

# Resistencia a los inhibidores de la integrasa

Carolina Garrido, Carmen de Mendoza y Vicente Soriano

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España.

**Los inhibidores de la integrasa son la familia de antirretrovirales más recientemente aprobada para el tratamiento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Al igual que sucede con el resto de los antirretrovirales, bajo presión farmacológica el virus selecciona mutaciones de resistencia si la supresión viral no es completa. Se seleccionan mutaciones en el gen de la integrasa, concretamente en posiciones próximas al centro catalítico. La experiencia clínica con estos fármacos es escasa, de modo que la información sobre resistencias es limitada. Los fracasos a raltegravir se asocian a selección de mutaciones primarias como N155H (40%) y diferentes cambios en la posición Q148 (28%). Con menor frecuencia se seleccionan Y143R (6,6%) y E92Q. Las mutaciones más frecuentemente observadas en los fracasos a elvitegravir son E92Q, E138K, Q148R/K/H y N155H, y con menor frecuencia S147G y T66A/I/K. El patrón de resistencias más común parece ser E138K + E147G + Q148R. Hay un alto grado de resistencia cruzada entre raltegravir y elvitegravir que imposibilitará la secuenciación entre ellos.**

**Palabras clave:** Raltegravir. Resistencia. Integrasa. VIH.

Resistance to integrase inhibitors

**Integrase inhibitors are the most recently approved family of antiretroviral agents for the treatment of HIV infection. As with other antiretroviral agents, under pharmacological pressure, the virus selects resistance mutations if viral suppression is incomplete. Mutations are selected in the integrase gene, specifically in positions proximal to the catalytic center. Because clinical experience with these drugs is scarce, information on resistance is limited. Virologic failure with raltegravir is associated with selection of primary mutations such as N155H (40%) and distinct changes in position Q148 (28%). Less frequently, Y143R (6.6%) and E92Q are selected. The most frequently observed mutations in failure with elvitegravir are E92Q, E138K, Q148R/K/H and N155H, and less frequently S147G**

**and T66A/I/K. The most common resistance pattern seems to be E138K + E147G + Q148R. There is a high grade of cross resistance between raltegravir and elvitegravir, making sequencing between these two drugs impossible.**

**Key words:** Raltegravir. Resistance. Integrase. HIV.

## Introducción

Desde que en 1996 se introdujo el tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA), hemos asistido a una espectacular disminución en la progresión a sida y a un aumento de la supervivencia de los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Sin embargo, estos beneficios pueden verse comprometidos por la pérdida de susceptibilidad a los antirretrovirales<sup>1</sup>. La resistencia es consecuencia del desarrollo de mutaciones que aparecen en los genes del VIH que codifican las proteínas virales que son la diana de los antirretrovirales. Como resultado, se produce una pérdida total o parcial de la actividad del inhibidor. La realidad es que alrededor del 50% de los pacientes que están tomando tratamiento antirretroviral y que presentan viremia detectable tienen virus con mutaciones de resistencia, al menos, a una familia de fármacos<sup>2</sup>. Los demás generalmente no toman la medicación y el problema es de cumplimiento. Puesto que los virus con mutaciones de resistencia a menudo son resistentes a más de un fármaco, y dado que el grado de resistencia cruzada dentro de una misma familia es elevado<sup>3</sup>, la aparición de resistencias compromete la respuesta a bastantes opciones futuras de tratamiento. Basta recordar que hasta hace poco tiempo sólo había 3 familias de antirretrovirales (inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos [ITIAN], inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos [ITINAN] e inhibidores de la proteasa [IP]). Esta circunstancia ha estimulado el desarrollo de nuevas familias de antirretrovirales y en el momento actual están ya disponibles varios inhibidores de la entrada (enfuvirtida y maraviroc) y al menos un inhibidor de la integrasa (raltegravir)<sup>4</sup>.

La experiencia clínica con los inhibidores de la integrasa es escasa, de modo que la información sobre resistencias es limitada. Hasta la fecha disponemos de 2 inhibidores de la integrasa, raltegravir (MK-0518, Isentress<sup>TM</sup>, Merck) y elvitegravir (GS-9137, Gilead). Para raltegravir, la información deriva de los ensayos clínicos de registro llevados a cabo por Merck. Se trata de un estudio de fase II en pacientes con multifracasos (protocolo 005)<sup>5</sup>, un estudio de fase II en pacientes *naïve* (protocolo 004)<sup>6</sup> y 2 estudios de fase III en pacientes con multifracasos (BENCHMRK-1 y 2)<sup>7,8</sup>. Además, se ha comunicado en diversos foros la expe-

Correspondencia: Dr. V. Soriano.  
Hospital Carlos III.  
Sinesio Delgado, 10. 28029 Madrid. España.  
Correo electrónico: vsoriano@dragonet.es

riencia en los pacientes que entraron en el programa de acceso expandido del fármaco<sup>9-11</sup>.

Respecto a elvitegravir, la información es todavía más escasa. Los datos sobre resistencias prácticamente se limitan a los pacientes con fracaso de este fármaco en un ensayo clínico de fase II (GS-US-183-0105)<sup>12</sup>.

A pesar de la escasa experiencia clínica, se conocen diversos aspectos de la resistencia a esta nueva clase de fármacos gracias a los ensayos *in vitro*, que proporcionan información sobre la dinámica de selección de mutaciones, el peso específico de cada mutación en la susceptibilidad a los fármacos y el impacto en la capacidad replicativa del virus. En el presente capítulo se revisa en detalle la información disponible sobre resistencias a los inhibidores de la integrasa, con un especial énfasis en su implicación clínica.

## Resistencias a raltegravir

La integrasa del VIH es una enzima formada por 288 aminoácidos. Está codificada por el gen *pol* al igual que la transcriptasa inversa (RT) y la proteasa. El raltegravir es una carboxamida pirimidínica que inhibe la integrasa uniéndose a iones metálicos en el sitio activo<sup>13</sup>. Actúa en la fase final del proceso de integración bloqueando la transferencia de cadena del ADN viral al ADN celular. Las mutaciones que hasta la fecha se han descrito como causales de pérdida de susceptibilidad al raltegravir se encuentran fundamentalmente próximas al centro catalítico de la enzima, entre las posiciones 64 y 157 (fig. 1). Las posiciones D64, D116 y E152, que dan nombre al motivo DDE dentro del centro catalítico de la integrasa y son clave en la actividad enzimática, no se modifican por la presión ejercida por los inhibidores de la integrasa.

Los resultados observados *in vivo*, tanto en los ensayos clínicos en fase II como en los estudios BENCHMRCK y en los accesos expandidos de raltegravir, han confirmado la selección de mutaciones de resistencia en las posiciones descritas en los ensayos *in vitro*.

### Resistencias en los ensayos clínicos con raltegravir

Los estudios BENCHMRK-1 y 2 son los ensayos clínicos de fase III que han proporcionado mayor información sobre las posibles vías de resistencia al raltegravir<sup>7,8</sup>. Tras

48 semanas de tratamiento con raltegravir en combinación con una terapia optimizada en pacientes multitratados, un total de 98 (21%) mostraron fracaso virológico. De ellos, se obtuvo información genotípica en 94. Los cambios en la integrasa en estos pacientes se recogen en la tabla 1. Los resultados muestran que la resistencia a raltegravir se produce principalmente por 2 vías: *a*) selección de una histidina (H) en la posición 155 (40% de los pacientes en fracaso), y *b*) selección de diversas mutaciones en la posición 148 (29%). Los cambios en la posición 143, aunque mucho menos frecuentes, podrían ser una tercera vía de resistencias al raltegravir (6%). Uno de los aspectos más destacados de los resultados obtenidos en los ensayos BENCHMRK fue que aproximadamente 1 (23%) de cada 4 pacientes con fracaso virológico no desarrolló mutaciones de resistencia en la integrasa. La falta de cumplimiento, las concentraciones plasmáticas insuficientes del fármaco o bien la insuficiente potencia de los fármacos acompañantes podrían justificar esta observación.

El estudio en fase II de raltegravir en pacientes con mult fracasos (protocolo 005)<sup>5</sup> presentó datos de resistencia similares a las 24 semanas. Se observaron 38 (28,6%) fracasos en los 133 pacientes tratados. Se identificaron mutaciones en el gen de la integrasa en 35 pacientes, 14 de ellos desarrollaron la mutación 155H, 20 seleccionaron cambios en la posición 148 y 1 desarrolló la mutación 143R.

Cuando se sigue de forma longitudinal a los sujetos que han seleccionado la mutación N155H de forma aislada, al continuar la presión farmacológica se seleccionan gradualmente otras mutaciones que incrementan el grado de resistencia al fármaco. Estas mutaciones secundarias son varias: L74M, E92Q, T97A, Y143H, G163K/R, V151I y D232N. No se define un patrón predominante. Por el contrario, en los pacientes que desarrollan resistencia a raltegravir seleccionando cambios en la posición 148, sí que existe un patrón de resistencias predominante: Q148H + G140S. En el estudio 005, este patrón estuvo en 13 de los 20 pacientes que mutaron la posición 148.

El impacto en la susceptibilidad a raltegravir de estas mutaciones en ensayos *in vitro* muestra que tanto N155H como los cambios en la posición 148 reducen significativamente (más de 10 veces) la sensibilidad al fármaco. El grado de resistencia se ve muy aumentado en presencia de mutaciones secundarias. El grado de resistencia alcanzado por el patrón 148H/K/R y mutaciones acompañantes es mucho ma-

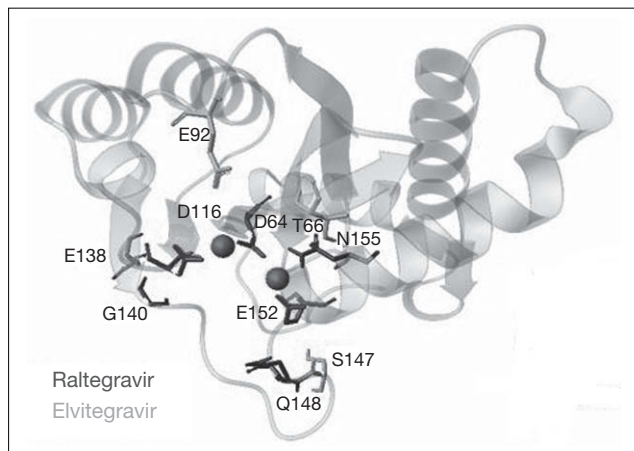


Figura 1. Mutaciones asociadas a resistencia a los inhibidores de la integrasa.

TABLA 1. Datos integrados de 94/98 fracasos virológicos de los ensayos BENCHMRK-1 y 2.

Patrones de mutaciones	Pacientes, n (%)
Con mutaciones en 148/155	57 (60,6)
Con mutaciones en 148	27 (28,7)
Con mutaciones en 155	38 (40,4)
Sin mutaciones en 148/155	37 (39,4)
Con mutaciones en 143	6 (6,4)
Con otras mutaciones descritas	1 (1,1)
Con otras mutaciones	8 (8,5)
Sin cambios significativos desde muestra basal	22 (23,4)

yor que el ocasionado por los cambios asociados a N155H5. Los mayores grados de resistencia se producen cuando cambios en la posición 148 están acompañados por cambios en la posición 140 (Q148H+G140S, Q148K+E138A+G140A, Q148R+G140S), y se alcanzan incrementos de la concentración inhibitoria del 50% de hasta 500 veces (fig. 2).

En el estudio de fase II en pacientes *naïve* (protocolo 004)<sup>6</sup>, 5 (3%) de los 160 pacientes tratados con distintas dosis de raltegravir presentaron fracaso virológico en la semana 48. De estos 5 pacientes sólo 2 presentaron cambios en el gen de la integrasa, seleccionando ambos la mutación N155H. Uno de estos 2 pacientes continuó en tratamiento con raltegravir y se pudo reconocer cierto grado de actividad antiviral pese a la resistencia a todos los fármacos incluidos en la combinación.

De los ensayos clínicos llevados a cabo por Merck podemos concluir que la resistencia a raltegravir se asocia con la selección preferente de 2 mutaciones, que se acompañarán de otras mutaciones secundarias y que entre sí parecen ser excluyentes: N155H y Q148R/H/K. El patrón del cambio 148 es más frecuente y causa un grado de resistencia mayor, sobre todo cuando aparece acompañado de la mutación en el codón 140. Este patrón es el que aparece con mayor frecuencia.

**Resistencias en los accesos expandidos de raltegravir**

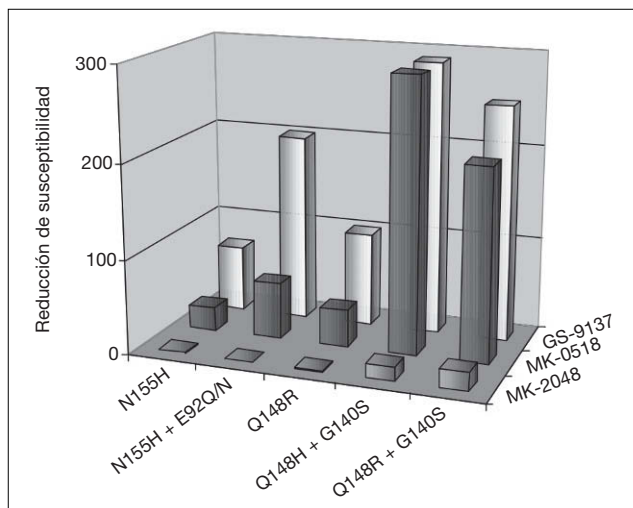
Además de la experiencia en los ensayos clínicos, recientemente han empezado a comunicarse resultados de resistencias en pacientes incluidos en los programas de acceso expandido de raltegravir en diferentes países. El primer estudio de estas características analizó a 9 pacientes con multifracasos en Francia que recibieron raltegravir 400 mg/12 h junto con una terapia optimizada, a pesar de lo cual experimentaron fracaso virológico. Se observó la selección de 4 patrones de resistencia diferentes: E92Q, N155H (4 pacientes), E157Q y Q148H+G140S. La susceptibilidad *in vitro* a raltegravir de los virus con estos patrones mostró un incremento de la concentración inhibitoria media [CI<sub>50</sub>] de 7-14 veces. El mutante E157Q no pudo probarse debido a que la actividad de la integrasa mutada estaba

muy mermada e impedía llevar a cabo un ensayo de susceptibilidad<sup>9</sup>. Sin embargo, en otro estudio la mutación E157Q en un clon de un paciente *naïve* para inhibidores de la integrasa, fenotípicamente no comprometió la sensibilidad al fármaco (pérdida de sensibilidad a raltegravir de 1,14 veces)<sup>14</sup>.

En otro estudio del acceso expandido francés, 3 de los 17 pacientes examinados que tomaban raltegravir experimentaron fracaso virológico. Se seleccionaron 2 patrones de resistencia: Q148R (2 pacientes) y T66A+E92Q. Los 2 pacientes que fracasaron con la mutación Q148R seleccionaron posteriormente la mutación G140S, y en un caso el aminoácido del codón 148 cambió a histidina (H). En este paciente se detectó además de forma transitoria la mutación N155H. El paciente con el patrón Q148R+G140S interrumpió la terapia con raltegravir y a las 26 semanas habían revertido a *wild type* los codones mutados, tanto en el ARN plasmático como en el ADN proviral<sup>10</sup>.

La tercera experiencia clínica es del acceso expandido español<sup>11</sup>. Dos de 65 pacientes que recibieron raltegravir experimentaron fracaso virológico y seleccionaron 2 patrones distintos de mutaciones: N155H+V151I+I203M+V72I y Y143R+T97A+I203M+V72I. El segundo paciente interrumpió el tratamiento con raltegravir y a las 10 semanas habían revertido las mutaciones Y143R y T97A. Es de subrayar que en los 2 pacientes las mutaciones I203M y V72I se encontraban de manera basal, y aparentemente no comprometieron la respuesta virológica inicial<sup>11</sup>.

En conclusión, en los 14 fracasos comunicados hasta la fecha en pacientes que recibieron raltegravir en accesos expandidos en Europa, 5 seleccionaron N155H; 3, Q148; 1, Y143R, y 1, E157Q. Por tanto, es probable que la pérdida de sensibilidad a raltegravir no se limite exclusivamente a los 2 patrones de mutaciones observados en los ensayos clínicos. Considerando de manera global los resultados de los ensayos clínicos y del programa de acceso expandido, podemos concluir que los fracasos a raltegravir se asocian al desarrollo de diversos patrones de resistencia, y de manera más frecuente se seleccionan como mutaciones primarias N155H y Q148H/K/R, y con menor frecuencia, Y143R y E92Q. La tabla 2 muestra los patrones de resistencia seleccionados en los pacientes que han fracasado en los programas de acceso expandido europeos. Es de interés subrayar que la pérdida de eficacia clínica con rebrote virológico parece que puede ocurrir con una única mutación en muchos



**Figura 2.** Resistencia cruzada ante diferentes patrones de mutaciones de resistencia desarrollados en la región de la integrasa.

**TABLA 2.** Patrones de mutaciones de resistencia observados en el fracaso a raltegravir en los programas de acceso expandido europeos<sup>9,11</sup>

Pacientes con fracaso, n	Mutaciones de resistencia en el fracaso	Referencia
5	N155H	9, 11
2	Q148R	10
1	Q148H + G140S	9
1	E92Q	9
1	E92Q + T66A	10
1	Y143R + T97A	11
1	E157Q	9

casos, aunque si persiste la misma presión farmacológica, se seleccionan otras mutaciones secundarias que incrementan el grado de resistencia y probablemente compensan la pérdida de capacidad replicativa producida por las mutaciones primarias. En este sentido, raltegravir debe ser considerado como un fármaco de barrera genética baja. Por último, es interesante resaltar la experiencia de 2 interrupciones de tratamiento con raltegravir con desaparición de las mutaciones de resistencia seleccionadas en el fracaso. Como en el caso de enfuvirtida<sup>15</sup>, esto puede tener implicaciones terapéuticas, permitiendo el reciclaje del fármaco.

## Resistencias a elvitegravir

Como se ha comentado previamente, los datos de resistencias a este fármaco se limitan a los resultados del estudio de fase II GS-US-183-0105<sup>12</sup>. En este ensayo clínico, 215 pacientes fueron tratados con diferentes dosis de elvitegravir. El análisis de resistencias sólo se llevó a cabo en los pacientes de la rama de 125 mg/día potenciado con ritonavir (73 pacientes). Un total de 30 pacientes presentaron fracaso virológico en la semana 24, de los que se pudo obtener información genotípica en 28 casos. Las mutaciones más frecuentemente observadas fueron E92Q, E138K, Q148R/K/H y N155H. Cada una se observó en 11 (39%) pacientes. Otros cambios se observaron con menor frecuencia: S147G (9/28; 32%) y T66A/I/K (5/28; 18%). El patrón de mutaciones más frecuente fue E138K+S147G+Q148R (6/28; 21%). La susceptibilidad a elvitegravir fue entonces evaluada fenotípicamente. De promedio se observó un incremento de la  $CI_{50}$  de 175 veces. De igual manera se analizó la sensibilidad *in vitro* para otros patrones de resistencia seleccionados, como Q148H+G140S (pérdida de sensibilidad > 1.000 veces), E92Q+N155H (pérdida de sensibilidad de 195 veces), E92Q+T66I (pérdida de sensibilidad de 145 veces) y T66I+S147G (pérdida de sensibilidad de 46 veces). Estos datos confirman el impacto en la pérdida de sensibilidad a elvitegravir que confiere la selección de estas mutaciones en la integrasa.

En un estudio de sensibilidad fenotípica de virus con una única mutación de resistencia a elvitegravir, obtenidos por mutagénesis dirigida, se ha demostrado que las mutaciones T66I, E92Q y Q148K/R/H causan un alto grado de resistencia a elvitegravir (pérdida de sensibilidad de 15 a 118 veces), mientras que las mutaciones G140S, S147G y Q148H sólo causan pérdida parcial de susceptibilidad (de 5 a 6,4 veces). Por el contrario, la mutación E138K no mostró ningún impacto en la sensibilidad a elvitegravir.

Por último, es de interés mencionar que un estudio *in vitro* de selección de mutaciones de resistencia a elvitegravir, que examinaba concentraciones crecientes del fármaco, informó que la mutación T66I es la primera en seleccionarse, seguida de otras como S153Y, F121Y o R263K. Estos resultados, sin embargo, no se corresponden con la mayor variabilidad observada *in vivo*<sup>16</sup>.

## Resistencia cruzada a los inhibidores de la integrasa

Tanto raltegravir como elvitegravir son inhibidores de la integrasa que centran su actividad en inhibir el paso

de la integración correspondiente a la transferencia de cadena<sup>17</sup>. Puesto que comparten mecanismo de acción, uniéndose ambos al centro catalítico de la enzima, es intuitivo pensar que las mutaciones de escape a cada uno de los fármacos se producen en residuos similares. La experiencia clínica de selección de mutaciones en los fracasos a raltegravir o elvitegravir confirma que los patrones de resistencia son similares y se superponen, de modo que cabe esperar resistencia cruzada. No será posible secuenciar estos medicamentos. Diversos estudios que han examinado *in vitro* la susceptibilidad de virus mutantes en la integrasa han confirmado que hay un alto grado de resistencia cruzada entre raltegravir y elvitegravir.

La correlación entre la susceptibilidad a raltegravir y a elvitegravir en aislados clínicos pertenecientes a pacientes con fracaso a elvitegravir es baja ( $R^2 = 0,66$ )<sup>12</sup>. Sin embargo, es llamativo el incremento en la  $CI_{50}$  que experimentan los aislados con el patrón de mutaciones Q148H/R/K+G140S/C. Ocasional una pérdida de sensibilidad a ambos fármacos superior a 1.000 veces. Virus generados por mutagénesis dirigida con el patrón E92Q+N155H también muestran una resistencia igualmente elevada para raltegravir y elvitegravir, mientras que los patrones E92Q+T66I y E138K+S147G+Q148R ocasionan resistencia a ambos fármacos pero de mayor grado a elvitegravir. Además, el patrón T66I+S147G produce resistencia exclusivamente a elvitegravir. De forma aislada, las mutaciones Q148K/R y N155H producen resistencia a ambos fármacos, mientras que T66I y E92Q sólo disminuyen significativamente la susceptibilidad a elvitegravir. Por el contrario, Q148H compromete en mayor grado la susceptibilidad a raltegravir<sup>12,16</sup>.

El interés clínico de la resistencia cruzada reside en la posibilidad de rescatar a pacientes que hayan fracasado a un fármaco con el otro. Hasta la fecha sólo se han comunicado 2 pacientes que habiendo fracasado a elvitegravir se intentó rescatar con raltegravir. Uno de los pacientes, con genotipo desconocido en el fracaso, consiguió carga viral indetectable al sustituir elvitegravir por raltegravir. El otro, sin embargo, no respondió, lo cual era esperable puesto que el genotipo del fracaso mostraba las mutaciones Q148R, G140C, E138E y S147G18.

Una segunda generación de inhibidores de la integrasa está en desarrollo. Pretende preservar la actividad contra virus que son resistentes a raltegravir y elvitegravir (fig. 2), además de presentar una barrera genética más alta<sup>19</sup>. El primero de estos fármacos está siendo desarrollado por Merck, con el nombre de MK-2048. Asimismo, la disponibilidad de fármacos que inhiban otros procesos de la integración diferentes de la transferencia de cadena es de gran interés, puesto que es de esperar que las mutaciones de resistencia a esos medicamentos ocurran fuera del centro catalítico, sin posibilidad de resistencia cruzada con raltegravir o elvitegravir.

## Variabilidad natural en el gen de la integrasa

Algunas mutaciones asociadas a resistencia a los inhibidores de la integrasa pueden aparecer de manera natural en pacientes que nunca han estado expuestos a esta familia de fármacos. El conocimiento de la frecuencia de estos cambios es de utilidad para estimar si existe una pobla-

ción que podría responder peor a esta nueva familia de fármacos.

Hay una elevada variabilidad en el gen de la integrasa. Hasta un 64% (184/288) de las posiciones son polimórficas<sup>20-22</sup>. Como es de esperar, la prevalencia de mutaciones asociadas a resistencia a estos fármacos se ha observado con mayor frecuencia en subtipos no-B del VIH-1<sup>23-25</sup>. Por el contrario, la prevalencia en seroconvertidores no difiere de la encontrada en pacientes con infección crónica. Tampoco difiere la encontrada en sujetos *naïve* respecto a los pretratados con otros antirretrovirales<sup>23,25</sup>. Todos los estudios confirman la ausencia de cambios tanto en las posiciones de mutaciones primarias (66, 92, 143, 148 y 155), causales del compromiso total tanto a raltegravir como elvitegravir, como en la tríada catalítica DDE y en el motivo HHCC<sup>20-25</sup>.

Los cambios más frecuentemente observados de forma natural en la integrasa ocurren en posiciones descritas como mutaciones secundarias (V72I, V201I, T206S, I203M, K156N) (fig. 3), cuyo impacto en la susceptibilidad a los inhibidores de la integrasa, cuando se dan de forma aislada, parece ser nula o escasa. Un estudio reciente ha confirmado lo anterior tras evaluar fenotípicamente la sensibilidad a elvitegravir y raltegravir en clones obtenidos a partir de muestras de pacientes *naïve* para inhibidores de la integrasa. Se analizaron 349 clones de 49 pacientes; se encontraron 15 clones (pertenecientes a 9 pacientes distintos) con una pérdida de sensibilidad mayor que la del umbral biológico establecido previamente para elvitegravir, raltegravir o ambos (6 clones, 4 clones y 5 clones, respectivamente). Sin embargo, la pérdida de susceptibilidad en la mayor parte de los casos fue sólo residual (2,4 veces de promedio), con la excepción del patrón E92G+T124N+V201I, que mostró ser 15,9 veces menos sensible a elvitegravir<sup>14</sup>. Además, aislados virales tanto de VIH-2 como de VIH-1 grupo O, que presentan de manera natural múltiples polimorfismos en la integrasa en posiciones asociadas con resistencia, son sensibles a raltegravir, tanto *in vitro* como *in vivo*<sup>26,27</sup>.

Por tanto, las mutaciones primarias que causan resistencia a inhibidores de la integrasa no aparecen de manera natural en la población *naïve* a estos fármacos, con independencia del subtipo viral, la exposición previa al tratamiento antirretroviral o el tiempo de infección por el VIH. Datos fenotípicos indican que la gran mayoría de los

pacientes son sensibles a los inhibidores de la integrasa, a pesar de la presencia de ciertas mutaciones de resistencia secundarias de forma natural (polimorfismos).

## Mutaciones de resistencia en la integrasa y *fitness* viral

Como ocurre con muchas mutaciones de resistencia en el gen de la proteasa o algunas en el gen de la RT28, la capacidad replicativa de los aislados virales con mutaciones de resistencia a los inhibidores de la integrasa puede estar significativamente disminuida. La capacidad replicativa de los virus obtenidos de pacientes con fracaso a elvitegravir fue significativamente menor que la de aislados virales del momento basal de esos mismos pacientes (el 54 frente al 108%;  $p < 0,005$ )<sup>12</sup>. Del mismo modo, la capacidad replicativa de un aislado viral tras el fracaso a raltegravir, con selección de las mutaciones Q148H+G140S, fue menor que la del aislado basal (el 20 frente al 70%)<sup>29</sup>.

La extraordinaria potencia antiviral que han demostrado los inhibidores de la integrasa, con caídas de la carga viral plasmática sin precedentes<sup>6,30</sup>, así como en la carga proviral<sup>31</sup>, podría ayudar a disminuir de forma significativa los reservorios celulares del VIH. Es de interés que las mutaciones de resistencia a los inhibidores de la integrasa reducen la actividad enzimática de transferencia de cadena. De este modo, los virus con mutaciones de resistencia en el gen de la integrasa muestran una actividad enzimática disminuida, tomando como referencia una actividad del 100% para un virus *wild type*. Así, el mutante con N155H tiene una actividad del 12%; el mutante Q148H+G140S, sólo del 3%<sup>9</sup>; el mutante E92Q, del 57-90%<sup>9,32</sup>, y el mutante S147G, del 36%<sup>32</sup>. De este modo, los aislados virales con mutaciones en el gen de la integrasa podrían mostrar una menor integración del ADN proviral y, de este modo, disminuir el reservorio viral.

## Interpretación de las mutaciones de resistencia a los inhibidores de la integrasa

Hay 2 métodos comerciales aprobados por la EMEA para realizar análisis de resistencias en el VIH para inhibidores de la RT y la proteasa. Se trata de ViroSeq (Abbott) y Trugene (Siemens). Actualmente son pocos los laboratorios que realizan genotipificación de la integrasa para detectar mutaciones de resistencia a raltegravir (elvitegravir todavía no está comercializado). Estos análisis se realizan mediante protocolos caseros de PCR, con cebadores y condiciones optimizadas por los propios investigadores<sup>11,25,26,33</sup>. Puesto que los inhibidores de la integrasa han demostrado ser una opción terapéutica muy atractiva, es previsible una rápida incorporación de la determinación de resistencia genotípica a estos fármacos, de modo que pronto será habitual en muchos hospitales que atienden a pacientes con infección por el VIH. Por ello, se está poniendo a punto métodos comerciales para obtener el genotipo de la integrasa. El primero en presentar resultados ha sido Abbott, que validó su ensayo con un panel de 84 muestras pertenecientes a diversos subtipos del VIH<sup>34</sup>.

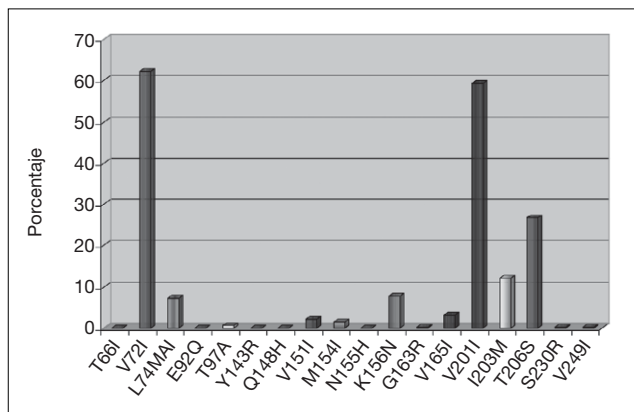


Figura 3. Prevalencia de mutaciones en el gen de la integrasa. Adaptada de Garrido et al<sup>23</sup>.

**Figura 4.** Resistencias a los inhibidores de la integrasa. Patrones de resistencia cruzada recogidos en las guías de interpretación de resistencias del RIS<sup>95</sup>.

T	L	E	T	E	G	Y	S	Q	V	N	E	G	I	S	
66	74	92	97	138	140	143	147	148	151	155	157	163	203	230	
I	M	Q	A	K/A	S/C	R	G	K/R/H	I	H	Q	R	M	R	
		■	■	■	■	■		■	■	■	■	■	■	■	Raltegravir
■		■		■	■		■	■		■	■		■		Elvitegravir

Siemens todavía no ha presentado su ensayo, aunque también está en desarrollo.

La interpretación de las mutaciones de resistencia a los inhibidores de la integrasa es todavía compleja. Las guías de resistencia a los antirretrovirales elaboradas por los miembros de la plataforma de resistencias de la Red de Investigación en Sida (RIS) española recogen la información disponible a partir de los ensayos clínicos (fig. 4)<sup>5</sup>. Es muy probable que en los próximos meses se incorporen nuevos criterios de interpretación de los genotipos de resistencia a esta nueva familia de antirretrovirales.

#### Declaración de conflicto de intereses

Los autores han declarado no tener ningún conflicto de intereses.

#### Bibliografía

- DeGruttola V, Dix L, D'Aquila R, Holder D, Phillips A, Ait-Khaled M, et al. The relation between baseline HIV drug resistance and response to antiretroviral therapy: re-analysis of retrospective and prospective studies using a standardized data analysis plan. *Antivir Ther.* 2000;5:41-8.
- De Mendoza C, Garrido C, Corral A, Ramírez-Olivencia G, Jiménez-Nacher I, Zahonero N, et al. Changing rates and patterns of drug resistance mutations in antiretroviral-experienced HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007;23:879-85.
- Miller V, Larder B. Mutational patterns in the HIV genome and cross-resistance following nucleoside and nucleotide analogue drug exposure. *Antivir Ther.* 2001;6:25-44.
- Perno CF, Moyle G, Tsoukas C, Ratanasuwan W, Gatell J, Schechter M. Overcoming resistance to existing therapies in HIV-infected patients: the role of new antiretroviral drugs. *J Med Virol.* 2008;80:565-76.
- Hazuda D, Miller M, Nguyen B, Zhao J. Resistance to the HIV integrase inhibitor raltegravir: analysis of protocol 005, a phase 2 study in patients with triple-class resistant HIV-1 infection [Abstract 8]. 16th International HIV Drug Resistance Workshop. Barbados, 12-16 June 2007.
- Markowitz M, Nguyen B, Gotuzzo E, Mendo F, Ratanasuwan W, Kovacs C, et al. Rapid and durable antiretroviral effect of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir as part of combination therapy in treatment-naïve patients with HIV-1 infection: results of a 48-week controlled study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007;46:125-33.
- Cooper D, Gatell J, Rockstroh J, Katlama C, Yeni P, Lazzarin A, et al, for the BENCHMRK-1 Study Group. 48-Week Results from BENCHMRK-1, a Phase III Study of Raltegravir in Patients Failing Antiretroviral Therapy (ART) with Triple-Class Resistant HIV-1 [Abstract 788]. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008.
- Steigbigel R, Kumar P, Eron J, Schechter M, Markowitz M, Loutfy M, et al, for the BENCHMRK-2 Study Group. 48-Week Results from BENCHMRK-2, a Phase III Study of Raltegravir in Patients Failing Antiretroviral Therapy (ART) with Triple-Class Resistant HIV-1 [Abstract 789]. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008.
- Malet I, Delelis O, Valantin M, Montes B, Soulie C, Wirden M, et al. Mutations associated with failure of raltegravir treatment affect integrase sensitivity to the inhibitor in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:1351-8.
- Charpentier C, Karmochkine M, Laureillard D, Tisserand P, Bélec L, Weiss L, et al. Drug resistance profiles of HIV integrase gene in patients failing Raltegravir-salvage therapy [Abstract 48]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
- Garrido C, Blanco F, Van Baelen K, Zahonero N, González-Lahoz J, Villacian J, et al. Raltegravir clinical response and resistance in heavily experienced patients [Abstract 52]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
- Mc Coll D, Fransen S, Gupta S, Parkin N, Margot N, Ledford R, et al. Resistance and cross-resistance to first generation integrase inhibitors: Insights from a Phase 2 study of Elvitegravir (GS-9137) [Abstract 9]. 16th International HIV Drug Resistance Workshop. Barbados, 12-16 June 2007.
- Deeks S, Kar S, Gubernick S, Kirkpatrick P. Raltegravir. *Nature Rev.* 2008;7:117-8.
- Rondelez E, Van Baelen K, Ceccherini-Silverstein F, Van Eygen V, Van den Zegel P, Winters B, et al. Preliminary biological cut-offs for GS-9137 and MK-0518 integrase inhibitors derived from clonal phenotypic analysis [Abstract 73]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
- Poveda E, Briz V, Paraskevis D, Barreiro P, Hatzakis A, Soriano V. Dynamics of drug-resistant HIV-1 in plasma and peripheral blood cells in patients during and after enfuvirtide therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007;23:1078-82.
- Jones G, Ledford R, Yu F, Miller M, Tsiang M, McColl D. Resistance profile of HIV-1 mutants in vitro selected by the HIV-1 integrase inhibitor GS-9137 (JTK-303) [Abstract 627]. 14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. Los Angeles, 25-28 February 2007.
- Hazuda D, Felock P, Witmer M, Wolfe A, Stillmock K, Grobler J, et al. Inhibitors of strand transfer that prevent integration and inhibit HIV-1 replication in cells. *Science.* 2000;287:646-50.
- DeJesus E, Cohen C, Elion R, Ortiz R, Haroldo L, Franson S, et al. First report of raltegravir (RAL, MK-0518) use alter virologic rebound on elvitegravir (EVT, GS-9137) [Abstract TUPEB032]. 4th IAS Conference on HIV. 22-25 July 2007, Sydney.
- Wai J, Fisher T, Embrey M, Egbertson M, Vacca J, Hazuda D, et al. Next generation of inhibitors of HIV-1 integrase strand transfer inhibitor: Structural diversity and resistance profiles [Abstract 87]. 14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. Los Angeles, 25-28 February 2007.
- Lataillade M, Chiarella J, Kozal M. Natural polymorphism of the HIV-1 integrase gene and mutations associated with integrase inhibitor resistance. *Antivir Ther.* 2007;12:563-70.
- Low A, Mohri H, Markowitz M. Frequency of naturally occurring polymorphisms associated with resistance to integrase inhibitors in a recently infected cohort [Abstract 625]. 14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. Los Angeles, 25-28 February 2007.
- Zioni R, Rhee S, Liu T, Shafer R. Natural variation of HIV-1 group M Integrase: Implications for integrase inhibitor therapy [Abstract 623]. 14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. Los Angeles, 25-28 February 2007.
- Garrido C, Geretti AM, De Mendoza C, Booth C, Strang A, Soriano V. Polymorphisms at the integrase gene in distinct HIV populations may influence the susceptibility to integrase inhibitors [Abstract 12]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
- Hackett J, Harris B, Holzmayer V, Yamaguchi J, Luk K C, Brennan C, et al. Naturally occurring polymorphisms in HIV-1 group M, N, and O integrase: implications for integrase inhibitors [Abstract 872]. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008.
- Sichtig N, Däumer M, Esser S, Dittmer U, Schülter E, Oette M, et al. Analysis of integrase inhibitor (INI) resistance of HIV-1 group M in ART-naïve and -experienced but INI-naïve patients in Germany [Abstract 67]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
- Roquebert B, Damond F, Collin G, Matheron S, Taieb A, Peytavin G, et al, and the French ANRS HIV-2 Cohort (ANRS CO 05 VIH-2). Polymorphism of HIV-2 integrase gene and in vitro phenotypic susceptibility of HIV-2 clinical isolates to integrase inhibitors: raltegravir and elvitegravir [Abstract 83]. *Antivir Ther.* 2007;12:S92.
- Briz V, Garrido C, Morello J, De Mendoza C, Soriano V. Etravirine and Raltegravir are active against HIV-1 group O [Abstract 71]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
- Martínez-Picado J, Martínez MA. HIV-1 reverse transcriptase inhibitor resistance mutations and fitness: A view from the clinic and ex vivo. *Virus Res.* 2008 [en prensa].
- Buzón M, Marfil S, Puertas M, García E, Clotet B, Blanco J, et al. Evolution of HIV-1 pol under HAART does not restrict fitness progression of HIV-1

- integrase [Abstract 49]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
30. Grinsztejn B, Nguyen B, Katlama C, Gatell JM, Lazzarin A, Vittecoq D, et al. Safety and efficacy of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir (MK-0518) in treatment-experienced patients with multidrug-resistant virus: a phase II randomised controlled trial. *Lancet*. 2007;369:1261-9.
  31. Arponen S, Benito J, Lozano S, Blanco F, Garrido C, De Mendoza C, et al. More pronounced effect of integrase inhibitor raltegravir on proviral DNA reduction than other antiretroviral drugs in patients achieving undetectable viremia [Abstract 796]. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008.
  32. Shimura K, Kodama E, Sakagami Y, Matsuzaki Y, Watanabe W, Yamataka K, et al. Broad antiretroviral activity and resistance profile of the novel HIV integrase inhibitor elvitegravir (JTK-303/GS-9137). *J Virol*. 2008;82:764-74.
  33. Van Laethem K, Schrooten Y, Covens K, Dekeersmaecker N, De Munter P, Van Wijngaerden E, et al. A genotypic assay for the amplification and sequencing of integrase from diverse HIV type 1 group M subtypes [Abstract 78]. 6th European HIV Drug Resistance Workshop. Budapest, 26-28 March 2008.
  34. Smith P, Holzmayer V, Fang L, Swanson P, Hackett J, Marlowe N. Performance of prototype integrase genotyping reagents for analysis of diverse HIV-1 strains [Abstract 881]. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, 2008.
  35. Guía de Resistencias a los Antirretrovirales. Interpretación de genotipos de resistencia de la Red de Investigación en SIDA (RIS). Barcelona: Permanyer; 2007.