gen *MDR-1*⁹⁰.

Se ha comunicado recientemente que la hepatotoxicidad por nevirapina y efavirenz tiene relación con el polimorfismo C3435T (CC < CT < TT)^{60,91}. Dado que el efavirenz no es sustrato de la PGP, la explicación de esta asociación podría ser la misma que para la asociación de este polimorfismo con la frecuencia de fracaso virológico en pacientes tratados con efavirenz, es decir, un posible ligamiento del polimorfismo del *MDR-1* a otros genes⁷⁷.

Se ha encontrado relación entre el polimorfismo C3435T del *MDR-1* y el ascenso de las concentraciones plasmáticas de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) (menores concentraciones en genotipo TT) al año de tratamiento con efavirenz por mecanismos no bien conocidos⁸⁹.

Implicaciones terapéuticas

El potencial efecto de los cambios en la expresión de la PGP sobre la farmacocinética e incluso farmacodinamia de los antirretrovirales daría pie a posibles intervenciones terapéuticas para modular su expresión y acción. La hipótesis de que un exceso de actividad de la PGP, genética o inducida, puede reducir la eficacia del tratamiento antirretroviral por disminuir el acceso de los IP a su lugar de acción, abre varias posibilidades terapéuticas.

Se podrían utilizar en los pacientes farmacorresistentes los antirretrovirales que no sean sustrato de la PGP o en el caso de utilizar antirretrovirales que sean sustrato de la PGP, asociarles otros inhibidores de la PGP para aumentar su concentración intracelular. El ritonavir puede aumentar la eficacia de otros antirretrovirales por un efecto farmacodinámico (menores resistencias primarias, efecto sinérgico con otros fármacos y menor desarrollo de resistencias secundarias), pero, sobre todo, tiene un efecto farmacocinético aumentando las concentraciones plasmáticas e intracelulares de otros IP por su efecto inhibidor del CYP3A4 y de la PGP⁹².

Hay diversos fármacos que actúan como inhibidores de la PGP, que se diferencian por su mayor o menor tolerabilidad y especificidad. El verapamilo y la quinidina podrían aumentar el acceso de los IP a su lugar de acción⁷⁹. El bicodan⁹³, que inhibe la PGP y la MRP-1, y el valspodar (SDZ PSC 833)^{94,95} y el zosuquidar (LY335979)^{96,97}, que inhiben la PGP, han sido estudiados en oncología con resultados prometedores, aunque tienen también un efecto inhibidor sobre el CYP3A4 que puede dificultar su uso. El ontogen (OC144-093 o ONT-093) es un inhibidor de la PGP más específico, ya que no inhibe las proteínas asociadas con el gen *MRP1*, no es metabolizado por el CYP3A4, CYP2C8 ni CYP2C9, por lo que tiene pocas posibilidades de interacciones con los antirretrovirales, y parece bien tolerado en los ensayos oncológicos en fase I, lo que le hace un buen candidato para asociar a los antirretrovirales en los casos farmacorresistentes⁹⁸⁻¹⁰⁰.

La inhibición de la expresión del gen *MDR-1* se plantea también como un vía para limitar las acciones de la PGP. Se han utilizado diversas estrategias, como oligonucleótidos antisentido^{101,102}, ARN de interferencia¹⁰³, factores de transcripción artificiales¹⁰⁴ y ribozimas¹⁰⁵⁻¹⁰⁷, para frenar su expresión. Sin embargo, aunque los resultados obtenidos con los inhibidores de la PGP en oncología son prometedores, en el caso de la infección por VIH se requerirían tratamientos más prolongados desconociéndose su toxicidad a largo plazo.

La utilización de todas estas vías de inhibición de la PGP puede ser un procedimiento para acceder a los santuarios donde se establece el VIH sin que pueda ser erradicado²⁹⁻³¹, y de esta manera facilitar su control o contribuir a la tan soñada curación de esta enfermedad.

Bibliografía

1. Lowe SH, Prins JM, Lange JM. Antiretroviral therapy in previously untreated adults infected with the human immunodeficiency virus type I: established and potential determinants of virological outcome. *Neth J Med*. 2004;62:424-40.
2. Deeks SG. Determinants of virological response to antiretroviral therapy: implications for long-term strategies. *Clin Infect Dis*. 2000;30 Suppl 2: S177-84.
3. Turner BJ. Adherence to antiretroviral therapy by human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis*. 2002;185 Suppl 2: S143-51.
4. Press N, Tyndall MW, Wood E, Hogg RS, Montaner JS. Virologic and immunologic response, clinical progression, and highly active antiretroviral therapy adherence. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;31:S112-7.
5. Quirk E, McLeod H, Powderly W. The pharmacogenetics of antiretroviral therapy: a review of studies to date. *Clin Infect Dis*. 2004;39:98-106.
6. Rodríguez-Novoa S, Barreiro P, Jiménez-Nacher I, Soriano V. Overview of the pharmacogenetics of HIV therapy. *Pharmacogenomics J*. 2006;6: 234-45.
7. Roots I, Gerloff T, Meisel C, Kirchheiner J, Goldammer M, Kaiser R, et al. Pharmacogenetics-based new therapeutic concepts. *Drug Metab Rev*. 2004;36:617-38.
8. Thomas FJ, McLeod HL, Watters JW. Pharmacogenomics: the influence of genomic variation on drug response. *Curr Top Med Chem*. 2004;4:1399-409.
9. Allorge D, Loriot MA. Pharmacogenetics or the promise of a personalized medicine: variability in drug metabolism and transport. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2004;62:499-511.
10. Marzolini C, Paus E, Buclin T, Kim RB. Polymorphism in human MDR1 (P-glycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther*. 2004;75:13-33.
11. Schinkel AH. The physiological function of drug-transporting P-glycoproteins. *Semin Cancer Biol*. 1997;8:161-70.
12. Van Helvoort A, Smith AJ, Sprong H, Fritzsche I, Schinkel AH, Borst P, et al. MDR1 P-glycoprotein is a lipid translocase of broad specificity, while MDR3 P-glycoprotein specifically translocates phosphatidylcholine. *Cell*. 1996;87:507-17.
13. Schinkel A, Mayer U, Wagenaar E, Mol C, Van Deemter L, Smit J, et al. Normal viability and altered pharmacokinetics in mice lacking mdr1-type (drug-transporting) P-glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94: 4028-33.
14. Hoffmeyer S, Burk O, Von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97: 3473-8.
15. Kim RB, Fromm MF, Wandel C, Leake B, Wood AJ, Roden DM, et al. The drug transporter P-glycoprotein limits oral absorption and brain entry of HIV-1 protease inhibitors. *J Clin Invest*. 1998;101:289-94.
16. Izzedine H, Launay-Vacher V, Deray G. Renal tubular transporters and antiviral drugs: an update. *AIDS*. 2005;19:455-62.
17. Smit JW, Schinkel AH, Muller M, Weert B, Meijer DK. Contribution of the murine mdr1a P-glycoprotein to hepatobiliary and intestinal elimination of cationic drugs as measured in mice with an mdr1a gene disruption. *Hepatology*. 1998;27:1056-63.
18. Finch CK, Chrisman CR, Baciewicz AM, Self TH. Rifampicin and rifabutin drug interactions: an update. *Arch Intern Med*. 2002;162:985-92.
19. Drewe J, Gutmann H, Fricker G, Torok M, Berlinger C, Huwyler J. HIV protease inhibitor ritonavir: a more potent inhibitor of P-glycoprotein than

- the cyclosporine analog SDZ PSC 833. *Biochem Pharmacol.* 1999;57:1147-52.
20. Penzak SR, Shen JM, Alfaro RM, Remaley AT, Natarajan V, Falloon J. Ritonavir decreases the nonrenal clearance of digoxin in healthy volunteers with known MDR1 genotypes. *Ther Drug Monit.* 2004;26:322-30.
21. Jones K, Bray PG, Khoo SH, Davey RA, Meaden ER, Ward SA, et al. P-Glycoprotein and transporter MRP1 reduce HIV protease inhibitor uptake in CD4 cells: potential for accelerated viral drug resistance? *AIDS.* 2001;15:1353-8.
22. Jones K, Hoggard PG, Sales SD, Khoo, Davey R, Back DJ. Differences in the intracellular accumulation of HIV protease inhibitors *in vitro* and the effect of active transport. *AIDS.* 2001;15:675-81.
23. Choo EF, Leake B, Wandel C, Inamura H, Wood AJ, Wilkinson Gr, et al. Pharmacological inhibition of P-glycoprotein transport enhances the distribution of HIV-1 protease inhibitors into brain and testes. *Drug Metab Dispos.* 2000;28:655-60.
24. Huisman MT, Smit JW, Wiltshire HR, Hoetelmans RM, Beijnen JH, Schinkel AH. P-glycoprotein limits oral availability, brain, and fetal penetration of saquinavir even with high doses of zidovudine. *Mol Pharmacol.* 2001;59:806-13.
25. Washington CB, Wiltshire HR, Man M, Moy T, Harris SR, Worth E, et al. The disposition of saquinavir in normal and P-glycoprotein deficient mice, rats, and in cultured cells. *Drug Metab Dispos.* 2000;28:1058-62.
26. Smit JW, Huisman MT, Van Tellingen O, Wiltshire HR, Schinkel AH. Absence or pharmacological blocking of placental P-glycoprotein profoundly increases fetal drug exposure. *J Clin Invest.* 1999;104:1441-7.
27. Van Praag RM, Weverling GJ, Portegies P, Jurriaans S, Zhou XJ, Turner-Foisy ML, et al. Enhanced penetration of indinavir in cerebrospinal fluid and semen after the addition of low-dose zidovudine. *AIDS.* 2000;14:1187-94.
28. Benders Z, Faussat AM, Sayada L, Perrot JY, Tang R, Chaoui D, et al. MRP3, BCRP, and P-glycoprotein activities are prognostic factors in adult acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res.* 2005;11:7764-72.
29. Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, Margolick JB, Chadwick K, Pierson T, et al. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nat Med.* 1999;5:512-7.
30. Furtado MR, Callaway DS, Phair JP, Kunstman KJ, Stanton JL, Macken CA, et al. Persistence of HIV-1 transcription in peripheral-blood mononuclear cells in patients receiving potent antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 1999;340:1614-22.
31. Hermankova M, Siliciano JD, Zhou Y, Monie D, Chadwick K, Margolick JB, et al. Analysis of human immunodeficiency virus type 1 gene expression in latently infected resting CD4+ T lymphocytes *in vivo*. *J Virol.* 2003;77:7383-92.
32. Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among Europeans, Africans, and Asians. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;70:189-99.
33. Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multi-drug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;297:1137-43.
34. Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug resistance (MDR1) gene: correlation with P-glycoprotein expression and activity *in vivo*. *Novartis Found Symp.* 2002;243:207-10.
35. Gervasi G, Vizcaino S, Gasiba C, Carrillo JA, Benítez J. Differences in CYP3A5*3 Genotype Distribution and Combinations With Other Polymorphisms Between Spaniards and Other Caucasian Populations. *Ther Drug Monit.* 2005;27:819-21.
36. Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, Brinkmann U, Smith A, Goldstein DB, et al. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med.* 2003;348:1442-8.
37. Zheng H, Webber S, Zeevi A, Schetz E, Zhang J, Lamba J, et al. The MDR1 polymorphisms at exons 21 and 26 predict steroid weaning in pediatric heart transplant patients. *Hum Immunol.* 2002;63:765-70.
38. Fellay J, Marzolini C, Meaden ER, Back DJ, Buclin T, Chave JP, et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet.* 2002;359:30-6.
39. Brumme ZL, Dong WW, Chan KJ, Hogg RS, Montaner JS, O'Shaughnessy MV, et al. Influence of polymorphisms within the CX3CR1 and MDR-1 genes on initial antiretroviral therapy response. *AIDS.* 2003;17:201-8.
40. Turriziani O, Antonelli G, Dianzani F. Cellular factors involved in the induction of resistance of HIV to antiretroviral agents. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;16:353-6.
41. Lee CG, Ramachandra M, Jeang KT, Martin MA, Pastan I, Gottesman MM. Effect of ABC transporters on HIV-1 infection: inhibition of virus production by the MDR1 transporter. *FASEB J.* 2000;14:516-22.
42. Speck RR, Yu XF, Hildreth J, Flexner C. Differential effects of p-glycoprotein and multidrug resistance protein-1 on productive human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis.* 2002;186:332-40.
43. Raviv Y, Puri A, Blumenthal R. P-glycoprotein-overexpressing multidrug-resistant cells are resistant to infection by enveloped viruses that enter via the plasma membrane. *FASEB J.* 2000;14:511-5.
44. Bleiber G, May M, Suárez C, Martínez R, Marzolini C, Egger M, et al. MDR1 genetic polymorphism does not modify either cell permissiveness to HIV-1 or disease progression before treatment. *J Infect Dis.* 2004;189:583-6.
45. Owen A, Chandler B, Bray PG, Ward SA, Hart CA, Back DJ, et al. Functional correlation of P-glycoprotein expression and genotype with expression of the human immunodeficiency virus type 1 coreceptor CXCR4. *J Virol.* 2004;78:12022-9.
46. Lavie Y, Liscovitch M. Changes in lipid and protein constituents of rafts and caveolae in multidrug resistant cancer cells and their functional consequences. *Glycoconj J.* 2000;17:253-9.
47. Ifergan I, Bernard NF, Bruneau J, Alary M, Tsoukas CM, Roger M. Allele frequency of three functionally active polymorphisms of the MDR-1 gene in high-risk HIV-negative and HIV-positive Caucasians. *AIDS.* 2002;16:2340-2.
48. Gollapudi S, Gupta S. Human immunodeficiency virus I - induced expression of P-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;171:1002-7.
49. Hayashi K, Pu H, Tian J, Andras IE, Lee YW, Hennig B, et al. HIV-Tat protein induces P-glycoprotein expression in brain microvascular endothelial cells. *J Neurochem.* 2005;93:1231-41.
50. Jorajuria S, Clayette P, Dereuddre-Bosquet N, Benhassan-Chahour K, Thiebot H, Vaslin B, et al. The expression of P-glycoprotein and cellular kinases is modulated at the transcriptional level by infection and highly active antiretroviral therapy in a primate model of AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2003;19:307-11.
51. Andreana A, Aggarwal S, Gollapudi S, Wien D, Tsuruo T, Gupta S. Abnormal expression of a 170-kilodalton P-glycoprotein encoded by MDR1 gene, a metabolically active efflux pump, in CD4+ and CD8+ T cells from patients with human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1996;12:1457-62.
52. Lucia MB, Cauda R, Landay AL, Malorni W, Donelli G, Ortona L. Transmembrane P-glycoprotein (PGP/P-170) in HIV infection: analysis of lymphocyte surface expression and drug-unrelated function. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1995;11:893-901.
53. Meaden ER, Hoggard PG, Maher B, Khoo SH, Back DJ. Expression of P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein in healthy volunteers and HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2001;17:1329-32.
54. Malorni W, Lucia MB, Rainaldi G, Cauda R, Cianfriglia M, Donelli G, et al. Intracellular expression of P-170 glycoprotein in peripheral blood mononuclear cell subsets from healthy donors and HIV-infected patients. *Haematologica.* 1998;83:13-20.
55. Lucia MB, Rutella S, Rumi C, Ventura G, Caldarola G, Cauda R. Detection of P-glycoprotein efflux activity on peripheral blood lymphocyte subsets from HIV + patients. *Eur J Histochem.* 1997;41 Suppl 2:195-6.
56. Lucia MB, Rutella S, Rumi C, Cauda R. Surface P-glycoprotein expression on peripheral lymphocyte subpopulations from HIV-infected patients. *Eur J Histochem.* 1997;41 Suppl 2:33-4.
57. Bossi P, Legrand O, Faussat AM, Legrand M, Bricaire F, Marie JP, et al. P-glycoprotein in blood CD4 cells of HIV-1-infected patients treated with protease inhibitors. *HIV Med.* 2003;4:67-71.
58. Lucia MB, Rutella S, Leone G, Larocca LM, Vella S, Cauda R. In vitro and in vivo modulation of MDR1/P-glycoprotein in HIV-infected patients administered highly active antiretroviral therapy and liposomal doxorubicin. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;30:369-78.
59. Stormer E, Von Moltke LL, Perloff MD, Greenblatt DJ. Differential modulation of P-glycoprotein expression and activity by nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors in cell culture. *Pharm Res.* 2002;19:1038-45.
60. Haas DW, Bartlett J, Anderson J, Sanne I, Wilkinson GR, Quinn J, et al. Pharmacogenetics of nevirapine and hepatotoxicity: NWCS220, an ACTG collaborative study. In: *Proceedings of the Twelfth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*; 2005 Feb 22-25; Boston, Massachusetts. Abstract 833.
61. Chandler B, Almond L, Ford J, Owen A, Hoggard P, Khoo S, et al. The effects of protease inhibitors and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors on p-glycoprotein expression in peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;15:33:551-6.
62. Gutman H, Fricker G, Drewe J, Toeroek M, Miller DS. Interactions of HIV protease inhibitors with ATP-dependent drug export proteins. *Mol Pharmacol.* 1999;56:383-9.
63. Washington CB, Duran GE, Man MC, Sikic BI, Blaschke TF. Interaction of anti-HIV protease inhibitors with the multidrug transporter P-glycoprotein.

- tein (PGP) in human cultured cells. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1998;19:203-9.
64. Perloff MD, Von Moltke LL, Fahey JM, Daily JP, Greenblatt DJ. Induction of P-glycoprotein expression by HIV protease inhibitors in cell culture. *AIDS*. 2000;14:1287-9.
 65. Lucia MB, Rutella S, Leone G, Vella S, Cauda R. HIV-protease inhibitors contribute to P-glycoprotein efflux function defect in peripheral blood lymphocytes from HIV-positive patients receiving HAART. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001;27:321-30.
 66. Donahue JP, Dowdy D, Ratnam KK, Hulgán T, Price J, Unutmaz D, et al. Effects of nelfinavir and its M8 metabolite on lymphocyte P-glycoprotein activity during antiretroviral therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2003;73:78-86.
 67. Profit L, Eagling VA, Back DJ. Modulation of P-glycoprotein function in human lymphocytes and Caco-2 cell monolayers by HIV-1 protease inhibitors. *AIDS*. 1999;13:1623-7.
 68. Shiraki N, Hamada A, Yasuda K, Fujii J, Arimori K, Nakano M. Inhibitory effect of human immunodeficiency virus protease inhibitors on multidrug resistance transporter P-glycoproteins. *Biol Pharm Bull*. 2000;23:1528-31.
 69. Lucia MB, Golotta C, Rutella S, Rastrelli E, Savarino A, Cauda R. Atazanavir inhibits P-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein efflux activity. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;39:635-7.
 70. Perloff ES, Duan SX, Skolnik PR, Greenblatt DJ, Von Moltke LL. Atazanavir: effects on P-glycoprotein transport and CYP3A metabolism *in vitro*. *Drug Metab Dispos*. 2005;33:764-70.
 71. Saitoh A, Singh KK, Powell CA, Fenton T, Fletcher CV, Brundage R, et al. An MDR1-3435 variant is associated with higher plasma nelfinavir levels and more rapid virologic response in HIV-1 infected children. *AIDS*. 2005;19:371-80.
 72. Berruet N, Sentenac S, Auchere D, Giménez F, Farinotti R, Fernández C. Effect of efavirenz on intestinal p-glycoprotein and hepatic p450 function in rats. *J Pharm Pharm Sci*. 2005;8:226-34.
 73. Hulgán T, Donahue JP, Hawkins C, Unutmaz D, D'Aquila RT, Raffanti S, et al. Implications of T-cell P-glycoprotein activity during HIV-1 infection and its therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;34:119-26.
 74. Owen A, Almond L, Hartkoorn R, Walsh T, Youle M, Bonington A, et al. Relevance of drug transporters and drug metabolism enzymes to nevirapine disposition: superimposition of host genotypes. In: Program and abstracts of the 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; February 22-25, 2005; Boston, Massachusetts. Abstract 650.
 75. Winzer R, Langmann P, Zilly M, Tollmann F, Schubert J, Klinker H, et al. No influence of the P-glycoprotein genotype (MDR1 C3435T) on plasma levels of lopinavir and efavirenz during antiretroviral treatment. *Eur J Med Res*. 2003;8:531-4.
 76. Verstuyft C, Marcellin F, Morand-Joubert L, Launay O, Brendel K, Mentre F, et al. Absence of association between MDR1 genetic polymorphisms, indinavir pharmacokinetics and response to highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2005;19:2127-31.
 77. Haas DW, Smeaton LM, Shafer RW, Robbins GK, Morse GD, Labbe L, et al. Pharmacogenetics of Long-Term Responses to Antiretroviral Regimens Containing Efavirenz and/or Nelfinavir: An Adult AIDS Clinical Trials Group Study. *J Infect Dis*. 2005;192:1931-42.
 78. Antonelli G, Turriziani O, Cianfriglia M, Riva E, Dong G, Fattorossi A, et al. Resistance of HIV-1 to AZT might also involve the cellular expression of multidrug resistance P-glycoprotein. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1992;8:1839-44.
 79. Hoggard PG, Back DJ. Intracellular pharmacology of nucleoside analogues and protease inhibitors: role of transporter molecules. *Curr Opin Infect Dis*. 2002;15:3-8.
 80. Janneh O, Owen A, Chandler B, Hartkoorn RC, Hart CA, Bray PG, et al. Modulation of the intracellular accumulation of saquinavir in peripheral blood mononuclear cells by inhibitors of MRP1, MRP2, PGP and BCRP. *AIDS*. 2005;19:2097-102.
 81. Chaillou S, Durant J, Garraffo R, Georgenthum E, Roptin C, Dunais B, et al. Intracellular concentration of protease inhibitors in HIV-1-infected patients: correlation with MDR-1 gene expression and low dose of ritonavir. *HIV Clin Trials*. 2002;3:493-501.
 82. Hennessy M, Clarke S, Spiers JP, Kelleher D, Mulcahy F, Hoggard P, et al. Intracellular accumulation of nelfinavir and its relationship to P-glycoprotein expression and function in HIV-infected patients. *Antivir Ther*. 2004;9:115-22.
 83. Ford J, Boffito M, Wildfire A, Hill A, Back D, Khoo S, et al. Intracellular and plasma pharmacokinetics of saquinavir-ritonavir, administered at 1,600/100 milligrams once daily in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:2388-93.
 84. Almond LM, Hoggard PG, Edirisinghe D, Khoo SH, Back DJ. Intracellular and plasma pharmacokinetics of efavirenz in HIV-infected individuals. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56:738-44.
 85. Almond LM, Edirisinghe D, Dalton M, Bonington A, Back DJ, Khoo SH. Intracellular and plasma pharmacokinetics of nevirapine in human immunodeficiency virus-infected individuals. *Clin Pharmacol Ther*. 2005;78:132-42.
 86. Haas DW, Wu H, Li H, Bosch RJ, Lederman MM, Kuritzkes D, et al. MDR1 gene polymorphisms and phase 1 viral decay during HIV-1 infection: an adult AIDS Clinical Trials Group study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;34:295-8.
 87. Nasi M, Borghi V, Pinti M, Bellodi C, Lugli E, Maffei S, et al. MDR1 C3435T genetic polymorphism does not influence the response to antiretroviral therapy in drug-naïve HIV-positive patients. *AIDS*. 2003;17:1696-8.
 88. Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, Greub G, Biollaz J, Buclin T. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2001;15:71-5.
 89. Gutiérrez F, Navarro A, Padilla S, Antón R, Masía M, Borrás J, et al. Prediction of neuropsychiatric adverse events associated with long-term efavirenz therapy, using plasma drug level monitoring. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1648-53.
 90. Haas DW, RiBbaudo HJ, Kim RB, Tierney C, Wilkinson GR, Gulick RM, et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS*. 2004;18:2391-400.
 91. Ritchie M, Haas D, Motsinger A, Donahue J, Erdem H, Raffanti S, et al. Genetic variation in drug transporter and metabolizing enzyme genes may be associated with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor hepatotoxicity. In: Program and abstracts of the 12th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; February 22-25, 2005; Boston, Massachusetts. Abstract 832.
 92. Cooper CL, Van Heeswijk RP, Gallicano K, Cameron DW. A review of low-dose ritonavir in protease inhibitor combination therapy. *Clin Infect Dis*. 2003;36:1585-92.
 93. Rovinsky EK, Smith L, Wang YM, Chaturvedi P, Villalona M, Campbell E, et al. Phase I and pharmacokinetic study of paclitaxel in combination with biricodar, a novel agent that reverses multidrug resistance conferred by overexpression of both MDR1 and MRP. *J Clin Oncol*. 1998;16:2964-76.
 94. Bates SE, Bakke S, Kang M, Robey RW, Zhai S, Thambi P, et al. A phase I/II study of infusional vinblastine with the P-glycoprotein antagonist valspodar (PSC 833) in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004;10:4724-33.
 95. Fracasso PM, Blum KA, Ma MK, Tan BR, Wright LP, Goodner SA, et al. Phase I study of pegylated liposomal doxorubicin and the multidrug-resistance modulator, valspodar. *Br J Cancer*. 2005;93:46-53.
 96. Anderson BD, May MJ, Jordan S, Song L, Roberts MJ, Leggas M. Dependence of nelfinavir brain uptake on dose and tissue concentrations of the selective P-glycoprotein inhibitor zosuquidar in rats. *Drug Metab Dispos*. 2006;34:653-9.
 97. Sandler A, Gordon M, De Alwis DP, Pouliquen I, Green L, Marder P, et al. A Phase I trial of a potent P-glycoprotein inhibitor, zosuquidar trihydrochloride (LY335979), administered intravenously in combination with doxorubicin in patients with advanced malignancy. *Clin Cancer Res*. 2004;10:3265-72.
 98. Chi KN, Chia SK, Dixon R, Newman MJ, Wachter VJ, Sikic B, et al. A phase I pharmacokinetic study of the P-glycoprotein inhibitor, ONT-093, in combination with paclitaxel in patients with advanced cancer. *Invest New Drugs*. 2005;23:311-5.
 99. Kuppens IE, Bosch TM, Van Maanen MJ, Rosing H, Fitzpatrick A, Beijnen JH, et al. Oral bioavailability of docetaxel in combination with OC144-093 (ONT-093). *Cancer Chemother Pharmacol*. 2005;55:72-8.
 100. Mistry P, Folkes A. ONT-093 (Ontogen). *Curr Opin Investig Drugs*. 2002;3:1666-71.
 101. Ramachandran C, Wellham LL. Effect of MDR1 phosphorothioate antisense oligodeoxynucleotides in multidrug-resistant human tumor cell lines and xenografts. *Anticancer Res*. 2003;23:2681-90.
 102. Kang H, Fisher MH, Xu D, Miyamoto YJ, Marchand A, Van Aerscht A, et al. Inhibition of MDR1 gene expression by chimeric HNA antisense oligonucleotides. *Nucleic Acids Res*. 2004;32:4411-9.
 103. Xu D, Kang H, Fisher M, Juliano RL. Strategies for inhibition of MDR1 gene expression. *Mol Pharmacol*. 2004;66:268-75.
 104. Xu D, Ye D, Fisher M, Juliano RL. Selective inhibition of P-glycoprotein expression in multidrug-resistant tumor cells by a designed transcriptional regulator. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302:963-71.
 105. Matsushita H, Kizaki M, Kobayashi H, Ueno H, Muto A, Takayama N, et al. Restoration of retinoid sensitivity by MDR1 ribozymes in retinoic acid-resistant myeloid leukemic cells. *Blood*. 1998;91:2452-8.
 106. Kobayashi H, Dorai T, Holland JF, Ohnuma T. Reversal of drug sensitivity in multidrug-resistant tumor cells by an MDR1 (PGY1) ribozyme. *Cancer Res*. 1994;54:1271-5.
 107. Wang FS, Kobayashi H, Liang KW, Holland JF, Ohnuma T. Retrovirus-mediated transfer of anti-MDR1 ribozymes fully restores chemosensitivity of P-glycoprotein-expressing human lymphoma cells. *Hum Gene Ther*. 1999;10:1185-95.