

Resistencias a darunavir

Miguel García Deltoro

Unidad de Enfermedades Infecciosas. Consorcio Hospital General Universitario. Valencia. España.

El perfil de resistencia a darunavir (DRV) se ha extrapolado inicialmente del análisis combinado de los 3 estudios POWER del subgrupo que llevaba desde el comienzo la dosis aprobada para DRV (n = 467) y, posteriormente, ampliado con la rama placebo sin etravirina de los 2 estudios DUET (n = 604), midiendo la eficacia a las 24 semanas. Se han configurado como los 2 mejores factores predictivos de la respuesta virológica: por una parte, el fenotipo basal expresado como el aumento del número de veces o *fold change* (FC) en la concentración eficaz del 50% (EC_{50}), describiéndose 2 puntos de corte clínicos en 10 y 40 como disminución y pérdida de respuesta respectivamente; por otra, un primer listado (DRV score 2006) de 11 mutaciones en 10 posiciones: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L, I54M, G73S, L76V, I84V y L89V, recientemente revisado (DRV score 2007) quitando del anterior la G73S y añadiendo la T74P, y la respuesta virológica está disminuida con la presencia de 3 o más mutaciones de ambos listados con una ligera mejora de la predicción de respuesta para el de 2007, siempre en el contexto de un alto número de mutaciones (mediana ≥ 10) de la International AIDS Society, además hay una muy buena correlación genofenotípica comprobando una disminución progresiva del FC con el acúmulo paulatino de mutaciones de ambos listados. En cuanto a las mutaciones seleccionadas al fallo a DRV, en los pacientes multiresistentes de los estudios POWER y DUET se describen también mayoritariamente las del DRV score sobre todo la pareja V32I e I54L; comparativamente los pacientes del estudio TITAN con un menor nivel de resistencia seleccionan mutaciones similares pero de manera muy escasa en los pocos fallos virológicos descritos, muchos menos fallos y menos mutaciones que la rama de lopinavir (LPV); por último, no aparece ninguna mutación en la proteasa de fracasos a DRV en pacientes *naïve* (estudio ARTEMIS), efecto ya conocido del grupo de inhibidores de la proteasa potenciados, pero también más acentuado para DRV frente a LPV.

Palabras clave: Darunavir. Resistencia. Fenotipo basal. Listado de mutaciones 2006 y 2007.

Correspondencia: Dr. M. García Deltoro.
Unidad de Enfermedades Infecciosas.
Consorcio Hospital General Universitario.
Avda. Tres Cruces, s/n. 46014 Valencia. España.
Correo electrónico: med001007@saludalia.com

Resistance to darunavir

The resistance profile of darunavir (DRV) was initially explored using pooled week 24 data from POWER 1, 2, and 3 at the recommended dose of DRV (n=467) with the subsequent addition of data from the placebo arm without etravirine (ETR) of DUET 1 and 2 (n=604). The two strongest predictors of virological response were firstly baseline phenotype expressed as the darunavir fold change in 50% effective concentration (EC_{50}), with phenotypic clinical cut-offs of 10 and 40 being established for diminished response and loss of response, respectively, and secondly, the DRV score 2006 of 11 mutations in 10 positions: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L, I54M, G73S, L76V, I84V and L89V, recently revised (DRV score 2007) with removal of G73S and addition of T74P. The presence of three or more mutations was associated with a diminished virological response in both the 2006 and 2007 lists but slightly better prediction was observed with the 2007 list. Each of the above-mentioned mutations was associated with a mean of at least 10 mutations of the International AIDS Society's (IAS) list. Moreover, good genophenotypic correlation was found, corroborating a progressive reduction in fold change with the progressive accumulation of mutations from both lists. In multiresistant patients in the POWER and DUET studies, the most commonly selected mutations upon DRV failure were those in the DRV score, especially V32I and I54L. Similar mutations were selected by patients from TITAN, who showed a much lower level of resistance; however, these mutations were selected much less frequently in the few virological failures described. Furthermore, virological failure and mutations were much less frequent in the DRV arm than in the lopinavir arm. Lastly, no protease mutations were found upon DRV failure in treatment-naïve patients in the ARTEMIS study, an effect already known in enhanced proteases, but also more accentuated in DRV than in lopinavir.

Key words: Darunavir. Resistance. Baseline phenotype. DRV scores 2006 and 2007.

Introducción

Actualmente, los 2 inhibidores de la proteasa (IP) del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de última generación, darunavir (DRV) y tipranavir (TPV), son los que

presentan una mayor barrera genética a la resistencia, en parte por su potenciación farmacocinética con ritonavir (RTV), pero sobre todo por las propiedades intrínsecas de ambas moléculas, concretamente el DRV, a pesar de su estructura química similar al amprenavir (APV) tiene una afinidad unas 1.000 veces mayor para la cepa salvaje de VIH (*wild type*) que los IP clásicos motivado por su capacidad de formar fuertes puentes de hidrógeno con el sitio activo de la proteasa^{1,2}. La amplia utilización de IP en el manejo de la infección VIH durante más de 10 años, inicialmente sin potenciar, sobre todo el indinavir y después el nelfinavir, y ya en los últimos años potenciados fundamentalmente el lopinavir (LPV), ha hecho que tengamos una importante resistencia cruzada para toda la familia de estos fármacos³. Sin embargo, probablemente el haber utilizado muy escasamente el APV⁴ ha permitido que el DRV sea con diferencia el IP más respetado para la mayoría de aislados multiresistentes, siempre con una clara ventaja sobre el TPV⁵ (fig. 1).

Por otra parte, los datos de seguridad, tolerancia y el buen perfil metabólico del DRV están haciendo que no sólo se esté empezando a utilizar en pacientes multiresistentes sino en líneas de tratamiento cada vez más precoces, avalado por los buenos datos de estudios como el TITAN⁶ y ARTEMIS⁷. Sin duda, ubicarlo en el momento adecuado para garantizar la máxima eficacia es hoy en día todo un reto que se plantea en la práctica clínica diaria, con la premisa de asegurar en todo momento la presencia de 2 e idealmente 3 fármacos plenamente activos en el esquema del tratamiento antirretroviral.

Al igual que los últimos fármacos antirretrovirales que se han ido comercializando, el DRV tiene un perfil de resistencias⁸ meticolosamente estudiado, inicialmente a partir de los estudios controlados de desarrollo del fármaco, concretamente se tienen muy buenos datos predictivos de la respuesta virológica, tanto fenotípicos como genotípicos, procedentes de los estudios⁹⁻¹¹ fase IIB POWER 1 y 2, así como del estudio abierto de soporte POWER 3, y recientemente se han incorporando los datos procedentes de los estudios DUET 1 y 2 en su rama de placebo que no

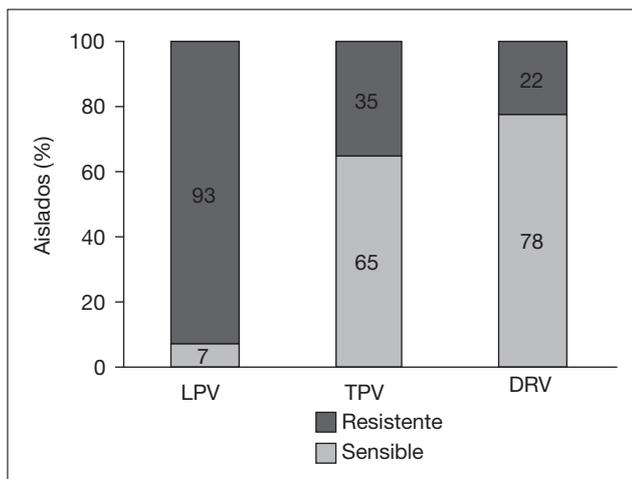


Figura 1. Distribución comparativa de la actividad antiviral para lopinavir (LPV), tipranavir (TPV) y darunavir (DRV). Muestra amplia de aislados clínicos (n = 9.968), seleccionando los que mostraban disminución de sensibilidad a alguno de los 3 (n = 2.682).

llevaba etravirina (ETR)¹². Además, hay resultados de la resistencia fenotípica al fallo de los estudios POWER, pero sobre todo se dispone de la posibilidad única de comparar las mutaciones que se seleccionan al fallo, tanto en estos pacientes con muchas líneas de tratamiento (POWER y DUET) como en pacientes con menor experiencia en tratamientos antirretrovirales (TITAN) e inclusive en pacientes *naïve* (ARTEMIS).

Finalmente, hay datos *in vitro* interesantes: por una parte, muestran la lentitud y rareza de selección de algunas mutaciones para conseguir disminución de sensibilidad fenotípica al DRV¹³, y por otra, describen algunos datos reveladores de mutagénesis dirigida¹⁴.

Material y métodos

El perfil de resistencia, tanto genotípico como fenotípico, para el DRV se extrapoló en su día del análisis conjunto de los 3 estudios POWER midiendo su eficacia a las 24 semanas, y exclusivamente del grupo homogéneo de los pacientes que llevaban desde su inicio la dosis posteriormente aprobada de DRV potenciado con dosis bajas de RTV (600/100 mg 2 veces al día [bid]), incluyendo para la predicción de respuesta los datos basales con un total de pacientes que en ese momento fueron 458. Pero además, se hizo un subestudio más restringido de los que no llevaban enfuvirtide (ENF) en el tratamiento optimizado basal (OBR) junto al DRV (n = 215), con el objeto de quitar la contribución como factor de confusión de un fármaco plenamente activo de una nueva familia antirretroviral. Este estudio permitió acotar los puntos de corte clínicos fenotípicos, así como el primer listado de mutaciones (DRV score) de 2006, predictivo de la respuesta virológica para el DRV⁸.

Recientemente, y dada la similitud de los criterios de inclusión, se ha ampliado el análisis sumando los pacientes pertenecientes a los 2 estudios DUET analizando la rama de placebo sin ETR (n = 604), siempre con el punto de eficacia en esa semana 24 (fig. 2). Todos los pacientes incluidos de los estudios POWER, más alguno que antaño no había llegado a la semana 24 (n = 467), junto a los pacientes de los estudios DUET, conforman una amplia base de datos (n = 1.071) que ha servido para perfilar y mejorar ligeramente la ya de por sí buena capacidad predictiva del

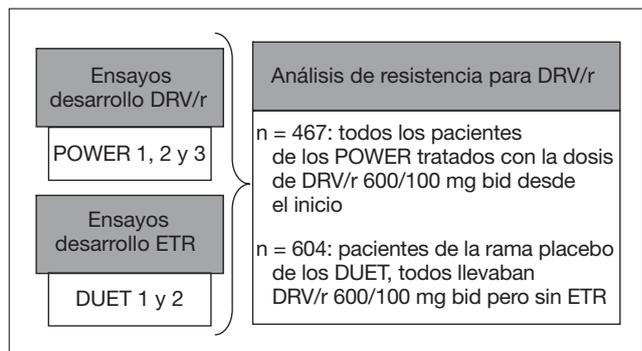


Figura 2. Población estudiada para extrapolar el perfil de resistencia a darunavir potenciado con dosis bajas de ritonavir (DRV/r) en el análisis combinado de sus 3 estudios de desarrollo POWER, más los 2 estudios de desarrollo DUET de etravirina (ETR).

listado de mutaciones de 2006 con uno nuevo de finales de 2007, mientras que de momento, a falta de posibles aco- taciones futuras, se mantienen los buenos datos predictivos fenotípicos sin cambios¹². Por su parte, se han revisado las mutaciones seleccionadas al fallo que ya estaban des- critas en la muestra inicial del POWER y han sido revalora- das estudiando todos los pacientes referidos de la com- binación POWER-DUET (n = 1.071).

El análisis de la correlación genofenotípica basal tam- bién se ha ampliado, e inclusive como es lógico, al global de los pacientes de los 3 estudios POWER y de los 2 estudios DUET (n > 2.500), siempre que se dispusiera tanto de los datos iniciales de sus mutaciones como de la sensibilidad fenotípica al DRV.

Todos los análisis se efectuaron con intención de trata- miento, pero mientras que para el análisis inicial de 2006 se había utilizado el algoritmo estricto de abandono = fal- lo, en el último de los POWER y DUET se optó por censu- rar los abandonos por motivos distintos de los debidos a fal- los virológicos, de esta manera se tiene posiblemente la mejor y más amplia predicción estricta de la resistencia. Se utilizó el algoritmo de tiempo hasta la pérdida de la respuesta virológica descrito por la FDA¹⁵: proporciones de pacientes con al menos 1 log₁₀ de disminución en la carga viral de VIH y de pacientes con viremia VIH < 50 copias/ml, ambas en esa semana 24.

Datos fenotípicos

Puntos de corte clínicos

El fenotipo basal al DRV expresado como casi siempre con el aumento del número de veces o *fold change* (FC) en la concentración efectiva del 50% (EC₅₀) del paciente se configura como el mejor factor predictivo de respuesta vi- rológica, siendo ésta muy constante hasta un FC de 10 para posteriormente disminuir gradualmente superado este valor⁸.

Los puntos de corte clínicos para el DRV (con Antiviro- gram[®]) se han establecido con el modelo lineal (análisis de la covarianza, ANCOVA) utilizando como covariables la carga viral basal y el uso de ENF, de esta manera se tiene

un primer punto por debajo de disminución de eficacia en un FC de 11,8 y el superior de la pérdida de eficacia en 41,7, ambos puntos se han aproximado por practicidad a 10 y 40. Es importante destacar como la alta barrera ge- nética de resistencia a DRV hace que a pesar de tener en los POWER pacientes con una amplia experiencia a múlti- ples tratamientos antirretrovirales, casi un 70% de éstos tenía un FC ≤ 10 y tan solo un 13% un FC > 40. Obvia- mente, las disminuciones de viremia y la proporción de pa- cientes con viremia indetectable son muy elevadas dado estos datos fenotípicos basales favorables (fig. 3). Asimis- mo, hay que destacar la poca contribución del ENF en los pacientes con sensibilidad conservada a DRV (FC ≤ 10), mientras que lógicamente sí es mucho más relevante en los pacientes con disminución de sensibilidad (FC > 10-40) y pérdida de ésta (FC > 40).

Sin embargo, todos sabemos que en nuestra práctica clí- nica diaria habitualmente no se dispone de datos fenotípi- cos directos, aunque afortunadamente esto no es un pro- blema porque hay una muy buena correlación de éste con el perfil mutacional, concretamente con el listado de mu- taciones o *score* a DRV.

Datos fenotipo virtual

En la mayoría de centros de nuestro país sí se dispone del fenotipo virtual (Virco[®]TYPE HIV-1), cuyos puntos de corte clínicos, a pesar de no ser taxativos, sí son una he- rramienta más para decidir el mejor tratamiento antiretro- viral de rescate para nuestros pacientes. Concreta- mente desde el *workshop* de resistencias de Sitges de 2006, se conocen los del DRV¹⁶. Con los datos procedentes de un total de 402 pacientes que habían recibido el fár- maco dentro de los estudios POWER a la dosis de 600/100 mg bid, se utilizó un modelo de regresión lineal para pre- decir la respuesta virológica a la octava semana pudiendo definir (n = 319) y validar (n = 83) el punto de corte de disminución de la respuesta virológica en un 20% (CCO1) con un FC de 3,4 y el del 80% (CCO2) con un FC de 97. Los pacientes con un FC basal < 3,4 (n = 170), 3,4-97 (n = 218) y > 97 (n = 14), tenían una mediana de respuesta vi- rológica en esa octava semana de 2,3, 1,4 y 0,16 log₁₀ co- pias/ml, respectivamente. Adicionalmente se han estable-

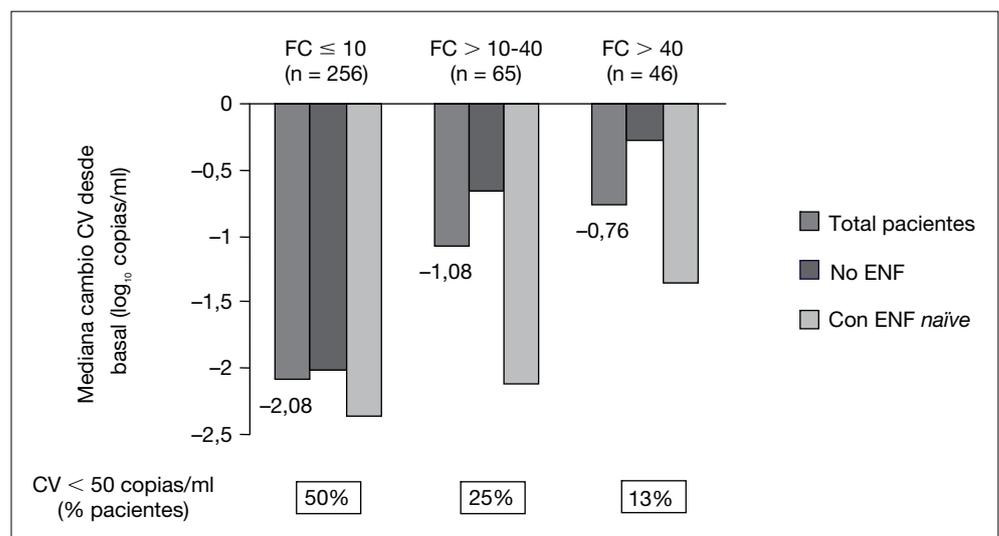


Figura 3. Relación entre la res- puesta virológica a darunavir (DRV) en la semana 24 (análisis en intención de tratamiento con abandono = fallo) y el fenotipo basal (estudios POWER). CV: carga viral; ENF: enfuvirtide; FC: *fold change* o aumento del núme- ro de veces en la concentración efecti- va del 50% (EC₅₀); CV: carga viral.

cido puntos de corte de FC intermedios: 3,4 < 10 (n = 102), 10 a < 40 (n = 88) y 40-97 (n = 28) con medianas de disminución de viremia de 2,2, 1,3 y 0,17 log₁₀ copias/ml, respectivamente.

Resistencia cruzada

Una buena noticia es, sin duda, que al igual que sucedía en los estudios RESIST donde los pacientes que fallaban con TPV conservaban la sensibilidad fenotípica al DRV, en este caso sucede a la inversa. De esta manera en los POWER los pacientes que presentaban fallo a DRV (n = 39), tenían una mediana de aumento de más de 8 veces en el FC para el fármaco, pero sin embargo no aumentaba la mediana de FC para TPV y la mayoría de los aislados que basalmente eran sensibles al TPV (> 80%) lo seguían siendo en el momento del fallo a DRV⁸. Por lo tanto, ambos fármacos presentan una limitada resistencia cruzada que posibilita su secuenciación, tanto si se empieza por uno como por el otro (tabla 1).

De los IP clásicos no tiene mucho sentido hablar, dado que la mayoría de aislados del POWER eran ya resistentes a éstos en el basal.

Datos genotípicos

Mutaciones de la Internacional AIDS Society

Las mutaciones de la International AIDS Society (IAS), como en su día se pudo ver que sucedía con el TPV, tampoco son buenas predictoras de la respuesta virológica al DRV. Ambos fármacos conservan muy buena respuesta con muchas de estas mutaciones, puesto que gran parte de ellas tienen un escaso o nulo impacto, e inclusive algunas parecen producir hipersensibilidad in vitro. Además, con las sucesivas actualizaciones del listado IAS, lo que sucede es que se van incorporando las nuevas mutaciones descritas para los nuevos fármacos que en general producen una menor resistencia cruzada, por lo que si se va relacionando la actividad de un mismo fármaco, en este caso un IP, con los sucesivos listados parece artificiosamente que cada vez funciona con un mayor número de mutaciones.

De esta manera, si nos quedamos con el listado quizás más clásico del año 2005¹⁷, en el grupo de todos los pacientes de los estudios POWER con genotipo basal disponible (n = 374) la respuesta a DRV (< 50 copias/ml a la semana 24) no decrece paulatinamente con el aumento de estas mutaciones y tan sólo a partir de una cifra ≥ 14 mutacio-

nes se puede comprobar una respuesta disminuida (fig. 4), definida por una caída a $\leq 75\%$ de la repuesta global de los pacientes analizados (el 75% del 41,4% = 31,1%). De la misma manera, pero en fases iniciales de tratamiento, en el estudio TITAN se puede observar cómo, independientemente del número de mutaciones primarias basales presentes en la lista de la IAS-USA para la proteasa (de 0 a ≥ 3), la eficacia de DRV/r se mantiene constante tras 48 semanas, y no decae la eficacia en función del número de mutaciones basales, como se observa con el grupo de comparación con LPV/r.

Listado (score) de mutaciones a darunavir

El primer listado del año 2006 de las 11 mutaciones predictoras de respuesta a DRV (DRV score) se perfiló a partir del análisis de los pacientes de los POWER que no incluían ENF (n = 215) en su OBR, evaluando tanto las mutaciones del listado de la IAS como las identificadas por el modelo de regresión asociadas in vitro a altos FC para DRV, incluyéndose éstas siempre y cuando se observaran basalmente en al menos 10 pacientes⁸. Con esta aproximación y teniendo en cuenta la misma definición de respuesta disminuida $\leq 75\%$ en este subgrupo (el 75% del 43,7% = 32,8%), las 11 mutaciones identificadas fueron: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L, I54M, G73S, L76V, I84V y L89V (fig. 5). Cada una de éstas se asociaba a una mediana de al menos 10 mutaciones de la IAS y siempre la respuesta virológica al DRV era muy superior al IP control comparador.

Por su parte, de manera similar, en la actualización de 2007 del DRV score, en la definición de las mutaciones elegibles se tenían que cumplir, al menos, 2 de los siguientes criterios¹²: a) mutaciones asociadas a elevaciones de FC, pero sólo las presentes en > 50 aislados; b) en el grupo de pacientes que no llevaban ENF (n = 741), las mutaciones basales presentes en al menos 37 pacientes (5%) y asociadas a una respuesta disminuida de $\leq 75\%$ (el 75% del 39% = 29%), y c) mutaciones de la proteasa emergentes en $\geq 10\%$ de los fallos virológicos. De este modo se han identificado de nuevo 11 mutaciones que cumplen al menos 2 de los 3 criterios predefinidos: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V,

TABLA 1. Ausencia de resistencia fenotípica cruzada entre triptanavir (TPV) y darunavir (DRV)*

	Fármaco	N	Mediana basal FC	Mediana fallo FC	Mediana aumento
Estudios RESIST	TPV	15	1,6	69,6	43,50
	DRV	15	5,5	5,7	1,03
Estudios POWER	TPV	39	3,1	2,6	0,82
	DRV	39	12,6	91,1	8,14

FC: fold change o aumento del número de veces en la concentración efectiva del 50% (EC₅₀); N: número de pacientes con fallo virológico y estudio fenotípico.

*Evidenciada en sus respectivos ensayos de desarrollo RESIST y POWER.

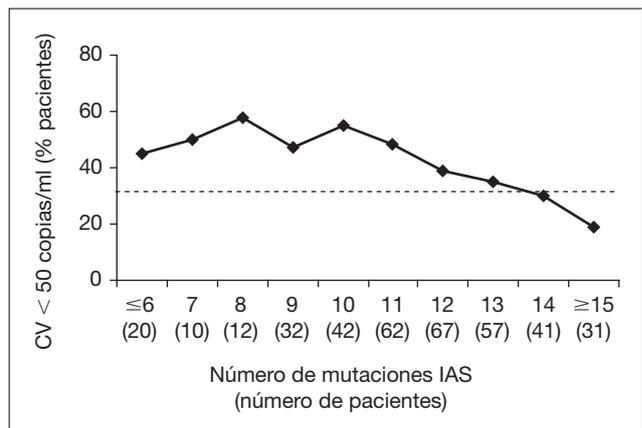
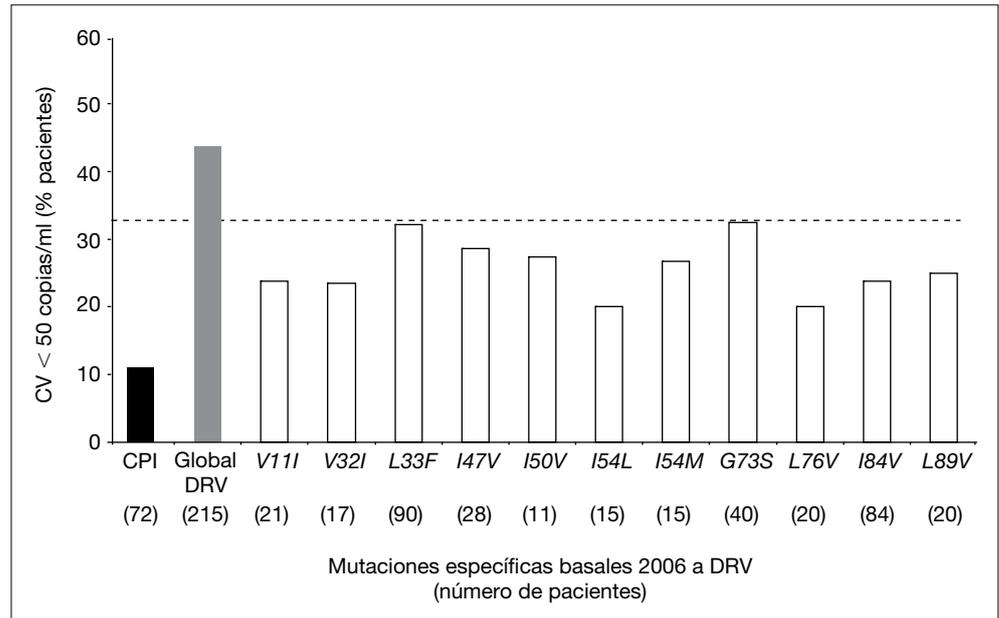


Figura 4. Relación entre la respuesta virológica a darunavir (DRV) en la semana 24 (análisis en intención de tratamiento con abandono = fallo) y el número de mutaciones basales de la International AIDS Society (IAS) en su listado clásico de 2005. La línea discontinua muestra el valor predefinido de respuesta disminuida: el 75% de la media de la respuesta global (el 75% del 41,4% = 31,1%). CV: carga viral.

Figura 5. Relación entre la respuesta virológica a darunavir (DRV) en la semana 24 (análisis en intención de tratamiento con abandono = fallo) y cada una de las mutaciones específicas del primer listado de resistencia al fármaco (DRV score 2006). Estudios POWER subgrupo sin enfuvirtide (ENF). La línea discontinua muestra el valor predefinido de respuesta disminuida en este subgrupo: el 75% de la media de la respuesta global (el 75% del 43,7% = 32,8%). CPI: inhibidor de la proteasa del brazo control; CV: carga viral.



I54L, I54M, T74P, L76V, I84V y L89V. La única diferencia entre ambos listados es la exclusión de la *G73S* y la incorporación de la *T74P* (fig. 6). Con ello se consigue que el número de mutaciones del DRV score de 2007 tenga una ligera mejora en la predicción de la respuesta, aunque el de 2006 sigue siendo significativamente predictivo de ésta.

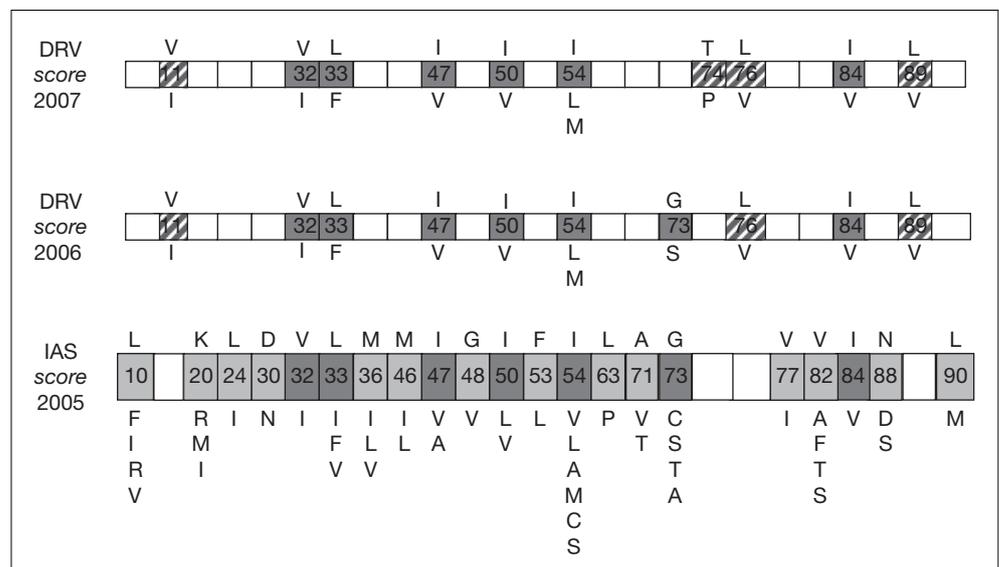
Como se puede ver una vez más, y al igual que ya sucedió con el TPV score¹⁸, es importante fijarse en la secuencia completa de la proteasa, puesto que siempre cuando se tiene un nuevo listado de mutaciones para un nuevo IP, varias de sus mutaciones no están incluidas en el listado de la IAS precedente (2005) como mutaciones de resistencia y se consideran como polimorfismos hasta ese momento; así, de las 11 mutaciones del primer DRV score, 3 de ellas lo eran: *V11I, L76V y L89V* (fig. 6), si bien, en ese momento la *L76V* sí que tenía ya datos reportados de disminución de sensibilidad e, inclusive, de hipersensibilidad en

varias comunicaciones a congresos^{19,20}. Con el nuevo DRV score 2007, la *T74P* también se consideraba polimorfismo en el listado IAS 2005, si bien ya se incorporó como mutación de resistencia para TPV en el listado IAS de 2006.

Al estudiar las mutaciones del primer DRV score en el total de pacientes de los POWER con genotipo basal y dosis de 600/100 bid (n = 374), se observó una respuesta disminuida cuando 3 o más de estas mutaciones estaban presentes en el basal. Asimismo sucede con la muestra más amplia ya referida de pacientes, incluyendo POWER y DUET (rama placebo), de los que no llevaban ENF en su OBR (n = 741). Además, en ambos casos, a diferencia de lo que sucedía con las mutaciones IAS, sí que se presenta una asociación entre disminución progresiva de la respuesta con la acumulación paulatina de mutaciones del score^{8,12} (fig. 7).

Sin embargo, es destacable en la práctica clínica diaria lo difícil que resulta encontrar muestras de pacientes con

Figura 6. Listados de mutaciones de resistencia al darunavir (DRV score 2006) con su actualización reciente (2007), frente al de resistencia a inhibidores de la proteasa (IP) de la International AIDS Society (IAS) previo al primer listado a DRV.



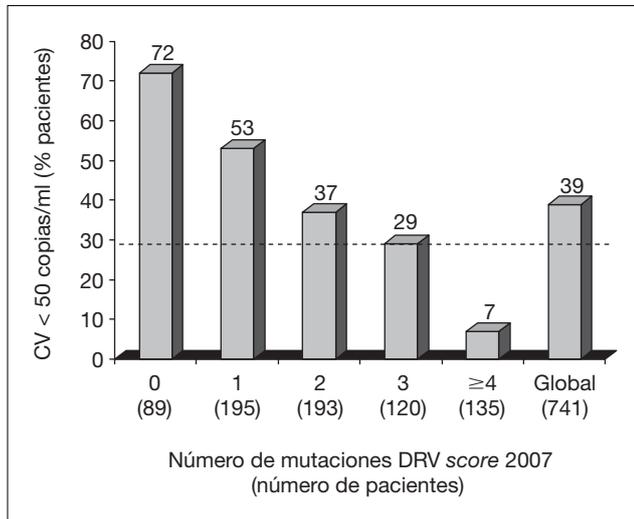


Figura 7. Relación entre la respuesta virológica a darunavir (DRV) en la semana 24 (análisis en intención de tratamiento censurando abandonos no debidos a fallo virológico) con el número de mutaciones específicas de resistencia al fármaco (DRV score 2007). Subgrupo sin enfuvirtide (ENF) de los estudios POWER y DUET rama placebo. La línea discontinua muestra el valor predefinido de respuesta disminuida: el 75% de la media de la respuesta global (el 75% del 39% = 29%). CV: carga viral.

varias mutaciones del DRV score. Así, referidas al primero de 2006, los pacientes de los estudios POWER, a pesar de contar con una amplia experiencia con múltiples tratamientos antirretrovirales presentaban en más de un 70% menos de 3 de estas mutaciones, cifra que incluso en una cohorte inglesa de pacientes con fallo a IP llega a ser de nada menos que un 98% con esa cifra menor de 3 mutaciones del listado²¹. Otras muchas veces sorprende que, a pesar de tener secuencias complejas de mutaciones en la proteasa, no haya ninguna de las mutaciones del DRV sco-

re, como sucede en hasta un 68% de las muestras con resistencia a IP de las enviadas rutinariamente a los laboratorios Virco²². Inclusive, recientemente hay datos similares ya con el DRV score 2007, encontrando cifras bajas, del 5-9%, para aislados con ≥ 3 mutaciones de entre las muestras con evidencia de resistencia a IP enviadas a Virco, demostrándose además que la prevalencia continúa estable después de la comercialización del fármaco²³.

Correlación genofenotípica

Analizando la relación entre el número de mutaciones del DRV score 2006 y el FC para el fármaco, englobando al total de los pacientes de los estudios POWER (n = 886), se comprueba una excelente correlación. Así, en ausencia de mutaciones del DRV score todos los aislados eran sensibles (FC < 10), con hasta 1-2 mutaciones la mayoría siguen siendo sensibles, con sólo 10-25% de los aislados con disminución de sensibilidad (FC > 10), con 3 mutaciones más de la mitad (54%) presenta FC > 10, y a partir de 6 mutaciones todos presentan FC > 40 (fig. 8). Y otra vez se obtienen resultados absolutamente superponibles con la muestra de los POWER y DUET (rama placebo) para los pacientes de los que se disponía de genotipo y fenotipo basales (n = 1.035), en este caso referidos al DRV score 2007.

Asimismo, se ha estudiado el peso fenotípico²⁴ de las diferentes mutaciones del DRV score 2006 (fig. 9), y la de mayor aumento del FC (> 4) es la I50V, seguida por la tripleta I54M, L76V y I84V (FC 3-4); después, con un FC de 2-3 las V32I, L33F y I47V, y, para finalmente, el resto (V11I, I54L, G73S, L89V) ser las de menor peso fenotípico (FC < 2). La nueva mutación T74P del nuevo score parece tener un peso ligeramente superior (FC de 2-3) a la anterior G73S.

Esta fuerte correlación genofenotípica nos permite calcular el fenotipo esperable y predecir la respuesta virológica prescindiendo de los datos fenotípicos reales, basando exclusivamente nuestra decisión de cambio de tratamiento antirretroviral en el test genotípico (fig. 3).

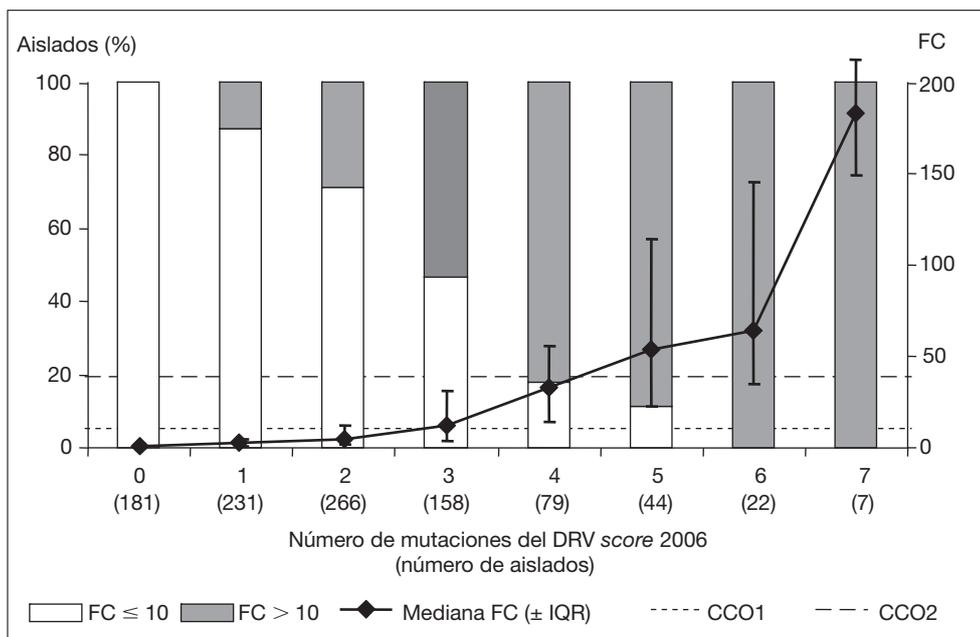


Figura 8. Relación entre el número de mutaciones específicas de resistencia a darunavir (DRV score 2006) y el fenotipo basal en el global de pacientes de los estudios POWER 1, 2 y 3 (n = 886). CCO1 y CCO2: puntos de corte clínicos fenotípicos de disminución (FC > 10) y pérdida de sensibilidad (FC > 40), respectivamente; FC: fold change o aumento del número de veces en la concentración efectiva del 50% (EC₅₀); IQR: rango intercuartílico.

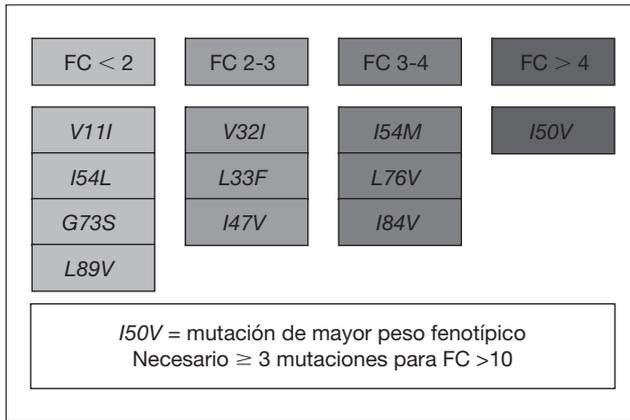


Figura 9. Estimación de la resistencia fenotípica a darunavir (DRV) según el número de mutaciones del primer listado de resistencia al fármaco (DRV score 2006) con su diferente peso fenotípico. FC: *fold change* o aumento del número de veces en la concentración efectiva del 50% (EC₅₀).

Mutaciones seleccionadas al fallo a darunavir

En la muestra inicial de los pacientes multiresistentes de los estudios POWER (n = 458), los aislados con fallo virológico seleccionan de manera predominante (≥ 10% pacientes) 5 mutaciones en la proteasa no presentes en el basal: V32I, L33F, I47V, I54L y L89V. Las 2 más frecuentes son la V32I y la I54L, ambas con una frecuencia > 20%. Como vemos todas ellas son mutaciones que forman parte del score a DRV⁸.

Ampliando el estudio con la muestra conjunta de los pacientes de los estudios POWER y DUET rama placebo (n = 1.071), las mutaciones más frecuentes emergentes al fallo (también en ≥ 10% pacientes) son bastante similares, y la pareja V32I y I54L es la de mayor frecuencia, seguida por la L89V y L33F. Sin embargo, en este caso no está presente la I47V, mientras que si lo están la V11I y I50V de entre las mutaciones del DRV score. Finalmente, como mutaciones menos frecuentes están la I13V y la F53L, ambas fuera del DRV score¹².

Muy interesante es ver las mutaciones generadas al fallo en pacientes con un menor nivel de resistencia⁶, concretamente los del estudio TITAN, donde destaca la selección prácticamente de las mismas mutaciones que las apuntadas, pero como era de esperar en mucha menor cuantía. Así, de los pocos pacientes con fracaso virológico (n = 31) en la rama de DRV (n = 298) tan sólo 6 acumulaban mutaciones primarias en la proteasa, la más frecuente fue la V32I, seguida de la I47V, L76V y I54L, todas ellas mutaciones del DRV score. Tan sólo en un paciente se seleccionó la L90M no presente en el basal como mutación primaria fuera del score, aunque quizá la podía tener previamente como mutación minoritaria. Comparativamente, la rama de LPV presentaba más del doble de fracasos virológicos, más del triple de selección de mutaciones primarias en la proteasa, además cualitativamente con mayor nivel de resistencia cruzada fenotípica al resto de IP y, por último, también más del triple de mutaciones en la transcriptasa. Asimismo, es destacable que los pacientes que

seleccionaban mutaciones en la rama del DRV habían sido más pretratados con 2 o más esquemas previos de IP, mientras en la rama del LPV la mitad de los pacientes que acumulan mutaciones primarias en su proteasa tan sólo habían sido tratados previamente con 1 IP²⁵ (tabla 2).

Por último, el estudio descriptivo de las mutaciones en el fallo de los pacientes *naïve* que llevaban DRV (ARTEMIS) confirma, como sucede con el resto de IP potenciados (IP/r), que como efecto de grupo está la no aparición de mutación relevantes en la proteasa y muy pocas en la transcriptasa, pero inclusive con ligeras diferencias favorables a DRV, al menos en su comparativa con el LPV. Concretamente en este estudio y fijándonos en la rama de DRV, tan sólo un paciente desarrolló la M184V en la transcriptasa y ninguno seleccionó mutaciones IAS en la proteasa. Por su parte, la rama de LPV también presentó muy pocas mutaciones, con tan sólo 2 pacientes con la M184V en la transcriptasa y un único paciente seleccionó la A71T y V77I como mutaciones de poca entidad en su proteasa⁷ (tabla 3).

TABLA 2. Estudio TITAN*. Subanálisis de resistencias

Pacientes con	DRV/r (n = 298)	LPV/r (n = 297)
Fallo virológico (> 400 copias/ml)	31	65
Nuevas mutaciones	28	56
Mutaciones primarias IP	6	20
Desglose mutaciones primarias IP (número de pacientes)	32I (3), 47V (2), 76V (2), 54L (1) y 90M (1)	46I/L (10), 47A/V (4), 76V (4), 33F (2), 82A (2), 84V (2), 32I (1), 50V (1) y 54M (1)
Mutaciones primarias RT	4	15

DRV/r: darunavir potenciado con ritonavir; IP: inhibidores de la proteasa; LPV/r: lopinavir potenciado con ritonavir; RT: retrotranscriptasa.

*Estudio TITAN: eficacia comparativa de DRV/r frente a LPV/r en pacientes con experiencia previa, pero *naïve* a LPV.

TABLA 3. Estudio ARTEMIS^a. Análisis de los fallos virológicos (FV) con la emergencia de mutaciones de la Internacional AIDS Society (IAS)

	DRV/r (n = 343)	LPV/r qd o bid (n = 346)
FV > 50 copias/ml	34 (10%)	49 (14%)
FV > 400 copias/ml	11 (3%)	18 (5%)
Aislados con FV y genotipo basal-fallo	10	18
Mutaciones IAS IP	0	1 ^b
Mutaciones IAS RT	1 ^c	2 ^c

bid: dos veces al día; DRV/r: darunavir potenciado con ritonavir; IP: inhibidores de la proteasa; LPV/r: lopinavir potenciado con ritonavir; qd: una vez al día; RT: retrotranscriptasa.

^aEstudio ARTEMIS: eficacia comparativa en pacientes *naïve* de DRV/r qd frente a LPV/r qd o bid.

^bI84V.

^cA71T, V77I.

Datos *in vitro* de mutagénesis dirigida

Los datos *in vitro* de cepas mutantes salvajes (*wild-type*) de VIH con cada una de las 5 mutaciones emergentes en los fallos virológicos a DRV de los estudios POWER que hemos apuntado como más frecuentes (*V32I*, *L33F*, *I47V*, *I54L* y *L89V*) e inclusive con las 5 juntas, son sorprendidos y muy reveladores puesto que tanto unitariamente como conjuntamente no se asocian a disminución de sensibilidad al DRV, y todas presentan un FC < 10. Inclusive, estas cepas mutantes junto con 1 o 2 mutaciones IAS tampoco afectan fenotípicamente al DRV. Lógicamente, estos hallazgos son muy sugerentes de la necesidad de un alto número de mutaciones IAS junto a varias del DRV *score* para tener un impacto negativo en la sensibilidad al fármaco, al igual que sucede *in vivo*, como se ha visto en los múltiples estudios reseñados y varias cohortes de pacientes^{8,12,21}.

Por otra parte, es interesante destacar la lentitud y extraordinaria dificultad *in vitro* en la aparición de resistencia al DRV, muy superior a cualquiera del resto de IP, TPV incluido. Así, tras 327 pases y nada menos que 1.155 días de cultivo, se seleccionan virus que muestran una resistencia fenotípica con un FC > 10. Las 2 mutaciones que más se seleccionan *in vitro*, ambas lejos del sitio activo de la proteasa, *R41T* y *K70E*, son raras y no se observan *in vivo*, y al construir mutantes que las incorporan unitaria o conjuntamente tampoco presentan disminución de sensibilidad al DRV¹³ (fig. 10).

vivo, y al construir mutantes que las incorporan unitaria o conjuntamente tampoco presentan disminución de sensibilidad al DRV¹³ (fig. 10).

Conclusiones (tabla 4)

Actualmente, siempre con la perspectiva dinámica de posibles revisiones futuras que puedan aportar nuevos estudios, todos tenemos muy clara la predicción de resistencia a DRV gracias al análisis conjunto, por una parte, de los 3 estudios POWER, más concretamente del grupo de los pacientes que llevaban desde el inicio la dosis posteriormente aprobada para el fármaco con dosis bajas de RTV (600/100 bid) y, por otra, ampliando el análisis con la rama de placebo sin ETR de los 2 estudios DUET. Como casi siempre, cotejando los datos basales geno y fenotípicos con la respuesta virológica a las 24 semanas.

Los 2 claros indicadores pronósticos de la respuesta virológica al DRV son: por una parte, el fenotipo basal y, por otra, el listado de mutaciones específico de resistencia al fármaco (DRV *score*). Y puesto que en la práctica clínica diaria no se suele disponer de datos fenotípicos directos, será realmente el *score* la pieza clave para decidir cuándo un paciente es un buen candidato al DRV. Además, afortunadamente hay una muy buena correlación entre ambos

TABLA 4. Resistencia a darunavir (DRV). Puntos destacables*

Predicción de resistencia	Genotípica Fenotípica	≥ 3 mutaciones DRV <i>score</i> 2006 o 2007 (asociada a ≥ 10 mutaciones IAS) FC > 10: disminución de respuesta; FC > 40: pérdida de respuesta
Mutaciones emergentes más frecuentes	Pacientes pretratados Pacientes <i>naïve</i>	Habitualmente del DRV <i>score</i> , sobre todo <i>V32I</i> e <i>I54L</i> Ninguna
Buena correlación genofenotípica		≥ 3 mutaciones DRV <i>score</i> con FC > 10
No predicen resistencia DRV		Mutaciones listado IAS

FC: *fold change* o aumento del número de veces en la concentración efectiva del 50% (EC₅₀); IAS: Internacional AIDS Society.

*DRV *score* 2007: *V11I*, *V32I*, *L33F*, *I47V*, *I50V*, *I54L*, *I54M*, *T74P*, *L76V*, *I84V* y *L89V*; DRV *score* 2006: mismas mutaciones que en 2007 sin la *T74P* y con la *G73S*.

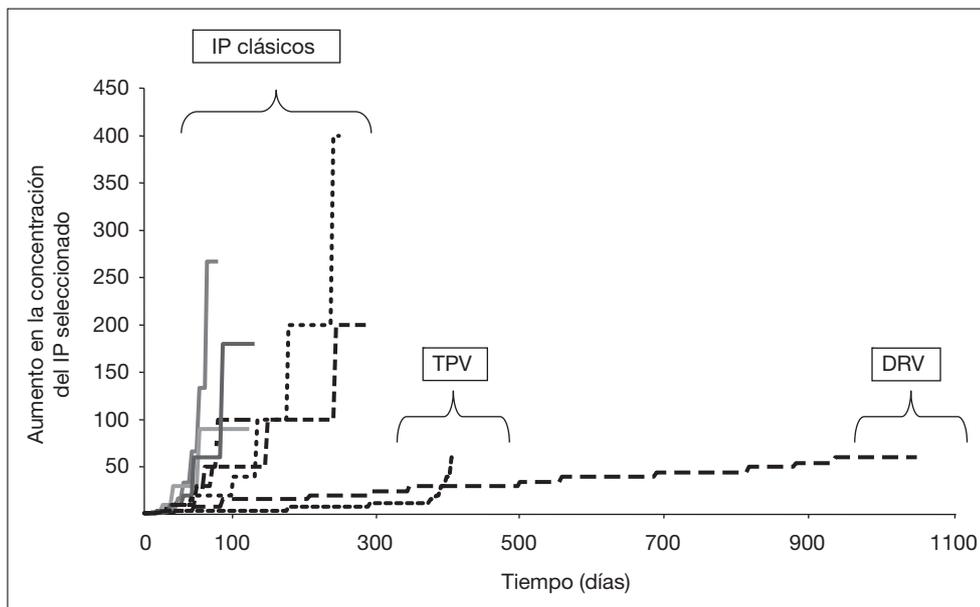


Figura 10. El darunavir (DRV) presenta la mayor barrera genética de resistencia *in vitro*, muy superior a los inhibidores de la proteasa (IP) clásicos e inclusive al tipranavir (TPV).

y con el perfil genotípico es perfectamente posible predecir tanto el fenotipo como la respuesta virológica.

Con respecto al fenotipo basal al DRV, se han determinado 2 puntos de corte clínicos en 10 y 40 de FC como disminución y pérdida de sensibilidad, respectivamente. La alta barrera genética del fármaco hace que, a pesar de tener pacientes multirresistentes como por ejemplo los de los estudios POWER, la frecuencia de observar un FC > 40 sea mínima (13%), siendo inclusive mayoritariamente casi todos sensibles (FC < 10 en aproximadamente un 70% de los aislados).

Por su parte, del DRV *score* se dispone, por así decirlo, de 2 versiones, la primera de 2006 extrapolada del estudio combinado de los POWER, con un listado de 11 mutaciones en 10 posiciones: *V11I*, *V32I*, *L33F*, *I47V*, *I50V*, *I54L*, *I54M*, *G73S*, *L76V*, *I84V* y *L89V*, y la reciente actualización de 2007 con ligeras modificaciones del anterior: pérdida de la mutación *G73S* e incorporación de la *T74P* al listado. Con ambas versiones, es a partir de 3 o más mutaciones cuando la respuesta virológica empieza a estar comprometida y siempre en el contexto añadido de múltiples mutaciones de la IAS en la proteasa (mediana ≥ 10), lógicamente la actualización del *score* de 2007, que se basa en una muestra mucho más amplia al incorporar la rama placebo de los DUEET, tiene una capacidad predictiva de la respuesta virológica ligeramente mejor. Afortunadamente, de nuevo resulta muy infrecuente encontrar aislados portadores de ≥ 3 mutaciones del *score* y por ello también más de un 70% de pacientes en los estudios POWER tenía una cifra menor de mutaciones del listado.

La descripción de las mutaciones emergentes seleccionadas en los fallos a DRV es muy interesante. Por una parte, en los pacientes multirresistentes de los estudios POWER y DUEET mayoritariamente se seleccionan mutaciones del *score*, sobre todo la pareja *V32I* e *I54L*, seguidas fundamentalmente por la *L89V*, *L33F*, *I50V* y *V11I*. Comparativamente, en los pacientes del estudio TITAN con un menor nivel de resistencia basal, se siguen seleccionando mutaciones similares también del *score*, pero en mucha menor cuantía en los pocos fallos virológicos descritos, muchos menos fallos y menos mutaciones que la rama comparativa de LPV. Finalmente, en el estudio ARTEMIS de pacientes *naïve* no aparece ninguna mutación en la proteasa en los fracasos de la rama de DRV, efecto conocido de grupo de los IP/r, pero también más acentuado en este caso para el DRV con respecto al LPV.

Los datos *in vitro* demuestran la lentitud y rareza de selección de mutaciones para conseguir disminución de sensibilidad fenotípica al DRV, configurándose claramente como el fármaco de mayor barrera genética de los IP disponibles actualmente. Por otra parte, en su día fueron clarificadores los datos de mutagénesis dirigida con mutantes que incorporaban las mutaciones seleccionadas en los fallos de los estudios POWER, tanto unitaria como conjuntamente, e inclusive con 1-2 mutaciones IAS sin conseguir disminución del FC para DRV. Todo ello es una buena muestra de lo que pasa *in vivo* al requerirse el añadido de múltiples mutaciones de la IAS concomitantes en la proteasa para condicionar resistencia al fármaco.

Para concluir, comentar que aun a pesar de un perfil de resistencia claramente desfavorable a DRV, puede ser bastante probable que éste siga siendo el mejor IP posible, desde luego prácticamente seguro con respecto a los IP clásicos,

como demuestran claramente los estudios POWER y quizás tan sólo con la duda razonable de si puede estar más respetado en ese caso particular el TPV. Como siempre ha ocurrido en la ya amplia historia de tratamiento antirretroviral, y máxime en una segunda revolución como la que estamos viviendo actualmente, nuestro esfuerzo futuro debería ser ir reubicando el fármaco en el momento ideal de máxima eficacia para nuestros pacientes con el acompañamiento de suficientes fármacos activos para el mantenimiento de la respuesta óptima en el tiempo.

Declaración de conflicto de intereses

El autor ha declarado no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. King NM, Prabu-Jeyabalan M, Nalivaika EA, Wigerinck P, De Béthune MP, Schiffer CA. Structural and thermodynamic basis for the binding of TMC114, a next-generation HIV type 1 protease inhibitor. *J Virol*. 2004;78:2012-21.
2. Tie Y, Boross PI, Wang YF, Gaddis L, Hussain AK, Leshchenko S, et al. High resolution crystal structures of HIV-1 protease with a potent non-peptide inhibitor (UIC-94017) active against multi-drug-resistant clinical strains. *J Mol Biol*. 2004;338:341-52.
3. Kantor R, Fessel J, Zolopa AR, Israelski D, Shulman N, Montoya JG, et al. Evolution of primary protease inhibitor resistance mutations during protease inhibitor salvage therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1086-92.
4. Delaunay C, Mathez D, Peytavin G, Berthé H, Long K, Galperine T, et al. Key darunavir resistance mutations counteract dramatic efficacy of darunavir in highly experienced patients. *AIDS*. 2007;21:1210-3.
5. De Meyer S, Cao-Van K, Lathouwers E, Vangeneugden T, De Béthune MP. Phenotypic and genotypic profiling of TMC114, lopinavir and tipranavir against PI-resistant HIV-1 clinical isolates. 4th European HIV Drug Resistance Workshop. Montecarlo, 2006, March 29-31 [abstract 42].
6. Madruga JV, Berger D, McMurchie M, Suter F, Banhegyi D, Ruxrungtham K, et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir compared with that of lopinavir-ritonavir at 48 weeks in treatment-experienced, HIV-infected patients in TITAN: a randomised controlled phase III trial. *Lancet*. 2007;370:49-58.
7. Ortiz R, DeJesus E, Khanlou H, Voronin E, Van Lunzen J, Andrade-Villanueva J, et al. Efficacy and safety of darunavir/ritonavir versus lopinavir/ritonavir in treatment-naïve HIV-1 infected patients at week 48. *AIDS*. 2008;22:1389-97.
8. De Meyer S, Vangeneugden T, Van Baelen B, De Paep E, Van Marck H, Picchio G, et al. Resistance Profile of Darunavir: Combined 24-Week Results from the POWER Trials. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008;24:379-88.
9. Katlama C, Espósito R, Gatell JM, Goffard JC, Grinsztejn B, Pozniak A, et al. Efficacy and safety of TMC114/ritonavir in treatment-experienced HIV patients: 24-week results of POWER 1. *AIDS*. 2007;21:395-402.
10. Haubrich R, Berger D, Chialde P, Colson A, Conant M, Gallant J, et al. Week 24 efficacy and safety of TMC114/ritonavir in treatment-experienced HIV patients: POWER 2. *AIDS*. 2007;21:F11-8.
11. Molina JM, Cohen C, Katlama C, Grinsztejn B, Timmerman A, Pedro Rde J, et al. Safety and efficacy of darunavir (TMC114) with low-dose ritonavir in treatment-experienced patients: 24-week results of POWER 3. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;46:24-31.
12. De Meyer S, Dierynck I, Lathouwers E, Van Baelen B, Vangeneugden T, Spinosa-Guzmán S, et al. Identification of mutations predictive of a diminished response to darunavir/ritonavir: analysis of data from treatment-experienced patients in POWER 1, 2, 3 and DUEET-1 and DUEET-2. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 2008, March 26-28 [abstract 54].
13. De Meyer S, Azijn H, Fransens E, De Baere I, Van Ginderen M, Maes B, et al. The pathway leading to TMC 114 resistance is different for TMC114 compared with other protease inhibitors. 15th International Drug Resistance Workshop. Sitges, 2006, June 13-17 [abstract 19].
14. De Meyer S, Azijn H, Surleraux D, Jochmans D, Tahri A, Pauwels R, et al. TMC114, a novel human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor active against protease inhibitor-resistant viruses, including a broad range of clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:2314-21.
15. Food and Drug Administration (FDA), Division of Antiviral Drug Products. Guidance for industry. Antiretroviral drugs using plasma HIV RNA measu-

- rements: clinical considerations for accelerated and traditional approval. Prepared by the Office of Drug Evaluation IV in the Centre for Drug Evaluation and Research (CDER), Appendix B; October 2002 [accedido, 22 Dic 2006]. Disponible en: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>
16. Winters B, Vermeiren H, Van Craenenbroeck E, Lecocq P, Vangeneugden T, De Béthune MP, et al. Development of VircoTYPE resistance analysis, including clinical cut-offs for TMC 114. 15th International Drug Resistance Workshop. Sitges, 2006, June 13-17 [abstract 160].
 17. Johnson VA, Brun-Vezinet F, Clotet B, Conway B, Kuritzkes DR, Pillay D, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Fall 2005. *Top HIV Med.* 2005;13:125-31.
 18. Baxter JD, Schapiro JM, Boucher CA, Kohlbrenner VM, Hall DB, Scherer JR, et al. Genotypic changes in human immunodeficiency virus type 1 protease associated with reduced susceptibility and virologic response to the protease inhibitor tipranavir. *J Virol.* 2006;80:10794-801.
 19. Mueller SM, Daeumer M, Kaiser R, Walter H, Colonna R, Korn K. Susceptibility to saquinavir and atazanavir in highly protease inhibitor (PI) resistant HIV-1 is caused by lopinavir-induced drug resistance mutation L76V. 13th International Drug Resistance Workshop. Tenerife, 2004, June 8-12 [abstract 38].
 20. Van den Borgh K, Vermeiren H, Lecocq P, Pattery T, Alen P, Bacheler L, et al. The effects of the 76V mutation protease-inhibitor (PI) susceptibility are PI- and context-specific. 16th International AIDS Conference. Toronto, 2006, August 13-18 [abstract THPE0038].
 21. Loveday C, MacRae E; on behalf of the ICVC Clinical Collaborative Research Group. Susceptibility of a protease inhibitor (PI) treatment-experienced UK clinical cohort to TMC114. 8th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection. Glasgow, 2006, November 12-16 [abstract PL2.2].
 22. Rinehart AR, Picchio G, De Béthune MP, Bacheler LT, Pattery T, Waszkowski B, et al. Prevalence of darunavir-associated mutations in samples received for routine clinical resistance testing. *Frontiers in Drug Development for Antiretroviral therapies.* Cancun, 2006, December 10-14 [abstract 16].
 23. Lathouwers E, De Meyer S, Dierynck I, Van Der Borgh K, Bacheler LT, Pattery T, et al. Update on the prevalence of the 2007 darunavir resistance-associated mutations in samples received for routine clinical resistance testing 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 2008, March 26-28 [abstract 68].
 24. De Meyer S, Vangeneugden T, Lefebvre E, Azijn H, De Baere I, Van Baelen B, et al. Phenotypic and genotypic determinants of resistance to TMC114: Pooled analysis of POWER 1, 2 and 3. 15th International Drug Resistance Workshop. Sitges, 2006, June 13-17 [abstract 73].
 25. De Meyer S, Lathouwers E, Dierynck I, De Paep E, Van Baelen B, Vangeneugden T, et al. Characterization of virologic failures on darunavir/ritonavir in the randomized, controlled, Phase III TITAN trial in treatment-experienced patients. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008, February 3-6 [abstract 874].