

# Resistencias a fármacos antirretrovíricos

M<sup>a</sup> Antonia Menéndez<sup>a</sup> y Carlos Pérez de Oteyza<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Militar Universitario Gómez Ulla. <sup>b</sup>Departamento de Medicina. Universidad Complutense. Madrid

## ¿A qué nos referimos al hablar de resistencia a antirretrovíricos?

Al hablar de resistencia a fármacos antirretrovíricos nos referimos a la menor susceptibilidad del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) a la acción de dichos fármacos. Este hecho constituye una de las principales causas del fracaso terapéutico en pacientes con infección por el VIH, y ha sido estudiado ampliamente en sujetos en monoterapia con zidovudina (AZT). En ellos, la aparición de resistencias se asociaba a un aumento del riesgo de progresión de la enfermedad y de muerte, independientemente de otros factores<sup>1,2</sup>.

Actualmente el tratamiento combinado, incluyendo al menos 3 fármacos, se ha mostrado altamente eficaz<sup>3</sup> produciendo un claro descenso de la mortalidad con retraso de la progresión clínica en pacientes tratados<sup>4</sup>. Sin embargo, la persistencia de replicación vírica, aún a bajo nivel, condiciona la selección de variantes víricas, que serán la base para la aparición de las resistencias.

La posibilidad de aparición de resistencias será tanto mayor, cuanto menor sea la supresión de la replicación vírica, condicionada por niveles subterapéuticos de los fármacos. Estos bajos niveles son consecuencia, habitualmente, de una falta de adherencia al tratamiento por parte de los pacientes, debida a la complejidad del mismo (cantidad total de pastillas, número de dosis diarias, restricciones dietéticas, etc.) y a los efectos adversos de la medicación a corto y largo plazo. Por lo que es fundamental, a la hora de iniciar un tratamiento, que el paciente lo acepte y entienda la importancia de realizarlo de forma correcta<sup>5</sup>.

## ¿Qué factores víricos condicionan la aparición de resistencias?

Existen diversos factores que van a condicionar la aparición de resistencias. De una parte, la elevada tasa de replicación del VIH, que en ausencia de tratamiento, viene a ser de 10<sup>10</sup> partículas víricas nuevas cada día, aunque no todas ellas serán infectivas<sup>6</sup>.

Por otro lado, la variabilidad genética del VIH, propia de todos los virus ARN, que es consecuencia de la falta de actividad correctora de errores de la transcriptasa inversa (TI). Esto facilita que las nuevas copias de ARN vírico presenten frecuentes mutaciones respecto al genoma inicial.

Ambas circunstancias favorecen que en un determinado sujeto, un único virus infeccioso pueda dar lugar, en un corto período de tiempo, a la aparición de múltiples variantes víricas, conocidas como "cuasiespecies"<sup>7</sup>. Dentro de estas variantes se encontrarían aquellas portadoras de alguna mutación de resistencia a los antirretrovíricos, constituyendo, por lo general, una pequeña proporción de la población vírica global inicial. De esta forma, cuando se administra un fármaco antirretrovírico concreto se eliminarán aquellos virus sensibles, produciéndose, por lo tanto, una selección de virus con menor susceptibilidad al mismo, que perdurarán y llegarán a ser la población predominante si no se consigue suprimir la replicación vírica en ese sujeto.

## ¿Qué tipos de mutaciones se producen?

En pacientes tratados podemos encontrar distintos tipos de mutaciones en el genoma del VIH, con implicaciones diferentes. Las mutaciones primarias son aquellas que aparecen habitualmente de forma precoz bajo la presión selectiva de un fármaco determinado, es decir, son bastante específicas para cada antirretrovírico. Estas mutaciones afectan directamente la sensibilidad de la enzima al fármaco que las selecciona, sin embargo, por lo general disminuyen además la eficacia replicativa (*fitness*) del virus<sup>8</sup>.

Las mutaciones secundarias se acumulan en el genoma vírico cuando ya se han producido una o varias mutaciones primarias. No suelen proporcionar un aumento significativo de resistencia al fármaco pero, en cambio, tratan de mejorar la capacidad replicativa que el virus ha podido perder mediante las mutaciones primarias, por lo que se denominan también mutaciones compensatorias.

Como se ha dicho, las mutaciones primarias suelen ser específicas para cada fármaco antirretrovírico, sin embargo las mutaciones secundarias son comunes a distintos fármacos de cada una de las familias (inhibidores de la TI análogos de nucleósidos, inhibidores de la TI no nucleósidos e inhibidores de la proteasa) existentes en la actualidad. Este hecho nos lleva al concepto de resistencias cruzadas, que son aquellas que aparecen cuando un virus resistente a un antivírico muestra resistencia a otros fármacos con los que no ha estado en contacto. Así, respecto a la TI, la mutación K103N confiere pérdida de sensibilidad a todos los no nucleósidos, mientras que la mutación M184V condiciona resistencia de alto grado a

lamivudina, y contribuye junto con otras mutaciones en la resistencia a didanosina, zalcitabina y abacavir<sup>9</sup>. De forma similar, la mutación V 82T de la proteasa, que aparece tras la toma de indinavir, confiere resistencia también a ritonavir.

Por otra parte, las mutaciones descritas hasta el momento suelen presentarse cuando el fármaco se utiliza en monoterapia, pero cuando se emplean de forma combinada, como es la norma en el momento actual, los patrones de resistencia pueden ser muy diferentes<sup>10</sup>.

En ocasiones una sola mutación es suficiente para que aparezca resistencia a un fármaco, como sucede con la M184V de la TI y la lamivudina, decimos entonces que ese antirretrovírico presenta una baja barrera genética. Sin embargo en otros casos, como sucede con los inhibidores de la proteasa, se deben acumular un número importante de mutaciones para que aparezcan resistencias fenotípicas, por lo que generalmente el fracaso se producirá tras un tiempo más prolongado de tratamiento.

## ¿Cuál es la utilidad clínica de la determinación de resistencias?

Como ya se ha comentado, la relación entre la resistencia a fármacos y la mala evolución clínica fue puesta pronto de manifiesto por diversos estudios retrospectivos<sup>1,2</sup> en que la presencia de resistencia a AZT se asoció a un mayor riesgo de progresión a sida y de muerte. Posteriormente nuevos trabajos<sup>11-14</sup> mostraron, también de forma retrospectiva, que la presencia de resistencia a fármacos es un factor de riesgo para una mala respuesta virológica, independiente de otros factores como pueden ser el nivel de carga vírica, la cifra de linfocitos CD4+ o los tratamientos previos utilizados. Pero también de forma prospectiva, se ha demostrado que la utilización de las pruebas de detección de resistencias, tanto si se emplean técnicas genotípicas<sup>15,16</sup> como fenotípicas<sup>17</sup>, proporcionan una mejor respuesta virológica en los pacientes al modificar el tratamiento tras el fracaso terapéutico. Por otra parte, el fallo virológico no va inevitablemente acompañado de resistencia a todos los fármacos utilizados en un determinado régimen terapéutico<sup>18,19</sup>, pudiendo estar implicados otros factores, como las concentraciones plasmáticas de los medicamentos u otros mecanismos de resistencia celular recientemente identificados<sup>20</sup>. Por ello, mientras no podamos valorar todas estas otras posibilidades en el manejo habitual de los pacientes, es importante conocer a qué fármacos puede ser resistente el virus, para no desechar todos los administrados previamente y de esa forma perder opciones terapéuticas que podríamos utilizar en un futuro tratamiento.

## ¿Qué tipo de técnicas se pueden utilizar para detectar resistencias?

Para detectar resistencias a fármacos antirretrovíricos contamos actualmente con 2 métodos distintos: técnicas genotípicas y fenotípicas. Las técnicas genotípicas identifican las mutaciones en el genoma del VIH que condicio-

nan un cambio en la secuencia de aminoácidos de las proteínas víricas (TI o proteasa). En todas ellas se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar el material genético, aunque la identificación de las mutaciones se puede realizar de diferentes formas. Las más habituales son secuenciación y detección de mutaciones puntuales.

Uno de los mayores inconvenientes de las técnicas genotípicas es la complejidad de los datos generados, que hace necesaria la interpretación de los resultados, mediante determinadas guías basadas en las mejores evidencias científicas disponibles y para ello existen diversas direcciones en Internet con actualización regular de los datos disponibles (<http://www.viral-resistance.com> y <http://hivdb.stanford.edu/hiv>)<sup>21</sup>.

Las técnicas fenotípicas analizan el grado de sensibilidad a un fármaco en un cultivo celular, es decir, miden la capacidad de los diversos antirretrovíricos, utilizados a distintas concentraciones, de inhibir la replicación vírica.

Actualmente existen 2 pruebas de determinación de resistencias fenotípicas basadas en la tecnología de recombinación de ADN, que permiten obviar la necesidad de cultivos víricos, y son capaces de valorar la sensibilidad de un mayor número de fármacos en menos tiempo que las técnicas previas. Los resultados obtenidos con ambas pruebas presentan una buena correlación<sup>22</sup>.

Estos resultados se expresan como el número de veces que aumenta la IC50 (concentración requerida para reducir al 50% la producción vírica en cultivo celular) para cada fármaco, en comparación con un control susceptible suministrado por el laboratorio. El límite para considerar a un fármaco sensible difiere dependiendo de cada uno de los métodos. En el comercializado por ViroLogic (Phenosense<sup>®</sup>) se consideran resistentes aquellos virus cuya IC50 supera en 2,5 veces la de la cepa control, mientras que para el comercializado por Virco (Antivirogram<sup>®</sup>), los virus resistentes son aquellos cuya IC50 es igual o mayor en cuatro veces la de la cepa control.

Este último laboratorio (Virco), presenta una interesante opción denominada "fenotipo virtual", según la cual, una vez obtenido el genotipo vírico, se pueden identificar los distintos fenotipos que le corresponderían. Para ello los datos del genotipo se deben introducir en una base de datos que reúne información genotípica y fenotípica de más de 10.000 muestras. El principal problema que presenta es la dificultad de acceso a los datos.

## ¿Cuáles son las ventajas e inconvenientes de cada uno de los métodos de detección de resistencias?

Las técnicas genotípicas presentan ciertas ventajas en cuanto a la facilidad de realización, el menor tiempo necesario para la obtención de resultados y el hecho de que las mutaciones observadas van a preceder, habitualmente, a la aparición de resistencias fenotípicas, con lo cual, el cambio de tratamiento puede realizarse de forma precoz. Sin embargo, como ya se ha mencionado, la interpretación es más difícil que en el caso de las pruebas fenotípicas, que nos informan directamente de la sensibi-

alidad a un fármaco y nos proporcionan resultados sobre las resistencias cruzadas<sup>23</sup>.

Por otra parte, la desventaja de las pruebas fenotípicas es que sólo están disponibles en laboratorios comerciales, y no de investigación o asistenciales. Además, presentan un coste elevado, y se necesita un tiempo prolongado para obtener los resultados.

Ambos métodos tienen el inconveniente de requerir un nivel mínimo de carga vírica para su realización que se sitúa entre 500 y 1.000 copias/ml. En ambos casos también, las variantes minoritarias (< 10%-50% de la población vírica) pueden no ser detectadas<sup>24</sup>, por lo que es posible que existan cepas de VIH resistentes que no queden de manifiesto al representar sólo una pequeña proporción de la población vírica total.

## ¿Cuándo se deben utilizar las pruebas de resistencia?

A lo largo del año 2000 se han publicado diversos documentos, promovidos por sociedades nacionales e internacionales, que tratan de proporcionar unas indicaciones claras y racionales para la utilización de las pruebas de resistencia en la práctica clínica.

En el mes de mayo, en la revista JAMA<sup>24</sup>, un panel de expertos internacionales realizó una valoración de la utilidad de estas pruebas sentando unos criterios para su realización en función de la situación de los pacientes. Los autores recomiendan su utilización en determinadas circunstancias cuando hay evidencias suficientes basadas en la valoración de datos científicos y en la opinión de los expertos. Mientras que sólo consideran su utilización en aquellos casos en que los datos no son concluyentes de un claro beneficio.

En esta misma revista, en octubre de 2000<sup>25</sup>, se publica un documento de consenso aprobado por un comité de expertos del Grupo de Estudio de Sida (GESIDA) de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) y del Consejo Asesor Clínico de la Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida (SPNS) del Ministerio de Sanidad y Consumo, en el que se establecen los criterios más adecuados para la utilización de estas pruebas en nuestro medio. Más recientemente en un número monográfico sobre resistencia a antirretrovíricos, se revisan las últimas guías y documentos de consenso realizando una comparación entre ellos<sup>26</sup>.

El comité recomienda la realización de las pruebas de resistencia fundamentalmente en 3 situaciones:

1. Cuando se detecta infección aguda en un sujeto, siempre que se vaya a iniciar un tratamiento antirretrovírico, puesto que la presencia de mutaciones primarias, si bien es un hecho no demasiado frecuente en el momento actual<sup>27</sup>, es de esperar que vaya en aumento, y puede contribuir junto con otros factores al posible fracaso terapéutico.

2. En la mujer embarazada, ya que el claro beneficio obtenido con el tratamiento antirretrovírico al reducir la transmisión materno fetal<sup>28</sup>, puede verse ensombrecido por la presencia de cepas resistentes, como muestran observaciones recientes<sup>29</sup> en las que la resistencia a AZT en la madre, aumentó en cinco veces el riesgo de trans-

misión vertical de la infección por el VIH, independientemente del nivel de carga vírica plasmática.

3. En pacientes pretratados con fracaso terapéutico, fundamentalmente en el segundo y tercer fracaso, donde la elección de los fármacos adecuados es muy importante para el tratamiento de rescate, ya que después del tercer fracaso es raro que encontremos opciones válidas con los fármacos actualmente disponibles.

Finalmente existen una serie de circunstancias, como la profilaxis post-exposición, en las que se podría realizar un estudio de resistencias al caso índice, sin que ello deba suponer un retraso en el inicio de la profilaxis si estuviera indicada. En el primer fracaso terapéutico la realización de las pruebas de resistencias se puede considerar dependiendo de la disponibilidad de cada centro, ya que en este caso no suele haber problemas para introducir un nuevo régimen terapéutico, debiéndose excluir en primer lugar la falta de adherencia al tratamiento, posibles alteraciones en la absorción de los fármacos o presencia de interacciones farmacocinéticas que estén produciendo niveles subterapéuticos.

## Bibliografía

1. D'Aquila R, Johnson VA, Welles S, Japour AJ, Kuritzkes DR, De Gruttola V, et al. Zidovudine resistance and human immunodeficiency virus type 1 disease progression during antiretroviral therapy. *Ann Intern Med* 1995; 122: 401-408.
2. Japour AJ, Welles S, D'Aquila RT, Johnson VA, Richman DD, Coombs RW, et al. Prevalence and clinical significance of zidovudine resistance mutations in human immunodeficiency virus isolated from patients after long-term zidovudine treatment. *J Infect Dis* 1995; 171: 1.172-1.179.
3. Pérez de Oteyza C, Menéndez MA, Pérez Aznar C, Carmona de Cozar M, Muro R. Respuesta de carga viral y linfocitos CD4+ a un año de tratamiento antirretroviral triple en pacientes VIH pretratados. *Rev Clin Española* 2000; 200 (Supl 1): 71.
4. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1998; 338: 853-860.
5. El Grupo de Estudio de Sida de la SEIMC, la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria y la Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida. Recomendaciones para mejorar la adherencia al tratamiento antirretrovírico. Ministerio de Sanidad y Consumo, 1999.
6. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics *in vivo*: virion clearance rate, infected cell life-span, and virica generation time. *Science* 1996; 271: 1.582-1.586.
7. Coffin JM. HIV population dynamics *in vivo*: implication for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995; 267: 483-489.
8. Martínez Picado J, Savara LV, Sutton L, D'Aquila RT. Replicative fitness of protease inhibitor-resistant mutants of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1999; 73: 3.744-3.752.
9. Leal M, Santamaría JM. Resistencia a los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19 (Monográfico): 26-29.
10. Van Vaerenbergh K, Van Laethem K, Albert J, Boucher CA, Clotet B, Florida M, et al. Prevalence and characteristics of multinucleoside-resistant human immunodeficiency virus type 1 among European patients receiving combinations of nucleoside analogues. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2.109-2.117.
11. Miller V, Phillips A, Rottmann C, Staszewski S, Pauwels R, Hertogs K, et al. Dual resistance to zidovudine and lamivudine in patients treated with zidovudine-lamivudine combination therapy. *J Infect Dis* 1998; 177: 1.521-1.532.
12. Deeks SG, Hellman NS, Grant RM, Parkin NT, Petropoulos CJ, Becker M, et al. Novel four-drug salvage treatment regimens after failure of a human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-containing regimen. *J Infect Dis* 1999; 179: 1.375-1.381.
13. Lorenzi P, Opravil M, Hirschel B, Chave JP, Sax H, Furrer HJ, et al. Resistance mutations as predictor of response to salvage therapy. 6<sup>th</sup> Conference on Retroviruses And Opportunistic Infections. Chicago IL: 1999 (Abstract 140).

14. Zolopa AR, Shafer RW, Warford A, Montoya JG, Katzenstein D, Merigan T. HIV-1 genotypic resistance patterns predict response to saquinavir-ritonavir therapy in patients in whom previous protease inhibitor therapy had failed. *Ann Intern Med* 1999; 131: 813-822.
15. Clevenbergh P, Durant J, Halfon P, del Giudice P, Simonet P, Montagne N, et al. Persisting long-term benefit of antiretroviral genotypic guided treatment for HIV-infected patients failing HAART. *Antiviral Ther* 1999; 4 (Supl 1): 42 (Abstract 60).
16. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, Neaton JD, Merigan TC. Final results of CPCRA 046: a pilot study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing (GART) in patients failing antiretroviral therapy. *Antiviral Ther* 1999; 4 (Supl 1): 43 (Abstract 61).
17. Cohen C, Kessler H, Hunt S, Sension M, Farthing C, Conant M, et al. Phenotypic resistance testing significantly improves response to therapy: final analysis of a randomized trial (VIRA3001). 4<sup>th</sup> International Workshop on Drug Resistance and Treatment Strategies. Sitges (Spain), 12-16 June 2000 (Abstract 84). *Antiviral Ther* 2000; 5 (Supl 3): 67.
18. Havlir DV, Hellman NS, Petropoulos CJ, Whitcomb JM, Collier AC, Hirsch MS, et al. Drug susceptibility in HIV infection after viral rebound in patients receiving indinavir-containing regimens. *JAMA* 2000; 283: 229-234.
19. Descamps D, Flandre P, Calvez V, Peytavin G, Meiffredy V, Collin G, et al. Mechanisms of virologic failure in previously untreated HIV-infected patients from a trial induction-maintenance therapy. *JAMA* 2000; 283: 205-211.
20. Markowitz M. Resistance, fitness, adherence and potency. Mapping the paths to virologic failure. *JAMA* 2000; 283: 250-251.
21. Clotet B, Martínez-Picado J, Ruiz L, Tural C. Resistencia a los fármacos antirretrovirales. Barcelona: Publicaciones Permanyer, 2000.
22. Oari SH, Respass R, Weinstock H, Beltrami E, Hertogs K, Larder BA, et al. A comparative analysis of Virco Antivirogram and Virologic PhenoSense Phenotypic assays for drug susceptibility of HIV-1. 4<sup>th</sup> International Workshop in Drug Resistance and Treatment Strategies. Sitges (Spain), 12-16 June 2000 (Abstract 62). *Antiviral Ther* 2000; 5 (Supl 3): 49.
23. Ruiz L, Martínez-Picado J, Clotet B. Resistencia del VIH a los antirretrovirales. En: Gatell JM, Clotet B, Podzamczar D, Miró JM, Mallolas J, eds. *Guía Práctica del Sida: Clínica, diagnóstico y tratamiento*. (6<sup>a</sup> ed). Barcelona: Masson S.A., 2000: 413-426.
24. Hirsch MS, Brun-Vézinet F, D'Aquila RT, Hammer SH, Johnson VA, Kuritzkes DR, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection. Recommendations of an international AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2000; 283: 2.417-2.426.
25. Miró JM, Antela A, Arrizabalaga J, Clotet B, Gatell JM, Guerra L, et al. Recomendaciones de GESIDA/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretrovírico en pacientes adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana en el año 2000 (II). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18: 396-412.
26. Antela A, Iribarren JA, Clotet B, Guerra L. Documentos de consenso y guías clínicas sobre resistencia a antirretrovirales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19 (Monográfico): 47-52.
27. Puig T, Pérez-Olmeda M, Rubio A, Ruiz L, Briones C, Franco JM, et al. Prevalence of genotypic resistance to nucleoside analogues and protease inhibitors in Spain. *AIDS* 2000; 14: 727-732.
28. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med* 1994; 331: 1.173-1.180.
29. Welles SL, Pitt J, Colgrove R, McIntosh K, Chung PH, Colson A, et al. HIV-1 genotypic zidovudine drug resistance and the risk of maternal-infant transmission in the women and infants transmission study. The Women and Infants Transmission Study Group. *AIDS* 2000; 14: 263-271.