Resistencia a la terapia antiviral del virus hepatitis B

Hepatitis B virus resistance to antiviral therapy

Jorge Quarleri.*

Recibido: 13/10/2010 Aceptado: 22/10/2010

Resumen

Palabras clave: Virus hepatitis B, resistencia antiviral; análogos nucleós(t)idos, mutación, polimerasa, genotipo.

El virus hepatitis B (HBV) es responsable de una elevada morbimortalidad de distribución mundial. Las consecuencias clínicas de las infecciones por este virus (hepatitis crónica, cirrosis, hepatocarcinoma) dependen tanto de factores relacionados inherentes al hospedador como al agente viral. Entre estos últimos, cada vez son más importantes aquellos que se relacionan con la respuesta al tratamiento antiviral, como son la aparición de mutantes de resistencia. En el caso del HBV, cobra especial relevancia la presencia y acumulación de mutaciones responsables de la resistencia a los antivirales aprobados para el tratamiento de la infección, o de otros de reciente aplicación. La aparición de estas mutaciones (resistencia genotípica) usualmente se asocia a elevaciones en los niveles de ADN del HBV (falla virológica) con elevaciones posteriores de los niveles de amino-transaminasa (falla bioquímica). La aparición de resistencia antiviral puede estar acompañada por una transitoria aunque ocasional exacerbación severa de la enfermedad hepática que en algunas circunstancias puede conducir a falla hepática aguda. Una prioridad de las investigaciones a futuro es la identificación de nuevos agentes con actividad contra HBV con blanco en los diferentes pasos del ciclo de replicación viral que podrían proveer medios efectivos para circunscribir la resistencia antiviral a los análogos de nucleós(t)idos.

Abstract

Key words: Hepatitis B virus, antiviral resistance, nucleos(t)ides analogs, mutation, polymerase, genotype.

Infection by the hepatitis B virus (HBV) is a major cause of morbidity and mortality world-wide. The clinical outcomes of infection by this virus (e.g.,chronic hepatitis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma) depend on several factors related to the host and the viral agent. Among the latter, factors associated with the response to current antiviral therapies, such as the emergence of resistance mutants is gaining increasing importance. The presence of resistance mutations in the viral polymerase constitutes the main problem for treating HBV infection with approved drugs and those recently applied. The appearance of these viral mutations (genotypic resistance) is usually followed by rises in HBV DNA levels (virological breakthrough) and then by rises in serum aminotransferase levels (biochemical breakthrough). The appearance of antiviral resistance can be accompanied by a transient but occasionally severe exacerbation of the underlying liver disease which in some instances has led to acute liver failure. A future research priority is to identify new agents active against HBV that target different steps in the viral life-cycle and might provide effective means to circumvent the antiviral resistance of nucleos(t)ide analogs.

El manejo terapéutico de la hepatitis B crónica ha mejorado sustancialmente en la última década basado fundamentalmente en la disponibilidad de análogos de nucleós(t)idos (ANs). Tales agentes se muestran bien tolerados, con alta eficacia en la supresión de la replicación viral, y aparece como segura tras la experiencia acumulada en la última década. Una de las preocupaciones de la terapia basada en el uso de tales drogas es la alta tasa de falla virológica ante interrupciones del tratamiento. Ello implica que el tratamiento con frecuencia, debe ser administrado por períodos prolongados de tiempo o, aun indefinidamente. Desafortunadamente, las terapias de larga duración están asociadas con el desarrollo de resistencia y en consecuencia pueden asociarse con un empeoramiento de la situación clínica del paciente que puede alcanzar diferentes grados de severidad.

*PhD. Centro Nacional de Referencia para el SIDA.
Dto. Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires; CONICET.
Dirección para correspondencia
Paraguay 2155 Piso 11. C1121ABG, CABA, Argentina.
E-mail: quarleri@fmed.uba.ar

Fuente(s) de apoyo en forma de financiamiento
UBACyT 2010-2012.

Cómo emplear mejor las drogas disponibles para disminuir el riesgo de desarrollar resistencia viral se constituye como uno de los desafíos actuales en el manejo de la terapia para hepatitis B. Este artículo se focaliza en los mecanismos conducentes al desarrollo de resistencia para el virus hepatitis B (HBV).

Mecanismo de aparición de la resistencia a antivirales

El ciclo de replicación del HBV tiene una serie de características que favorecen la persistencia del virus en el organismo, que incluyen: (a) la replicación del virus no tiene mayores efectos citopáticos; (b) el ADN circular covalentemente cerrado (cccADN) que se sintetiza en el núcleo de la célula es insensible a la acción de los antivirales, y constituye una fuente potencial de reactivación cuando se suspende el tratamiento; (c) la alta tasa de variabilidad genética que se produce en el proceso de retrotranscripción genera la aparición espontánea de mutaciones en cada ciclo.

La tasa de replicación del HBV es muy alta. Se producen del orden de 10^{12} viriones/día, con una vida media en la circulación periférica de 24 h (1). La polimerasa viral carece de función correctora de errores 3′-5′ exonucleasa (o *proof reading*), por lo que la tasa de mutaciones también es muy elevada, estimándose del orden de 10^{-4} mutaciones/ciclo (2).

Durante el tratamiento de la infección se produce un descenso en la carga viral en modo bifásico tal que inicialmente su caída es más rápida y refleja la eliminación de las partículas virales circulantes en suero. Tras ésta, la segunda fase de limitación es más lenta y se corresponde con la eliminación de las células infectadas. La vida media de los hepatocitos infectados es cercana a los 20 días, pero puede variar dependiendo de la eficacia de la respuesta inmunitaria frente al HBV. La cinética enlentecida que caracteriza en general esta segunda fase conlleva la necesidad de prolongar los tratamientos a largo plazo, lo que favorece la selección de mutaciones de resistencia. Asimismo, la presión de selección que ejercen las drogas antivirales así como la aparición de mutaciones, dan lugar a un escenario darwiniano. Desde allí se espera que aquellos virus que expresen cambios que favorezcan su replicación viral sean seleccionados y en última instancia se transformen en el principal componente de la población viral que infecta al paciente.

Diferentes factores están asociados con el desarrollo de resistencia antiviral, pero los considerados pilares clave incluyen al *fitness* viral (capacidad del virus de adaptarse al medio y replicarse eficientemente) y a la potencia y barrera genética a la resistencia de la droga antiviral (3). El *fitness* depende básicamente de dos factores. La capacidad replicativa referida a la habilidad de un virus mutante de multiplicarse en ausencia de la droga comparada con el virus salvaje, virus sensible a drogas y espacio de replicación, lo cual refiere a la habilidad del ambiente de sostener la replicación, el hepatocito en el caso de HBV (4,5). Comúnmente los virus mutantes exhiben menos *fitness* en ausencia de la droga, lo cual infiere que no replican con la misma eficiencia que el virus salvaje, aunque pueden tener una ventaja adaptativa en presencia de un agente antiviral. Es además esperable que en lo sucesivo se desarrollen mutaciones secundarias o compensatorias capaces de restablecer los defectos funcionales en la polimerasa viral causados por las mutaciones primarias. Tales mutaciones compensatorias le permiten al virus mutante replicar en niveles semejantes al virus salvaje conduciendo al desarrollo de resistencia antiviral.

La *potencia de una droga antiviral* está determinada por su habilidad para actuar como un inhibidor competitivo de la polimerasa viral relativo a su sustrato natural (6). Clínicamente la potencia de una droga se refleja en cuán rápidamente puede suprimir la replicación viral; cuando más rápidamente menor es el riesgo de desarrollar resistencia antiviral (7). Una droga con alta potencia antiviral ejerce mínima presión sobre la población viral conduciendo a baja probabilidad de desarrollar resistencia. Una droga muy potente alcanzará rápida y completa supresión de la replicación viral, conduciendo a una baja probabilidad de emergencia de virus resistente dado que tal aparición es dependiente de la replicación. Un agente que sólo implique una moderada acción antiviral con incompleta supresión de la replicación provee las más altas probabilidades de seleccionar virus resistente a drogas. No obstante, antes del tratamiento ya existen virus con mutaciones que se han producido espontáneamente y que pueden estar asociadas con la resistencia a antivirales. La probabilidad de que se seleccionen estos virus mutados durante la terapia antiviral va a depender de la eficacia del fármaco para suprimir la replicación viral. La aparición de resistencia es un proceso que depende de que exista replicación viral asociada a la presión selectiva de un fármaco.

La *barrera genética* a la resistencia está referida al número de mutaciones que el virus debe acumular para replicar eficientemente en presencia de la droga antiviral. Es dependiente en parte, de la estructura del componente antiviral y de las limitaciones impuestas por la estructura de la polimerasa viral para tolerar las mutaciones compensatorias sin que se afecte significativamente la actividad enzimática. Es así que, un agente con una alta barrera genética a la acumulación de mutaciones tendrá naturalmente una menor probabilidad de desarrollar resistencia.

Otros factores pueden indirectamente contribuir al desarrollo de la resistencia antiviral. La supresión por la

respuesta inmune innata o adquirida puede afectar la tasa de replicación viral y entonces, la tasa de mutaciones. La obesidad puede afectar la concentración efectiva de la droga tras alterar el volumen de distribución y, por otro lado, la falta de adherencia del paciente, y las alteraciones del metabolismo de la droga (por ejemplo, la actividad de las enzimas celulares necesarias para la fosforilación de las prodrogas) (6). Por último, existen mutaciones adjudicadas al uso previo de agentes antivirales que pueden disminuir la barrera genética y conducir hacia un más rápido desarrollo de resistencia.

Factores que promueven la selección de resistencia

Como se mencionó más arriba, numerosos pacientes con hepatitis B crónica van a ser tratados durante prolongados períodos de tiempo, favoreciendo la aparición de mutaciones. Esto trae acarreado los fenómenos de selección de resistencia lo que depende tanto del fármaco, como del virus y del hospedador (8). Entre los factores relativos al virus se incluyen tanto la dinámica con la cual se eliminan y producen, la ausencia de mecanismo de *proof-reading* por la polimerasa y, el *fitness* de los virus mutantes. Entre los relativos al hospedador y a la droga antiviral se incluyen la previa experiencia farmacológica, la falta de adherencia, la capacidad para metabolizar (absorción, biodisponibilidad, etc.) los fármacos a su forma activa, así como la potencia del antiviral.

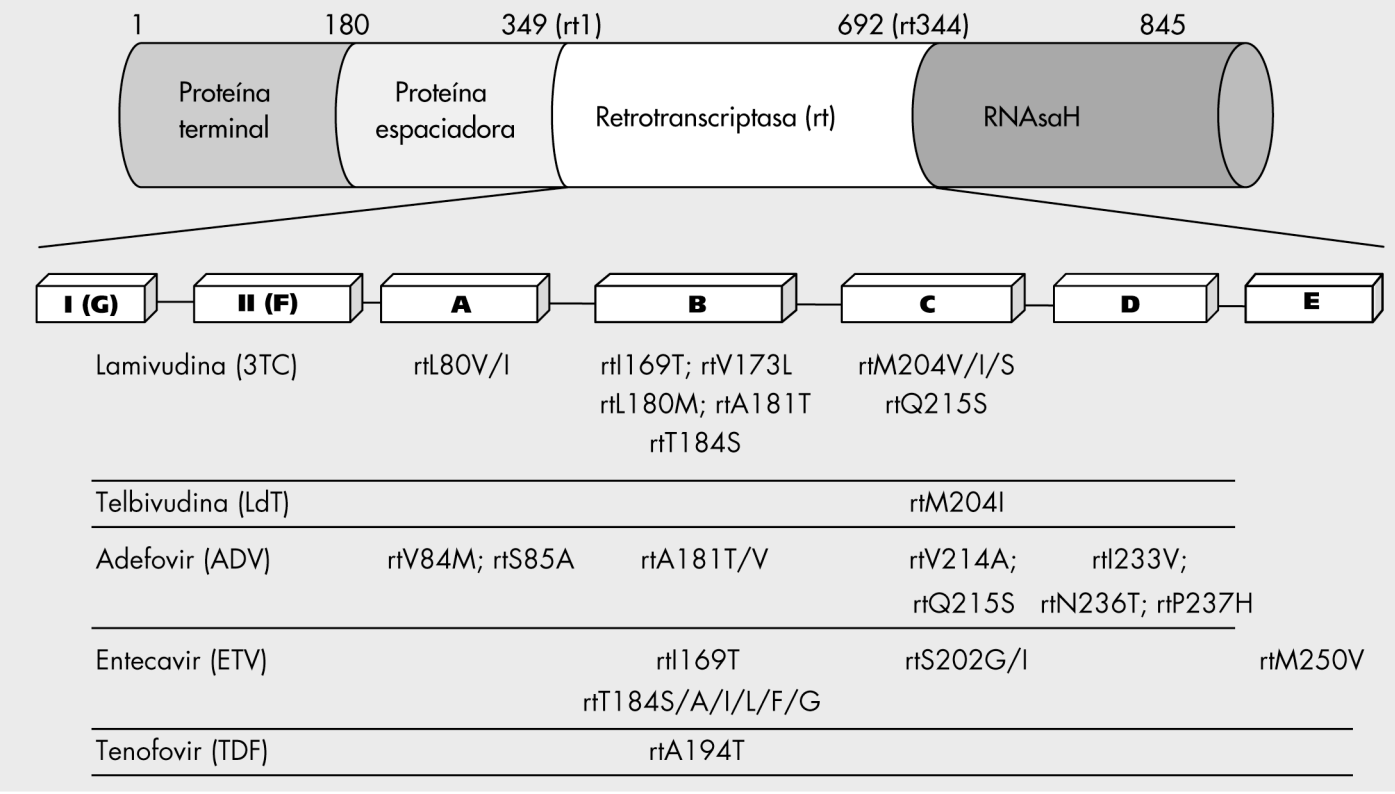
Características de la polimerasa viral

El genoma del HBV consiste en una molécula de ADN parcialmente bicatenario de 3.200 pares de bases que contiene 4 marcos abiertos de lectura. El mayor de ellos es el que codifica para la polimerasa viral. Las funciones de esta última son fundamentales para la replicación viral convirtiéndola en el blanco más apetecible de los antivirales. Estas funciones incluyen la actividad de retrotranscriptasa, ADN polimerasa dependiente de ARN y ribonucleasa H.

Se distinguen claramente cuatro dominios en la polimerasa: una proteína N-terminal que sirve como cebador para la retrotranscriptasa, un dominio espaciador de función desconocida, el dominio retrotranscriptasa/polimerasa (rt) y el dominio ribonucleasa H (Figura 1).

Figura 1

Dominios de la polimerasa del HBV y su asociación con las mutaciones de resistencia a los ANs



Se asocian según el dominio las mutaciones primarias y secundarias de resistencia.
Algunas han sido reportadas pero no confirmadas.

En el domino espaciador pueden producirse mutaciones o deleciones que no afectan a la función de la polimerasa, pero que originan una distinta longitud aminoacídica entre las polimerasas de los distintos genomas del HBV. De esta forma, y para evitar la confusión que se generaba en el mapeo de las mutaciones en la proteína, Stuyver y col. (9) propusieron una numeración según la cual el dominio transcriptasa inversa/polimerasa (rt) comienza con la región altamente conservada "EDWGPCDEHG...", de tal manera que la longitud de dicho dominio, de 344 aminoácidos, es constante para todos los genotipos. De hecho, no se han observado variaciones en la longitud de la rt en ninguno de los -al menos- ocho genotipos descritos para el HBV, por lo que las diferencias nucleotídicas entre éstos (> 8%) tienen lugar en otros puntos del genoma. Siguiendo esta numeración, los dominios espaciador y proteína N-terminal son genotipo dependientes, y el dominio rt y el dominio ribonucleasa H son genotipo independientes. El dominio rt, a su vez, se divide en 7 regiones o motivos (A-G) (9) (Figura 1).

Sustentado en las homologías advertidas entre las polimerasas de HBV y HIV y, para poder entender los mecanismos de resistencia, se han creado modelos tridimensionales. Éstos han podido localizar las distintas mutaciones y estudiar los cambios estructurales que provocan en la polimerasa (10).

Resistencia a drogas antivirales y hepatitis B crónica

Cinco análogos de nucleós(t)idos (ANs) con blanco de acción en la polimerasa viral han sido aprobados en diferentes partes del mundo para el tratamiento de la hepatitis B crónica (HB-C): lamivudina (3TC; análogo L-nucleosídico de citidina), adefovir (ADV; un alquil fosfonato), entecavir (ETV, D-ciclopentano), telbivudina (LdT; análogo L-nucleosídico de timidina) y tenofovir disoproxil fumarato (TDF; un alquil fosfonato muy similar al ADV). Frecuentemente usados como monoterapia, la mayoría de estos ANs están asociados con la evolución de las mutaciones de resistencia a drogas antivirales en el dominio rt del gen de la polimerasa de HBV.

La resistencia a estos ANs está asociada con la selección de mutaciones de resistencia primaria en los dominios de la polimerasa/rt lo cual facilita la síntesis de ADN viral en presencia de la droga. La continuación de la terapia tras la falla a una droga conduce a la acumulación de mutaciones compensatorias (o secundarias) que restauran el *fitness* viral. Con 3TC, las sustituciones aminoacídicas primarias, rtM204V/I impactan en el motivo YMDD de la polimerasa, y los cambios compensatorios incluyen rtL180M (11,12) y rtV173L (13). La resistencia a ADV está caracterizada por la mutación rtN236T y/o rtA181V/T (14,15). La resistencia a ETV tiende a surgir en modo escalonado con el cambio rtS202I ocurriendo secuencialmente en virus que ya exhiben mutaciones de resistencia a 3TC (rtL180M más rtM204V) (16). No obstante, resistencia primaria a ETV ha sido reportada cuando esas mutaciones aparecen en modo simultáneo (17). Para LdT, al cabo de 2 años la tasa de resistencia alcanzó el 29% en pacientes HBeAg positivos y 11% en aquellos HBe-negativos con la mutación de resistencia primaria rtM204I. Mutaciones secundarias tales como rtL80I/V y rtL80I/V más rtL180M pueden acompañar dicha mutación en cerca del 5% de los casos (18). No se han descrito mutaciones asociadas al TDF en modo definitivo en pacientes vírgenes de tratamiento que tuvieron terapia con tal droga por 72 semanas (19). No obstante las principales mutaciones asociadas a resistencia a ADV -rtA181T/V y rtN236T- reducen la sensibilidad desde el punto de vista clínico (20) y virológico (21).

A la fecha son 10 los codones asociados con resistencia a drogas antivirales en HB-C, localizados en cuatro de los dominios funcionales de la polimerasa (22): uno en el dominio A (L80); en el dominio B están los codones rtI169, rtV173, rtL180, rtA181 y rtT184; dominio C con los codones rtS202 y rtM204; dominio D con el codón rtN236 y el dominio D con el codón rtM250. Otras menos caracterizadas mutaciones de resistencia demostraron significativa asociación con el tratamiento con ANs e incluyen a L82M, S85A, A200V y, Q215S.

Una herramienta interesante de muy reciente descripción permite acceder a una base de datos dotada de un programa interactivo ("HBVseq") que permite a los usuarios identificar mutaciones en secuencias nucleotídicas y obtener desde la base la prevalencia de dichas mutaciones acorde con el genotipo viral y el tratamiento con ANs. Tal base está disponible en http://hivdb.standford.edu/HBV/releaseNotes/ (22).

Cuatro rutas principales sustentan la resistencia (21). La ruta de los "L-nucleósidos" la que está identificada por la presencia de la mutación M204V/I que resulta en la resistencia al 3TC y LdT; la ruta de los "fosfonatos acíclicos/alquilo-azúcares" que se identifica por la presencia de la sustitución rtN236T, resultando en la resistencia a ADV y reducida sensibilidad a TDF; la ruta "compartida" identificada por la presencia de la mutación rtA181T/V que sostiene la resistencia tanto a los L-nucleósidos (3TC y LdT) como así también a ADV, y reducida sensibilidad al TDF; y por último la ruta de resistencia de quienes no han recibido ETV, identificada por la presencia de las mutaciones rtL180M más rtM204V/I más, al menos una substitución en uno de las posiciones aminoácidicas rtT184, rtS202 y rtM250. Finalmente, varias combinaciones de estas 4 vías mayores han sido descriptas en pacientes con HBV multiresistente tales como rtA181T más rtN236T más rtM250L (21).

Definición de resistencia a los antivirales

La resistencia virológica se describe habitualmente como alta, intermedia o de bajo nivel basándose en los niveles de cambio de la IC50 (50% de la concentración eficaz máxima) frente al antiviral. Esta clasificación, sin embargo, no se correlaciona inequívocamente con lo que sucede clínicamente. Así la resistencia a la lamivudina se asocia con elevaciones muy altas de la IC50 mientras que los aislamientos de HBV que muestran resistencia al ADV presentan aumentos pequeños de la misma.

La resistencia clínica se define en términos de variaciones en la carga viral, basándose en la determinación de ADN viral en suero, lo que se considera el mejor indicador de la replicación del HBV *in vivo*. Esta clasificación clínica diferencia entre resistencias primarias y secundarias. La resistencia primaria se define como la incapacidad del agente antiviral para disminuir la carga de ADN viral en por lo menos 1 x $\log_{10}$ U/ml durante los primeros 3 meses de tratamiento. La resistencia secundaria sería el aumento de, por lo menos, 1 x $\log_{10}$ U/ml en la carga viral de dos muestras consecutivas en un período de un mes en pacientes que previamente habían respondido al tratamiento. Las resistencias secundarias generalmente se asocian con la resistencia farmacológica asociada a falencias en el metabolismo (absorción, biodisponibilidad, metabolismo de la prodroga a sus metabolitos activos, o fosforilación) (23).

Resistencias a lamivudina (3TC)

La lamivudina (3TC) es un análogo de nucleósido que compite con su análogo natural, la citosina, por unirse a la polimerasa viral, inhibiendo así la incorporación del siguiente nucleótido y provocando la terminación de la cadena de ADN en formación. En un principio se desarrolló para ser utilizada en las infecciones por HIV pero se comprobó que también era efectiva frente al HBV a concentraciones más bajas. En este último inhibe también la actividad retrotranscriptasa de la polimerasa viral (24).

El tratamiento con 3TC ocasiona un descenso rápido de la carga viral y se asocia con una mejoría clínica, pero esta situación es transitoria debido a la aparición de resistencias que aumentan a medida que aumenta el tiempo de tratamiento. Estudios realizados a largo plazo demuestran que la aparición de mutaciones de resistencia va aumentando de un 15-30% al año, de un 40-50% a los 3 años y hasta un 70% a los 5 años de tratamiento (25-27).

La mutación principal que provoca resistencia a la lamivudina se localiza en el motivo C de la rt. Esta mutación se corresponde con un cambio de una metionina (M) con una valina (V) o una isoleucina (I) en el aminoácido de la posición 204, dentro del motivo YMDD (rtM204V/I), y provoca una disminución en la actividad enzimática y en la capacidad replicativa del virus. Para restaurar, al menos parcialmente, la actividad de la polimerasa surgen las mutaciones V173L y L180M, entre otras, que se localizan en el dominio B de la rt y se denominan mutaciones compensatorias (13,28).

Se han descrito 6 patrones principales de mutaciones asociados con la resistencia a lamivudina, siendo el más habitual el rtM204V + rtL180M (29). La rtL180M es la mutación compensatoria más frecuente, insuficiente por sí sola de provocar resistencia a lamivudina, y se suele asociar con la rtM204V. La rtL80V/I se localiza en el dominio A de la rt y es una mutación alternativa a la rtL180M en los virus que presentan la rtM204I (30).

Estas mutaciones hacen que la unión entre 3TC y la polimerasa sea menos fuerte en comparación con el sustrato natural y que la droga no se una a la polimerasa por motivos de impedimento estérico (31).

Además de la presencia de mutaciones en la rt hay una serie de factores que se asocian o que son predictivos de la aparición de resistencias a 3TC: a) sexo masculino; b) índice de masa corporal elevado; c) niveles elevados de carga viral antes del tratamiento (32); d) niveles de transaminasas elevados antes o durante el tratamiento; e) mantenimiento de valores de carga viral por encima de 10^3 copias/ml tras 6 meses de tratamiento (33).

Resistencias a adefovir (ADV)

Adefovir dipivoxil es el profármaco del ADV, un análogo del nucleótido deoxiadenosina monofosfato. El ADV inhibe la polimerasa del HBV compitiendo con el sustrato natural por unirse a ella y, una vez unido, provoca la terminación de la cadena de ADN en formación. La resistencia al ADV se asocia con la presencia de las mutaciones rtN236T y rtA181V, localizadas en los dominios D y B, respectivamente (14,34). La rtN236T permite a la polimerasa discriminar entre el sustrato natural y el fármaco. Además pueden aparecer otras mutaciones secundarias que han sido detectadas tras analizar la polimerasa de pacientes que no habían respondido al tratamiento con ADV, o que habían tenido un repunte de la carga viral, sin presentar las mutaciones de resistencia (rtN236T y rtA181V). Estas mutaciones son: rtA181T, rtQ215S y rtV214A. Las dos primeras son mutaciones compensatorias que se pueden encontrar en pacientes con resistencia a 3TC (8).

Recientemente ha sido publicada una nueva mutación asociada a la resistencia a ADV: la rtI233V, próxima a otra ya establecida para dicho fármaco (N236T), tratándose en los 3 casos descritos de una mutación primaria independiente de la resistencia a 3TC (35).

Las tasas de mutaciones de resistencia son, aproximadamente, de un 1,3% a los 2 años, de 6-11% a los 3

años y de 18% a los 4 años de tratamiento (36,37). Un estudio reciente indica que la aparición de mutaciones de resistencia puede ser de hasta un 20% a los 2 años de tratamiento (38). La selección de estas mutaciones de resistencia para el ADV es mucho menos frecuente de lo que sucede con la lamivudina, y la explicación parece estar relacionada con la estructura química del fármaco. Estructuralmente el ADV es una molécula flexible que además se asemeja mucho al sustrato natural, lo que le permite unirse a la polimerasa con diferentes conformaciones, y dificulta la aparición de resistencias. La ausencia de resistencia cruzada entre lamivudina y ADV se debe también a la diferencia en la estructura química de ambos compuestos, ya que al ser la lamivudina muy diferente al sustrato natural, el ADV se puede emplear en aquellos enfermos que presenten mutaciones de resistencia a aquélla (39).

Resistencias a entecavir (ETV)

El ETV inhibe la polimerasa del HBV compitiendo con el sustrato natural, la guanosina, y desde el año 2005 está aprobado su uso en EE.UU.

Es efectivo frente a los mutantes resistentes a 3TC, aunque en menor medida respecto del virus salvaje. La resistencia a ETV se asocia con 2 grupos o perfiles de mutaciones, y ambos incluyen mutaciones de resistencia a 3TC: a) rtM250V ± rtI169T + rtM204V + rtL180M; b) rtT184G + rtS202I + rtM204V + rtL180M.

La mutación rtM250V se localiza en el dominio D, y parece que tiene un papel muy importante en la expresión de la resistencia fenotípica. La mutación rtI169T se localiza en el dominio B, y tiene una función compensatoria frente a los cambios conformacionales introducidos en la polimerasa por otras mutaciones. Su función es, pues, similar a la mutación rtV173L que aparece en el HBV que ha desarrollado resistencia a 3TC. Las mutaciones rtT184G y rtS202I se localizan en los dominios B y C, respectivamente. El segundo perfil de resistencia se asocia con un nivel de resistencia a ETV más elevado que el primero.

La caracterización molecular de estas mutaciones de resistencia muestra que: a) el 3TC y el ETV tienen cierto grado de resistencia cruzada; b) las mutaciones asociadas con la resistencia a ETV no son suficientes para conferir resistencia fenotípica, ya que para ello se necesita la presencia de mutaciones de resistencia al 3TC (40) (la aparición de resistencias al ETV se observa en un 10% de los enfermos tratados previamente con lamivudina, a los 2 años de tratamiento) (41); c) el ETV inhibe la replicación de los virus resistentes a ADV (el HBV con la mutación rtN236T es tan sensible al ETV como el virus salvaje) (34).

Resistencias a emtricitabina (FTC) y tenofovir (TDF)

La emtricitabina (FTC) es un derivado fluorado del 3TC, y presenta actividad frente al HIV y frente al HBV. Su uso en monoterapia parece que plantea los mismos problemas de resistencia que la lamivudina, debido a su estructura similar, y estudios in vitro han demostrado que los virus resistentes a la lamivudina presentan resistencia cruzada con FTC (42,43).

El TDF es un análogo del nucleótido adenosina, aprobado para su uso en el tratamiento del HIV, que se ha mostrado así mismo eficaz en el tratamiento de la infección por HBV, especialmente en pacientes con resistencias al 3TC. En este último caso ha demostrado ser incluso más eficaz que el ADV (44). Recientemente, se ha comprobado también su eficacia en casos de HBV resistentes a ADV (45).

La resistencia a TDF ha sido descrita recientemente en pacientes tratados y coinfectados con HBV y HIV en los que se mantenían concentraciones detectables de ADN de HBV en sangre durante más de 6 meses (45). En dos de los pacientes del estudio citado se comprobó, junto a mutaciones de resistencia a 3TC, la existencia de una nueva mutación, la rtA194T, localizada en el extremo del dominio B de la polimerasa. En estudios *in vitro*, la asociación de esta mutación con rtL180M + rtM204V, de resistencia a 3TC, demostró un incremento de 10 veces en la IC50 en comparación con el virus salvaje (45).

Resistencias a otros fármacos

Telbivudina (L-dT), clevudina (L-FMAU), valtorcitabina (L-dC), y elbucitabina (ß -L-Fd4C) constituyen ejemplos de nuevos análogos de nucleósidos en proceso de desarrollo, que han demostrado poseer resistencia cruzada in vitro con construcciones de HBV resistentes a lamivudina (46,47) o ADV (48).

Relación entre genotipo y desarrollo de resistencias

Como ya se ha señalado actualmente se reconocen al menos 8 genotipos del HBV (A-H) basándose en una diferencia de más del 8% en la secuencia de nucleótidos a lo largo de todo el genoma (49-51).

En Europa los genotipos más frecuentes son el A y el D (52), mientras que los genotipos B y C prevalecen en Asia y Oceanía (53). Si bien los distintos genotipos parecen influir en el desarrollo de la enfermedad (peor pronóstico para el C en comparación con el B) (54) su relación con la respuesta al tratamiento es algo que actualmente está en debate.

De los tratamientos disponibles en la actualidad, la respuesta al interferón (IFN) es la que presenta mayor evidencia de estar relacionada con el genotipo del virus, siendo menos evidente esta relación con las respuestas a la 3TC y ADV, necesitándose más estudios al respecto.

Los pacientes con genotipos C y D presentan una respuesta al IFN menor que la de los genotipos A y B. Esta diferencia está relacionada con el desarrollo de mutaciones en la región precore que es más frecuente en los genotipos C y D (55). Sobre la relación entre el genotipo y la respuesta al 3TC algunos trabajos concluyen que hay una mayor tendencia a desarrollar mutaciones de resistencia en el genotipo A que en el D (56), si bien esta diferencia se aprecia tan sólo durante el primer año de tratamiento, no observándose la misma a los 2 años del mismo (57). Se han observado, así mismo, diferencias en el patrón de resistencias entre los 2 genotipos. Así, en el genotipo A el patrón más frecuente es rtL180M + rtM204V y en el D predomina la mutación rtM204I (56). En cuanto al ADV no parecen existir diferencias entre los genotipos A y D (58), si bien un estudio reciente relaciona el genotipo D con un mayor riesgo de resistencia (38,59).

ΛH

Bibliografía

1. Nowak M, Bonhoeffer S, Hill A, Boehme R, Thomas H, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. Proc Natl Acad Sci USA. 1996; 29:31-3.
2. Girones R, Miller RH. Mutation rate of the hepadnavirus genome. Virology. 1989; 170:595-7.
3. Richman DD. The impact of drug resistance on the effectiveness of chemotherapy for chronic hepatitis B. Hepatology 2000; 32:866-867.
4. Zhang YY, Summers J. Enrichment of a precore-minus mutant of duck hepatitis B virus in experimental mixed infections. J Virol 1999; 73:3616-3622.
5. Zhang YY, Summers J. Low dynamic state of viral competition in a chronic avian hepadnavirus infection. J Virol 2000; 74:5257-5265.
6. Hulgan T, Haas DW. Toward a pharmacogenetic understanding of nucleotide and nucleoside analog toxicity. J Infect Dis 2006; 194:1471-1474.
7. Locarnini S, Hatzakis A, Heathcote J, Keeffe EB, Liang TJ, Mutimer D, et al. Management of antiviral resistance in patients with chronic hepatitis B. Antivir Ther 2004; 9:679-693.
8. Bartholomeusz A, Locarnini S. Antiviral drug resistance: clinical consequences and molecular aspects. Semin Liver Dis 2006; 26:162-70.
9. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, Richman DD, Carman WF, Dienstag JL, et al. Nomenclature for antiviral-resistance human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. Hepatology 2001; 33:751-7.
10. Bartholomeusz A, Tehan BG, Chalmers DK. Comparisons of the HBV and HIV polymerase, and antiviral resistance mutations. Antivir Ther 2004; 9:149-60.
11. Chang TT, Gish RG, Hadziyannis SJ, Cianciara J, Rizzetto M, Schiff ER, Pastore G, Bacon BR, Poynard T, Joshi S, Klesczewski KS, Thiry A, Rose RE, Colonno RJ, Hindes RG; BEHoLD Study Group. A dose-ranging study of the efficacy and tolerability of entecavir in Lamivudine-refractory chronic hepatitis B patients. Gastroenterology 2005; 129(4):1198-209.
12. Ling R, Harrison TJ. Functional analysis of mutations conferring lamivudine resistance on hepatitis B virus. J Gen Virol 1999; 80 (3):601-6.
13. Delaney WE, Yang H, Westland CE, Das K, Arnold E, Gibbs CS, et al. The hepatitis B virus polymerase mutation rtV173L is selected during lamivudina therapy and enhances viral replication in vitro. J Virol 2003; 77:11833-41.
14. Angus P, Vaughan R, Xiong S, Yang H, Delaney W, Gibbs C, et al. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with development of a novel mutation in the HBV polymerase. Gastroenterology 2003; 125:292-7.
15. Osiowy C, Villeneuve JP, Heathcote EJ, Giles E, Borlang J. Detection of rtN236T and rtA181V/T mutations associated with resistance to adefovir dipivoxil in samples from patients with chronic hepatitis B virus infection by the INNO-LiPA HBV DR line probe assay (version 2). J Clin Microbiol 2006; 44(6):1994-7.
16. Villet S, Ollivet A, Pichoud C, Barraud L, Villeneuve JP, Trépo C, Zoulim F. Stepwise process for the development of entecavir resistance in a chronic hepatitis B virus infected patient. J Hepatol 2007; 46(3):531-8.
17. Colonno RJ, Rose R, Baldick CJ, Levine S, Pokornowski K, Yu CF, Walsh A, Fang J, Hsu M, Mazzucco C, Eggers B, Zhang S, Plym M, Klesczewski K, Tenney DJ. Entecavir resistance is rare in nucleoside naïve patients with hepatitis B. Hepatology 2006; 44(6):1656-65.
18. Lai CL, Leung N, Teo EK, Tong M, Wong F, Hann HW, Han S, Poynard T, Myers M, Chao G, Lloyd D, Brown NA; Telbivudine Phase II Investigator Group. A 1-year trial of telbivudine, lamivudine, and the combination in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. Gastroenterology 2005; 129(2):528-36.
19. Liaw YF, Gane E, Leung N, Zeuzem S, Wang Y, Lai CL, Heathcote EJ, Manns M, Bzowej N, Niu J, Han SH, Hwang SG, Cakaloglu Y, Tong MJ, Papatheodoridis G, Chen Y, Brown NA, Albanis E, Galil K, Naoumov NV; GLOBE Study Group. 2-Year GLOBE trial results: telbivudine Is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 2009; 136(2):486-95.
20. Heathcote EJ, Gane E, de man RA, et al., Two year tenofovirs disoproxil fumarate (TDF) treatment and adefovir dipivoxil (ADV) switch data in HBeAg positive patients with chronic hepatitis B (study 103), preliminary analysis. Hepatology 2008, 48, Suppl 1:376A.
21. Locarnini SA, Yuen L. Molecular genesis of drug-resistant and vaccine-escape HBV mutants. Antivir Ther 2010; 15(3 Pt B):451-61.
22. Rhee SY, Margeridon-Thermet S, Nguyen MH, Liu TF, Kagan RM, Beggel B, Verheyen J, Kaiser R, Shafer RW. Hepatitis B virus reverse transcriptase sequence variant database for sequence analysis and mutation discovery. Antiviral Res 2010.
23. Locarnini S, Hatzakis A, Heathcote J, Keeffe EB, Liang TJ, Multimer D, et al. Management of antiviral resistance in patients with chronic hepatitis B. Antivir Ther 2004; 9:679-93.
24. Severini A, Liu X-Y, Wilson J, Tyrell D. Mechanism of inhibition of duck hepatitis B virus polymerase by (-)-b-L-2',3'-dideoxy-3'-thyacytidine. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39:1430-5.
25. Liaw YF, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 2000; 119:172-80.

26. Leung NW, Lai CL, Chang TT, Guan R, Lee CM, Ng KY, et al. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis b enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. Hepatology 2001; 33:1527-32.

27. Chang TT, Lai CL, Chien RN, Guan R, Lim SG, Lee CM, et al. Four years of lamivudine treatment in Chinese patients with chronic hepatitis B. J Gastroenterol Hepatol 2004; 19:1276-82.

28. Melegari M, Scaglioni PP, Wands JR. Hepatitis B virus mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. Hepatology 1998; 27:628-33.

29. Locarnini S. Hepatitis B viral resistance: mechanisms and diagnosis. J Hepatol 2003; 39:S124-S32.

30. Ogata N, Fujii K, Takigawa S, Nomoto M, Ichida T, Asakura H. Novel patterns of amino acid mutations in the hepatitis B virus polymerase in association with resistance to lamivudina therapy in Japanese patients with chronic hepatitis B. J Med Virol. 1999; 59:270-6.

31. Das K, Xiong X, Yang H, Westland CE, Gibbs CS, Sarafianos SG, et al. Molecular modeling and biochemical characterization reveal the mechanism of hepatitis B polymerase resistance to lamivudine (3TC) and emtricitabine (FTC). J Virol 2001; 75:4771-9.

32. Lai CL, Dienstag J, Schiff E, Leung NW, Atkins M, Hunt C, et al. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudina therapy for patients with chronic hepatitis B. Clin Infect Dis 2003; 36:687-96.

33.Yuen MF, Sablon E, Hui CK, Yuan HJ, Decraemer H, Lai CL. Factors associated with hepatitis B virus DNA breakthrough in patients receiving prolonged lamivudine therapy. Hepatology 2001; 34:785-9.

34. Villeneuve JP, Durantel D, Durantel S, Westland C, Xiong S, Brosgart CL, et al. Selection of hepatitis B virus strain resistant to adefovir in a liver transplantation patient. J Hepatol 2003; 39:1085-9.

35. Schildgen O, Sirma H, Funk A, Olotu C, Wend UC, Hartmann H, et al. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. N Engl J Med 2006; 354:1807-12.

36. Locarnini S, Qi X, Arterburn S, Snow A, Brosgart CL, Currie G, et al. Incidence and predictors of emergence of adefovir resistant HBV during four years of adefovir dipivoxil (ADV) therapy for patients with chronic hepatitis B (CHB) (abstract). J Hepatol 2005; 42 Suppl 2:A36.

37. Hadziyannis S, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HbeAg-negative chronic hepatitis B. N Engl J Med 2005; 352:2673-81.

38. Fung SK, Chae HB, Fontana RJ, Conjeevaram H, Marrero J, Oberhelman K, et al. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. J Hepatol 2006; 44:283-90.

39. Yang H, Westland CE, Delaney WE, Heathcote EJ, Ho V, Fry J, et al. Resistance surveillance in chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil for up to 60 weeks. Hepatology 2002; 36:464-73.

40. Tenney DJ, Levine SM, Rose RE, Walsh AW, Weinheimer SP, Discotto L, et al. Clinical emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to lamivudine. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48:3498-507.

41. Colonno RJ, Rose R, Levine S, Baldick J, Pokornowski K, Plym M, et al. Entecavir two year resistance update: no resistance observed in nucleoside naïve patients and low frequency resistance emergence in lamivudine refractory patients. Hepatology 2005; 42 Suppl 1:A962 [p573A].

42. Ono SK, Kato N, Shiratori Y, Kato J, Goto T, Schinazi RF, et al. The polymerase L528M cooperates with nucleotide binding-site mutations, increasing hepatitis B virus replication and drug resistance. J Clin Invest 2001; 107:449-55.

43. Seigneres B, Pichoud C, Martin P, Furman P, Trepo C, Zoulim F. Inhibitory activity of dioxolane purine analogs on wild-type and lamivudine-resistant mutants of hepadnaviruses. Hepatology 2002; 36:710-22.

44. Van Boemmel F, Feucht HH, Spengler U, Möller B, Sarrazin C, Zöllner B, et al. Tenofovir rescue for patients with lamivudine resistant HBV infection with suboptimal virologic response to adefovir. Hepatology 2005; 42:589A.

45. Sheldon J, Camino N, Rodes B, Bartholomeusz A, Kuiper M, Tacke F, et al. Selection of hepatitis B virus polymerase mutations in HIV-coinfected patients treated with tenofovir. Antivir Ther 2005; 10:727-34.

46. Delaney W, Yang H, Miller M, Gibbs C, Xiong S. Lamivudine-resistant HBV is cross-resistant to L-dT and L-dC in vitro. J Hepatol 2002; 36 Suppl 1:89.

47. Yang H, Qi X, Sabogal A, Millar M, Xiong S, Delaney WE. Cross-resistance testing of next-generation nucleoside and nucleotide analogues against lamivudine-resistant HBV. Antivir Ther 2005; 10:625-33.

48. Brunelle MN, Jacquard AC, Pichoud C, Durantel D, Carrouée-Durantel S, Villeneuve JP, et al. Susceptibility to antivirals of a human HBV strain with mutations conferring resistance to both lamivudine and adefovir Hepatology. 2005; 41:1391-8.

49. Norder H, Courouce AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. Virology 1994; 198:489-503.

50. Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, Zoulim F, Fried M, Schinazi RF, et al. A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. J Gen Virol 2000; 81:67-74.

51. Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: A new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. J Gen Virol 2002; 83:2059-73.

52. Echevarría JM, León P. Hepatitis B virus genotypes identified by a Line Probe Assay (LiPA) among chronic carriers from Spain. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004; 22:452-4.

53. Kurbanov F, Tanaka Y, Mizokami M. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. Hepatol Res. 2010; 40(1):14-30.

54. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 2000; 118:554-9.

55. Niesters HGM, Pas S, De Man RA. Detection of hepatitis B virus genotypes and mutants: current status. J Clin Virol 2005; 34 Suppl 1:4-8.

56. Zollner B, Petersen J, Puchhammer-Stockl E, Kletzmayr J, Sterneck M, FischerL, et al. Viral features of lamivudine resistant hepatitis B genotypes A and D. Hepatology 2004; 39:42-50.

57. Buti M, Cotrina M, Valdés A, Jardi R, Rodríguez-Frías F, Esteban R. Is hepatitis B virus subtype testing useful in predicting virological response and resistance to lamivudine? J Hepatol 2002; 6:445-6.

58. Westland CE, Delaney WE, Yang H, Chen SS, Marcellin P, Hadziyannis S, et al. Hepatitis B virus genotypes and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxil. Gastroenterology 2003; 125:107-16.

59. Damerow H, Yuen L, Wiegand J, Walker C, Bock CT, Locarnini S, Tillmann HL. Mutation pattern of lamivudine resistance in relation to hepatitis B genotypes: hepatitis B genotypes differ in their lamivudine resistance associated mutation pattern. J Med Virol 2010; 82(11):1850-8.