



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Perfil de resistencia de rilpivirina

Arkaitz Imaz^{a,*}, Federico García^b, Silvana di Yacovo^a y Josep M. Llibre^c

^aUnidad de VIH, Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España

^bServicio de Microbiología, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, España

^cUnidad de VIH y Fundació Lluita contra la SIDA, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

RESUMEN

Palabras clave:

VIH-1
Rilpivirina
Resistencia a antirretrovirales
Mutaciones de resistencia a VIH-1

Rilpivirina (RPV) es un nuevo inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa (INNTI) de segunda generación, aprobado para el tratamiento de pacientes con infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)-1 *naïve* con carga viral plasmática basal ≤ 100.000 copias/ml, junto con 2 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN). RPV es un derivado diarilpirimidínico con potente actividad antiviral *in vitro* frente a cepas salvajes de VIH-1 y conserva actividad frente a diversas variantes virales con mutaciones de resistencia a los INNTI de primera generación, como la mutación *K103N*. Los estudios *in vitro* y los ensayos clínicos fase III han permitido identificar 16 mutaciones de resistencia a RPV: *K101E/P*, *E138A/G/K/Q/R*, *V179L*, *Y181C/I/V*, *Y188L*, *H221Y*, *F227C* y *M230I/L*. El riesgo de fracaso virológico en pacientes tratados con RPV y 2 ITIAN con carga viral basal ≤ 100.000 copias/ml es bajo, pero en un elevado porcentaje de estos pacientes se selecciona resistencia, tanto a RPV como a ITIAN. La mutación de resistencia a RPV más frecuente en estos casos es la *E138K*, que habitualmente emerge en combinación con *M184I*, debido a un doble efecto compensatorio de esta asociación, ocasionando resistencia a RPV y, al mismo tiempo, resistencia a lamivudina y emtricitabina. La selección de resistencia a RPV confiere resistencia cruzada al resto de INNTI, destacando el alto porcentaje de casos con resistencia a etravirina.

© 2013 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Resistance profile of rilpivirine

ABSTRACT

Keywords:

HIV-1
Rilpivirine
HIV-1 resistance
HIV-1-resistance mutations

Rilpivirine (RPV) is a new second-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) approved for use in combination with two nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitors (NRTI) as initial therapy in treatment-naïve HIV-1-infected patients with a baseline viral load $\leq 100,000$ copies/mL. RPV is a diarylpyrimidine derivative with potent *in vitro* activity against multiple HIV-1 variants with resistance mutations to first-generation NNRTI such as *K103N*. *In vitro* studies and phase III clinical trials have allowed the identification of 16 mutations associated with resistance to RPV *K101E/P*, *E138A/G/K/Q/R*, *V179L*, *Y181C/I/V*, *Y188L*, *H221Y*, *F227C* and *M230I/L*. The risk of virologic failure in patients receiving RPV plus 2 NRTI with plasma viral load $\leq 100,000$ copies/mL is low, but a high percentage of patients failing RPV develop resistance mutations to both RPV and NRTI. The most common resistance mutation that emerges in this setting is *E138K*. This mutation is usually associated with *M184I* due to a double compensatory effect of this combination, which confers resistance to RPV, as well as to lamivudine and emtricitabine. The emergence of RPV resistance confers cross-resistance to all NNRTI and, importantly, high percentages of cross-resistance to etravirine.

© 2013 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Rilpivirina (RPV) es un nuevo inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa (INNTI) de segunda generación aprobado para el tratamiento de pacientes con infección por virus de la inmunodeficiencia

humana (VIH)-1 *naïve* con carga viral (CV) plasmática basal ≤ 100.000 copias/ml, junto con 2 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN). Igual que etravirina (ETR), RPV es un derivado diarilpirimidínico con actividad antiviral potente frente a cepas salvajes de VIH-1. Gracias a sus características moleculares, tiene actividad antiviral también frente a algunas variantes de VIH-1 resistentes a INNTI de primera generación, efavirenz (EFV) y nevirapina (NVP), dependiendo del patrón mutacional seleccionado¹. De

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: aimaz@bellvitgehospital.cat (A. Imaz).

forma similar al resto de INNTI, RPV se une de forma no competitiva a un pequeño bolsillo hidrofóbico cercano al sitio activo de la transcriptasa inversa del VIH-1 e inhibe de forma alostérica su actividad enzimática y, por tanto, la replicación viral². Sin embargo, dentro del sitio de unión a la transcriptasa inversa del VIH-1, RPV tiene una mayor afinidad por aminoácidos en posiciones muy conservadas. Estos son, por ejemplo, el residuo Trp229, una posición donde se producen menos mutaciones que en otras posiciones fundamentales para la unión de EFV y NVP como son Tyr181 y Tyr 188³. Además, gracias a la flexibilidad que le confieren sus 3 anillos aromáticos, RPV es una molécula capaz de adoptar diferentes cambios de conformación y unirse al sitio diana, incluso en presencia de mutaciones de resistencia en posiciones clave que impiden la unión de los INNTI de primera generación. Así, por ejemplo, la presencia de la mutación *K103N*, la más frecuente en los pacientes que fracasan a un tratamiento con ITINAN de primera generación, sobre todo EFV, y que confiere resistencia completa a EFV y NVP, no compromete la actividad de RPV¹⁻³.

La ausencia de afectación de la sensibilidad a RPV en presencia de variantes virales con una única mutación de resistencia a NVP o EFV en estudios *in vitro*, sugirió inicialmente que la barrera genética para la selección de resistencia del VIH-1 de RPV era mayor que en el caso de los INNTI de primera generación¹. Sin embargo, los ensayos clínicos en los que se ha evaluado la eficacia de RPV en pacientes con infección por VIH-1 han puesto de manifiesto que en los pacientes tratados con 2 ITIAN y RPV, el riesgo de fracaso virológico y de selección de mutaciones de resistencia es mayor que en los tratados con 2 ITIAN y EFV, especialmente en el subgrupo de pacientes con una CV plasmática (ARN VIH-1) > 100.000 copias/ml⁴⁻⁸.

En este artículo se revisan los estudios *in vitro* y ensayos clínicos que han permitido definir el perfil de resistencia de RPV.

Estudios *in vitro*

El punto de corte establecido inicialmente para definir la resistencia fenotípica a RPV *in vitro* (*biological cut-off*, BCO) es un aumento de la CI_{50} respecto a la cepa salvaje (*fold change*, FC) de 3,7 veces¹.

Actividad de rilpivirina frente a variantes de VIH-1 con resistencia a inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa

En estudios iniciales se evaluó la actividad de RPV *in vitro* frente a 55 variantes de VIH-1 con mutaciones de resistencia a INNTI obtenidas mediante mutagénesis dirigida¹. RPV mantiene su actividad antiviral, de forma aislada, en presencia de la mayoría de mutaciones de resistencia a ITINAN: *V90I*, *L100I*, *K101E/Q*, *K103N/S*, *V106A/M*, *V108I*, *E138A/G/K/Q/R/S*, *V179D/E/F/T*, *Y181C*, *Y188L*, *G190A/S*, *H221Y*, *M230I/L/V* y *M236L*. La mutación *Y181C* no confiere por sí sola resistencia a RPV (FC 2,7) mientras que las mutaciones *K101P* (FC 51,7) y *Y181I/V* (FC 15,3 y 12, respectivamente) sí reducen la actividad de RPV de forma importante *in vitro*. La presencia de la mutación *K103N* no afecta a la actividad de RPV, pero en combinación con otras mutaciones sí puede aumentar la resistencia a RPV (p. ej., *K103N+L100I* que confiere un FC de 7 y, sobre todo, *K103N+Y181I* que confiere un FC de 95)¹.

De las 16 variantes de VIH-1 estudiadas con 2 mutaciones de resistencia a ITINN, RPV mostró actividad frente a 7 de ellas (*L100I+K101E*, *K101E+K103N*, *K103N+F227L*, *K103N+V108I*, *K103N+Y181C*, *V179I+Y181C*, *Y181C+G190S*), mientras que se observó resistencia en el resto (*L100I+K103N*, *K103N+Y181I*, *E138K+M230L*, *V179D+Y181C*, *V179E+Y181C*, *V179F+Y181C*, *V179F+Y181I*, *Y181C+F227L*, *Y181C+Y188L*). Se estudiaron 8 variantes de VIH-1 con 3 mutaciones de resistencia a ITINN y todas ellas se mostraron resistentes a RPV¹.

Por otro lado se estudió la actividad de RPV *in vitro* frente a 4.786 muestras clínicas con mutaciones de resistencia a INNTI de primera generación, EFV o NVP. Se observó que el 62% de las cepas virales mantenía sensibilidad a RPV, un porcentaje similar al de actividad de ETR, mientras que solo el 11% era sensible a EFV y el 5% a NVP¹.

Más recientemente se ha estudiado el efecto de otras mutaciones sobre la actividad de RPV, tanto en muestras clínicas como en estudios de mutagénesis dirigida. La mutación *E138A* confiere resistencia a RPV de forma similar a *E138G/K/Q*⁹. Otro estudio reciente, en el que se analizaron genotipos y fenotipos de 20.004 muestras clínicas, ha demostrado que la mutación *Y188L* confiere resistencia a RPV con un FC de 9,2, situándose en cuarto lugar en cuanto al impacto sobre la actividad de RPV, por detrás de *K101P*, *Y181I* e *Y181V*. El estudio de la actividad de RPV frente a mutantes *Y188L* obtenidos mediante mutagénesis dirigida confirmó estos resultados¹⁰.

Emergencia de mutaciones de resistencia a rilpivirina en cultivos celulares

En estudios realizados en cultivos con células T linfoblásticas humanas infectadas con la cepa de VIH-1 IIIB, así como con virus recombinantes de muestras clínicas de diferentes subtipos de HIV-1 grupo M (A1, AE, AG, B, BG, C, D, F1, G, y H) con alta multiplicidad de infección (ratio de la cantidad de virus inoculado por célula del cultivo celular), no aparecieron mutaciones de resistencia después de 32 días de exposición a RPV en concentraciones ≥ 40 nM (14,66 ng/ml) (CI_{50} de RPV para cepa salvaje de VIH-1 y corregida por unión a proteínas plasmáticas: 13,5 ng/ml; C_{trough} de RPV en ensayos clínicos fase III: 80 ng/ml)¹¹. Tampoco se observaron nuevas mutaciones cuando RPV se expuso a variantes de VIH-1 con las mutaciones *K103N* o *Y181C*. En cambio, concentraciones de RPV de 10 nM (3,66 ng/ml) permitieron la aparición de diferentes combinaciones de las mutaciones *L100I*, *K101E*, *V106I*, *Y181C*, *Y181I* y *M230I*.

Por otro lado, en experimentos con cepas salvajes de subtipos de VIH-1 AE, AG, B, C y D, y cepas resistentes de subtipo B, con baja multiplicidad de infección y exposición a dosis crecientes de RPV, se observó emergencia de nuevas mutaciones de resistencia con concentraciones iniciales de RPV entre 5 nM y 16 μ M. Un mayor número de mutaciones de resistencia se asoció con un nivel más alto de resistencia a RPV¹.

En conjunto, los estudios genotípicos de las cepas virales emergentes bajo presión selectiva de RPV, realizados en experimentos con variantes de VIH-1 de diferentes orígenes y perfiles genéticos, ha mostrado un patrón de resistencia a RPV *in vitro* que incluye las siguientes mutaciones: *V90I*, *L100I*, *K101E*, *V106A/I*, *V108I*, *E138G/K/Q/R*, *V179F/I*, *Y181C/I*, *Y188L*, *V189I*, *G190E*, *H221Y*, *F227C* y *M230I/L*¹.

Los estudios *in vitro* han mostrado que RPV tiene una barrera genética para la selección de resistencia *in vitro* superior a los INNTI de primera generación y que mantiene actividad frente a un gran número de variantes de VIH-1 resistentes a EFV y NVP. El patrón genotípico de resistencia a RPV muestra bastante similitud con el patrón de resistencia a ETR y, por tanto, es esperable que exista una amplia resistencia cruzada entre ambos fármacos^{1,12}.

Resistencia a rilpivirina en ensayos clínicos en pacientes que reciben tratamiento triple con rilpivirina y 2 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos

La información acerca de la selección de mutaciones de resistencia a RPV y el impacto de estas mutaciones en la reducción de la actividad de RPV en pacientes tratados con este fármaco, procede principalmente de los ensayos clínicos fase III ECHO (Efficacy Comparison in Treatment-naive, HIV-infected Subjects of TMC278 and Efavirenz), THRIVE (TMC278 against HIV, in a once-daily regimen versus efavirenz) y STaR (Single-Tablet Regimen)^{4-5,8}. En estos ensayos clínicos se comparó la eficacia y seguridad de RPV a dosis de 25 mg 1 vez al día con EFV a dosis de 600 mg al día, ambos administrados junto con 2 ITIAN (tenofovir/emtricitabina [TDF/FTC] en los estudios ECHO y STaR, y TDF/FTC o abacavir/lamivudina [3TC] o zidovudina/3TC en el estudio THRIVE). Se excluyó a los pacientes en los que se hubiera documentado, en el estudio genotípico previo al inicio del tratamien-

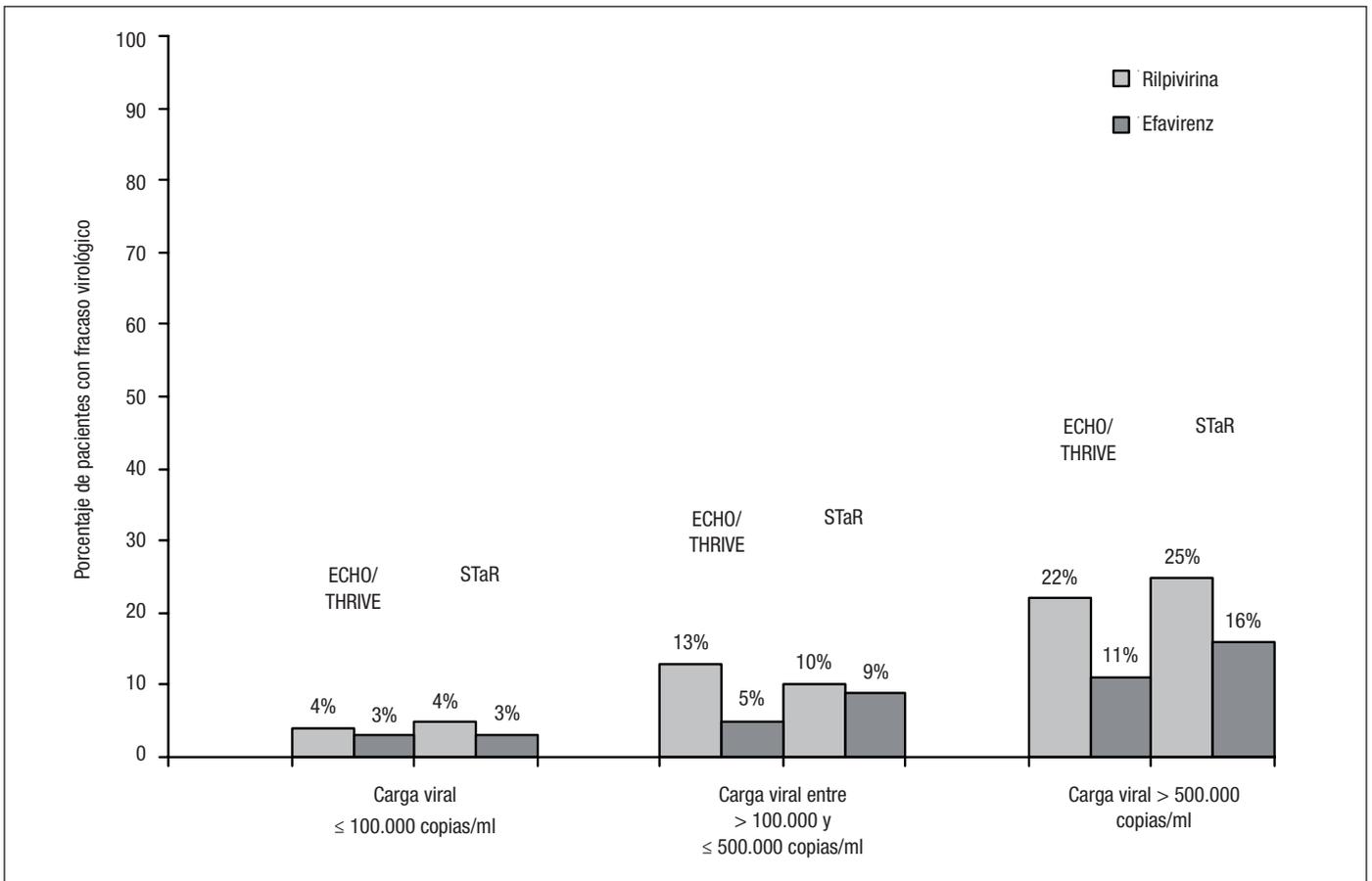


Figura 1. Fracaso virológico con rilpivirina y efavirenz en los ensayos clínicos ECHO/THRIVE y STaR según la carga viral basal.

to, la presencia de alguna mutación de resistencia a INNTI entre un listado de 39 mutaciones (*A98G*, *L100I*, *K101E/P/Q*, *K103H/N/S/T*, *V106A/M*, *V108I*, *E138A/G/K/Q/R*, *V179D/E*, *Y181C/I/V*, *Y188C/H/L*, *G190A/C/E/Q/S/T*, *P225H*, *F227C*, *M230I/L*, *P236L*, *K238N/T* e *Y318F*)^{4,5,8}.

Los porcentajes de respuesta terapéutica a las 48 semanas en el análisis conjunto de los estudios ECHO y THRIVE, según el criterio de valoración principal (CV confirmada < 50 copias/ml en el análisis por intención de tratamiento-TLOVR) fueron el 84% en la rama de RPV y el 82% en la rama de EFV, cumpliéndose el criterio de no inferioridad de RPV respecto a EFV⁶. En el estudio STaR, la respuesta terapéutica a las 48 semanas (supresión virológica < 50 copias/ml según análisis *snapshot*) fue del 86% en la rama RPV/FTC/TDF y del 82% en la rama EFV/FTC/TDF, cumpliendo también el criterio de no inferioridad de RPV respecto a EFV⁸. Sin embargo, en los estudios ECHO/THRIVE, un mayor porcentaje de pacientes tratados con RPV presentó fracaso virológico (el 9 frente al 5%), que se agruparon especialmente en los sujetos con CV basal > 100.000 copias/ml. En estos pacientes, el porcentaje de fracasos virológicos ascendió al 17% en el grupo de RPV y al 7% en el grupo de EFV⁶. En el estudio STaR se observó una tasa significativamente mayor de fracaso virológico con RPV solo en sujetos con CV > 500.000 copias, aunque no en aquellos con 100.000-500.000 copias/ml⁸ (fig. 1).

Datos genotípicos

En los pacientes con fracaso virológico y estudio genotípico de resistencia disponible en los estudios ECHO y THRIVE, no se hallaron diferencias significativas en el porcentaje de nuevas mutaciones de resistencia a INNTI entre los pacientes tratados con RPV o con EFV (el 63 frente al 54%; $p = 0,49$), mientras que el porcentaje de nuevas mutaciones de resistencia a ITIAN (principalmente *M184I/V*) fue sig-

nificativamente superior en el grupo de RPV (el 68 frente al 32%; $p = 0,003$). No hubo diferencias en los porcentajes de selección de mutaciones de resistencia en ambos grupos según se tratara de pacientes infectados por VIH-1 subtipo B o subtipo distinto al B⁷.

Se dispuso de estudio genotípico de resistencia en 62 de los 72 pacientes que presentaron fracaso virológico en los grupos de tratamiento con RPV + 2 ITIAN. De estos, en 44/62 (71%) se documentaron nuevas mutaciones de resistencia, en 39/62 (63%) mutaciones de resistencia a INNTI, en 42/62 (68%) a ITIAN y en 18/62 (29%) a ambas familias. Los porcentajes de mutaciones de resistencia a INNTI, ITIAN o a las 2 familias fueron superiores en los pacientes con CV basal > 100.000 copias/ml en comparación con los que tenían una CV basal ≤ 100.000 copias/ml (fig. 2). Las mutaciones de resistencia a INNTI más frecuentes (detectadas en al menos 2 pacientes) fueron *E138K* (45%), *K101E* (13%), *H221Y* (10%), *V90I*, *Y181C*, *V189I* (8% cada una), *L100I*, *V179I*, *E138Q* y *F227L* (3% cada una) (fig. 3). En cuanto a las mutaciones de resistencia a ITIAN, las más frecuentes tras el fracaso virológico a RPV fueron *M184I* (47%), *M184V* (23%), *K219E*, *K65R* (5% cada una), *Y115F*, *K65N* y *A62V* (3% cada una) (fig. 3). Estos datos fueron confirmados en el estudio STaR. En este estudio, los porcentajes de pacientes que desarrollaron resistencia a RPV tras el fracaso virológico fueron el 2, 5 y 19%, según la CV basal < 100.000, 100.000-500.000 y > 500.000 copias/ml, respectivamente, y las mutaciones de resistencia más frecuentes fueron *E138K/Q*, *Y181C/I* y *K101E* para los INNTI, y *M184V/I* para los ITIAN⁸.

La mutación de resistencia a RPV más frecuente en estos ensayos clínicos fue *E138K*, una mutación muy poco habitual en los genotipos de VIH-1 de pacientes tratados con otros INNTI (EFV, NVP o ETR) y cuyo impacto clínico no era bien conocido hasta el momento. Únicamente, un estudio realizado con muestras clínicas había mostrado resistencia de bajo grado a ETR en clones virales con la mutación

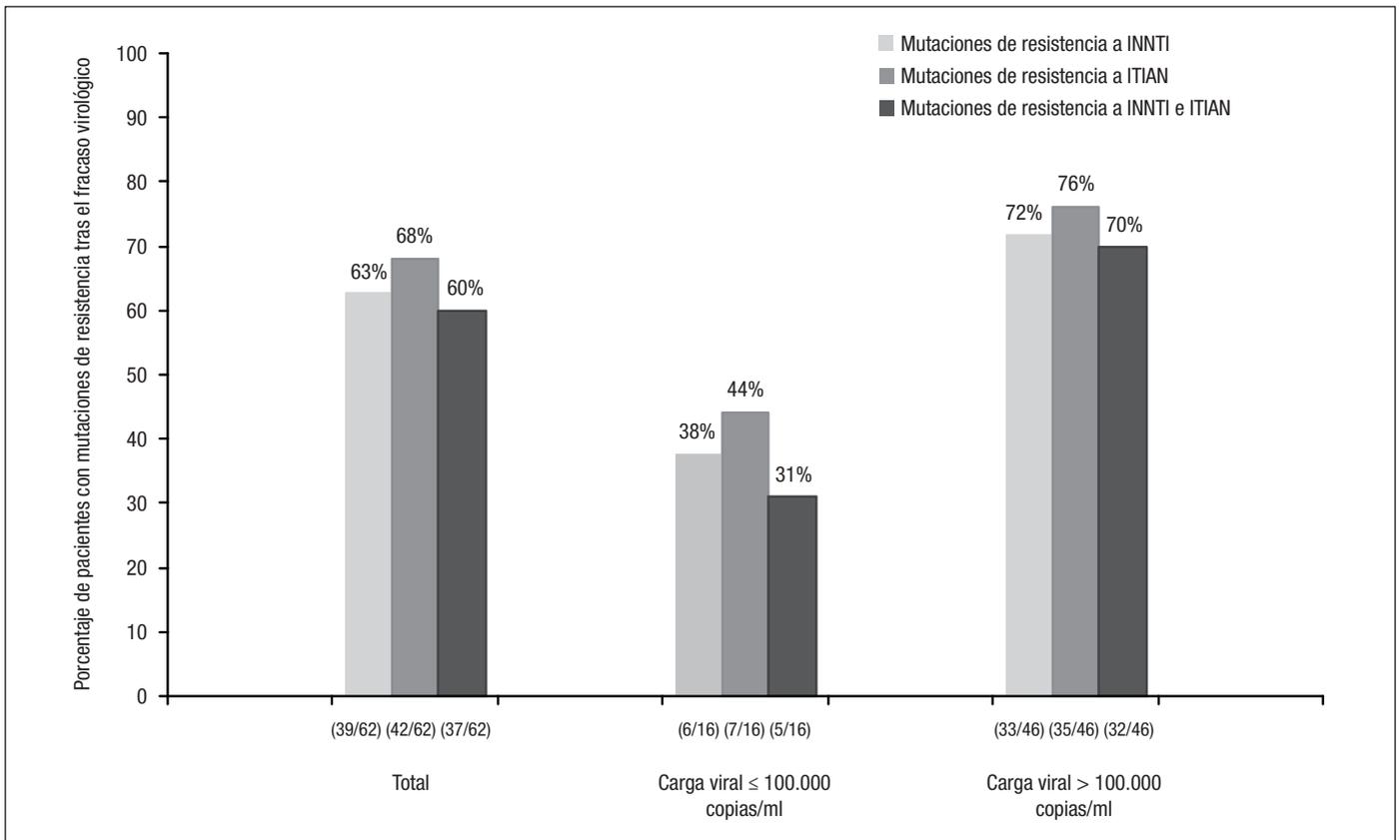


Figura 2. Selección de mutaciones de resistencia en pacientes con fracaso virológico tratados con rilpivirina y 2 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN) en los ensayos clínicos ECHO y THRIVE. INNTI: inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa.

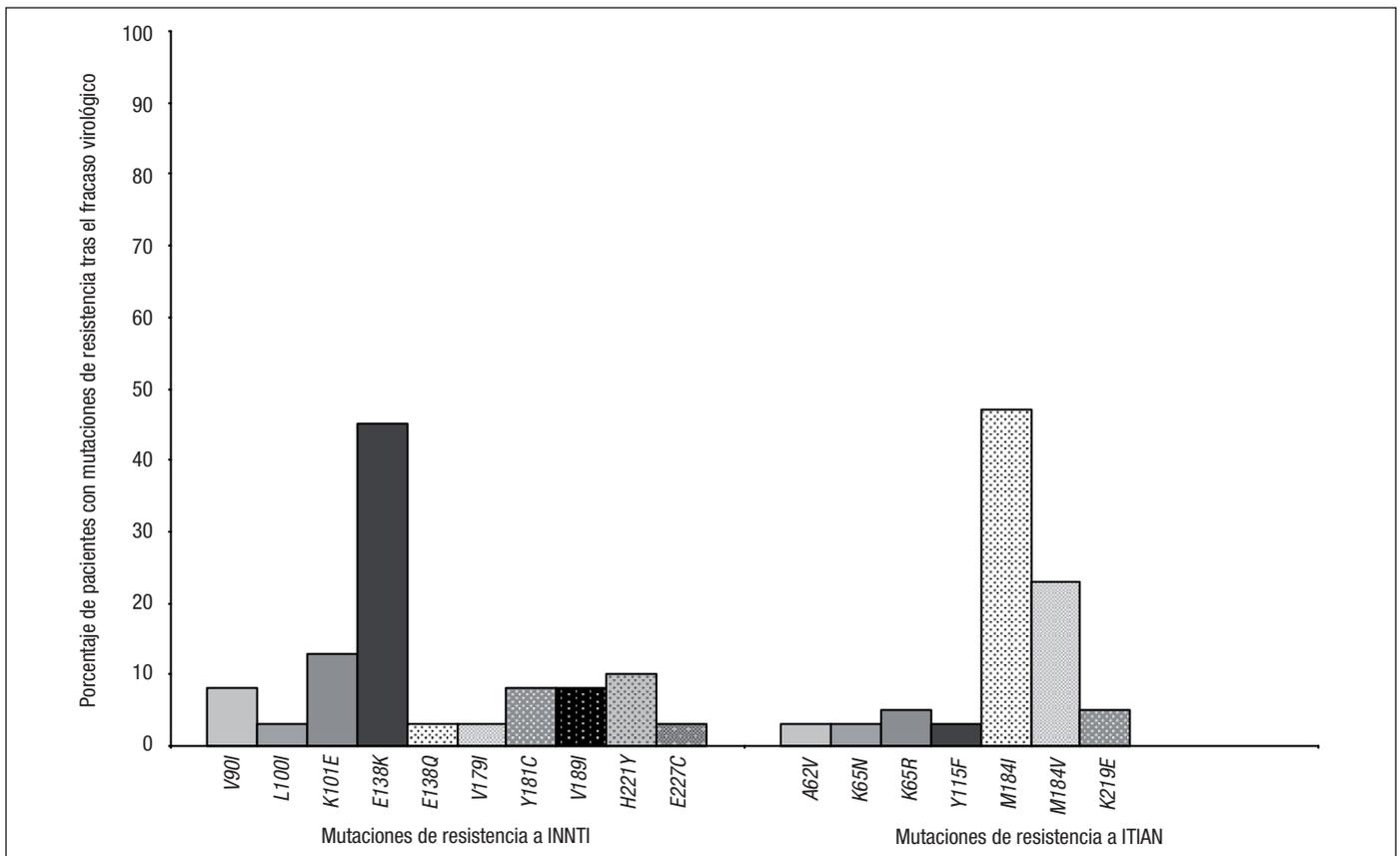


Figura 3. Mutaciones de resistencia más frecuentes en pacientes con fracaso virológico tratados con rilpivirina y 2 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN) en los ensayos clínicos ECHO y THRIVE. INNTI: inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa.

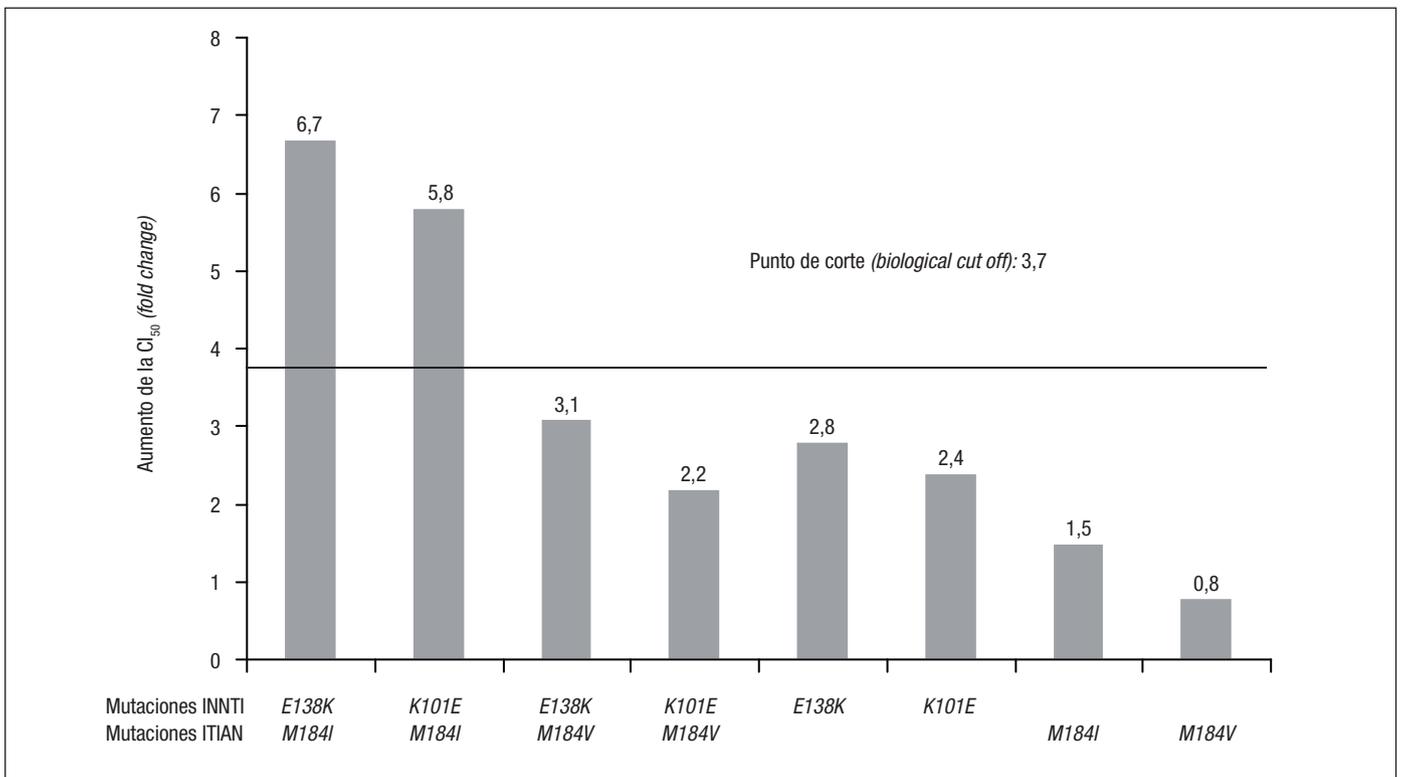


Figura 4. Nivel de resistencia a rilpivirina (RPV) que confieren las mutaciones más frecuentes en el fracaso virológico con RPV e inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN). INNTI: inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana. Adaptado de Rinsky et al⁷.

E138K, sobre todo en subtipos de VIH-1 no B¹³. En los ensayos clínicos ECHO, THRIVE y STaR, la mutación *E138K* no se observó de forma aislada en ningún caso, apareciendo siempre en asociación con otras mutaciones de resistencia a INNTI y/o ITIAN. Por otro lado, la mutación de resistencia a ITIAN más frecuente fue *M184I*, una mutación que confiere resistencia de alto grado a 3TC y FTC, pero que no se detecta habitualmente, ya que aparece como mutación de transición en fases muy precoces del fracaso virológico y es sustituida posteriormente por *M184V*.

En los estudios ECHO/THRIVE, 37 pacientes (60%) de los que tuvieron fracaso virológico seleccionaron la combinación de al menos 1 mutación de resistencia a INNTI y otra a ITIAN. La combinación más frecuente fue *E138K+M184I*, presente en 17 pacientes (46%) y en 6 de ellos (16%) estas fueron las únicas mutaciones que aparecieron. Otras combinaciones frecuentes fueron *E138K+M184V* (22%) y *E138K+K101E+M184I* (11%)⁷.

No se observaron diferencias en los porcentajes de emergencia de mutaciones de resistencia a INNTI e ITIAN ni tampoco en la frecuencia de estas mutaciones o combinaciones de mutaciones en función del subtipo viral (VIH-1 subtipo B o subtipo no B)⁷.

La presencia basal de alguna de las 4 mutaciones de resistencia a INNTI permitidas para la inclusión en los ensayos clínicos ECHO y THRIVE (*V90I*, *V106I*, *V179I* y *V189I*) no se asoció con la respuesta clínica a las 48 semanas de tratamiento con RPV¹⁴.

Datos fenotípicos

Los estudios fenotípicos permiten una mejor interpretación de la resistencia, ya que los estudios genotípicos no pueden medir las interacciones que tienen lugar entre algunas mutaciones que pueden ser antagonistas, compensatorias o sinérgicas. Los estudios de resistencia en los que se correlaciona el genotipo y el fenotipo viral permiten conocer el nivel de resistencia al fármaco que confiere la presencia de cada mutación o asociación de mutaciones. En el estudio de resistencia realizado dentro de los ensayos clínicos ECHO y THRIVE se observó

que en el 50% de los pacientes con fracaso virológico a RPV (31/62), el nivel de resistencia a RPV era superior al BCO (FC o aumento de la CI₅₀ > 3,7 veces). En los pacientes con CV basal < 100.000 copias/ml, el porcentaje de resistencia fenotípica a RPV tras el fracaso virológico fue del 13% (2/16 pacientes) mientras que en aquellos con CV basal > 100.000, el porcentaje de resistencia fenotípica a RPV fue del 63% (29/46 pacientes)⁷. Para confirmar el impacto sobre la actividad de RPV de las mutaciones y combinaciones más frecuentes tras el fracaso virológico con RPV y 2 ITIAN, se realizaron estudios de sensibilidad fenotípica de cepas de VIH-1 mutantes obtenidas mediante mutagénesis dirigida. Las mutaciones *E138K* y *K101E* disminuyen la sensibilidad a RPV sin conferir resistencia completa (FC 2,8 y 2,4, respectivamente). Las combinaciones de *E138K* o *K101E* con *M184I* sí confieren resistencia a RPV (FC > 3,7), pero, en cambio, no ocurre lo mismo si estas mutaciones se asocian con *M184V*⁷ (fig. 4).

Por otro lado, en los casos con resistencia fenotípica a RPV tras el fracaso virológico se observó resistencia cruzada con el resto de INNTI, destacando el alto porcentaje de casos con resistencia cruzada a ETR (EFV 87%, NVP 48%, ETR 90%)⁷.

Mecanismos de selección de resistencia a rilpivirina

Asociación de las mutaciones *E138K* y *M184I* tras el fracaso virológico

Las mutaciones de resistencia más frecuentes observadas tras el fracaso virológico con RPV y 2 ITIAN en los ensayos clínicos ECHO/THRIVE y STaR fueron *E138K* y *M184I*, que muy frecuentemente emergen asociadas.

La combinación *E138K+M184I* y su impacto sobre la resistencia a RPV podría explicarse por un doble efecto sinérgico y compensatorio de ambas mutaciones. Por un lado, la mutación *E138K* confiere resistencia de bajo nivel a RPV (FC de 2,2 a 2,8)^{1,7,12,13}. Por otro lado, la mutación *M184I/V* confiere resistencia de alto nivel a 3TC y FTC, pero no a RPV. Sin embargo, estudios in vitro han demostrado que la asociación *E138K+M184I* incrementa la resistencia a RPV (FC de 4,1 a

6,7), algo que no sucede con la combinación *E138K+M184V*^{7,15,16}. La mutación *E138K* altera el equilibrio de unión/disociación de RPV resultando en un aumento de la tasa de disociación y una pérdida de afinidad por el sitio de unión en la transcriptasa inversa¹⁷. El modo mediante el cual la combinación *M184I* aumenta la resistencia a RPV en presencia de *E138K* no es, de momento, bien conocido, pero podría estar relacionado con una mayor desestabilización del bolsillo hidrofóbico de la transcriptasa inversa y, por tanto, mayor dificultad de unión de RPV en presencia de las 2 mutaciones¹⁵.

Además, la mutación *E138K* podría compensar la pérdida de capacidad replicativa viral producida por *M184I*, pero no tanto en el caso de *M184V*, de forma que las variantes virales con las mutaciones *E138K+M184I* podrían tener cierta ventaja replicativa en comparación con *E138K+M184V*. Hu et al observaron que la capacidad replicativa de los dobles mutantes *E138K+M184I* y *E138K+M184V* era superior que la de virus con las mutaciones *E138K*, *M184I* o *M184V* de forma aislada y de virus *wild type* en presencia de diferentes concentraciones de RPV y de RPV+3TC. Además, este aumento de la capacidad replicativa era superior con la combinación *E138K+M184I* que con *E138K+M184V*¹⁶. Singh et al demostraron que la mutación *M184I* disminuye la actividad catalítica de la transcriptasa inversa y la incorporación de nucleótidos, y que la combinación *E138K+M184I* puede restaurar esta actividad enzimática¹⁷. Aunque este hecho no se ha confirmado en otros estudios¹⁵, ya se había observado también con mutantes *E138K+M184I* expuestos a ETR^{18,19}.

Por otra parte se ha observado que, como resultado de la hipermutagénesis viral condicionada por la actividad de enzimas APOBEC3, podrían preexistir variantes de VIH-1 con la combinación de mutaciones *E138K+M184I* en el reservorio proviral de algunos pacientes sin exposición previa a RPV ni ETR²⁰, lo que, en algunos casos, podría favorecer el fracaso virológico durante el tratamiento con rilpivirina y FTC o 3TC.

Antagonismo entre las mutaciones *E138K* y *Y181C*

Las mutaciones *E138K* y *Y181C* pueden seleccionarse en presencia de RPV, y condicionan pérdida de actividad del fármaco aunque, por sí solas, no presentan resistencia completa¹. En los genotipos virales estudiados de los pacientes con fracaso virológico en los ensayos clínicos ECHO y THRIVE se observó la mutación *Y181C* en 5 pacientes, siempre en asociación con otras mutaciones y solo en un paciente asociada con *E138K*. Estudios in vitro han demostrado que la presencia de la mutación *Y181C* dificulta la emergencia de *E138K* y que, por otro lado, la combinación de *Y181C+E138K* no mejora la capacidad replicativa viral en comparación con la presencia de *E138K* sola^{21,22}.

Valoración genotípica de resistencia a rilpivirina: algoritmos de interpretación

Teniendo en cuenta de forma conjunta las mutaciones observadas tras el fracaso virológico con RPV en ensayos clínicos, las mutaciones seleccionadas tras la exposición a RPV in vitro y las mutaciones asociadas con resistencia fenotípica a RPV en los estudios in vitro, tanto en estudios de mutagénesis dirigida como en muestras clínicas, se han identificado 16 mutaciones de resistencia asociadas con disminución de la sensibilidad del VIH-1 a RPV: *K101E/P*, *E138A/G/K/Q/R*, *V179L*, *Y181C/I/V*, *Y188L*, *H221Y*, *F227C*, *M230I/L*. Este listado de mutaciones es el que considera la asociación IAS-USA como patrón de resistencia genotípica a RPV²³ y es el que se contempla en la ficha técnica del fármaco (excluyendo *Y188L*)^{24,25}. Otros algoritmos de interpretación de resistencia basados en el genotipo incluyen otras mutaciones con efecto demostrado sobre la actividad de RPV in vitro y también otras mutaciones que podrían reducir la actividad de RPV²⁶⁻²⁸. En la tabla 1 se resumen los listados de mutaciones de resistencia a RPV contemplados en las principales guías de interpretación genotípica. Los algoritmos de interpretación de la Universidad de Stanford²⁶

Tabla 1
Mutaciones de resistencia a rilpivirina en las guías y algoritmos de interpretación genotípica*

Mutaciones	IAS-USA ²³	ANRS ²⁸	Stanford University ²⁶	RIS ²⁷
V90I			5	1
A98G			5	
L100I			15	1
K101E	X	X	10	2
K101P	X	X	60	2
K101H			10	
K101T				2
V106A				1
V106I				1
V108I				1
E138A	X	X	5	2
E138G	X	X	15	2
E138K	X	X	30	2
E138Q	X	X	15	2
E138R	X	X	15	2
E138S		X		
V179D			10	
V179E			5	
V179F			15	1
V179I				1
V179L	X	X		1
V179T			5	
Y181C	X	X	30	2
Y181I	X	X	60	2
Y181V	X	X	60	2
Y181S			15	
Y188L	X	X	60	1
G190A			10	
G190S			10	
G190E			15	1
G190Q			15	
G190C			10	
G190V			10	
G190T			10	
H221Y	X	X	5	1
F227C	X		30	
F227L				1
M230I	X	X	0	
M230L	X	X	30	1
M230V		X		

*Los listados de mutaciones de resistencia elaborados por IAS-USA y ANRS no asignan puntuación a las mutaciones en función del grado de resistencia que confieren.

X indica que la mutación esta incluida en cada uno de estos listados.

Los algoritmos de la Universidad de Stanford y de la RIS asignan una puntuación a cada mutación en función del grado de resistencia.

Algoritmo de la Universidad de Stanford: 0-9 puntos, sensible; 10-14 puntos, resistencia potencial de bajo nivel (el virus será sensible al fármaco pero las mutaciones indican exposición previa a fármacos de la misma clase); 15-29, resistencia de bajo nivel; 30-59, resistencia intermedia; ≥ 60 , resistencia de alto nivel.

Algoritmo de la RIS: ≤ 2 puntos, sensible; ≥ 3 puntos, resistente.

y de la Red Española de Investigación en SIDA (RIS)²⁷ asignan una puntuación a cada mutación en función del impacto sobre la actividad del fármaco, y se corrigen continuamente a medida que se generan nuevos datos.

Prevalencia de mutaciones de resistencia a rilpivirina en pacientes *naïve*, pretratados y con fracasos previos con inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa

La prevalencia de mutaciones de resistencia a RPV en pacientes *naïve* es baja. En los ensayos clínicos ECHO y THRIVE se realizó un cribado a 1.895 sujetos, 1.796 de ellos con estudio genotípico¹⁴. De estos se observaron mutaciones de resistencia a INNTI en el 21% y mutaciones de resistencia a RPV en el 5,2%, siendo la más frecuente *E138A* (2,7%), seguida de *K101E* y *E138K* (0,4%), aunque ninguna de ellas por separado confiere resistencia al fármaco. En un estudio realizado en Francia entre 2008 y 2011, la prevalencia de mutaciones de resistencia a RPV en pacientes *naïve* con infección por VIH-1 fue del 4,6% (el 3,7% en genotipos de subtipo B y el 6% en subtipo no B), y las mutaciones más frecuentes fueron *E138A* (3%), *E138K* (0,3%), *H221Y* (0,3%), *E138G* (0,3%) e *Y181C* (0,2%)²⁹.

También se ha estudiado la prevalencia de mutaciones de resistencia a RPV en 15.991 muestras clínicas de pacientes en tratamiento antirretroviral remitidas para realizar estudio genotípico de resistencia en Estados Unidos, entre enero de 2010 y junio de 2012. La mayoría de mutaciones de resistencia a RPV aisladas o en combinación fueron poco frecuentes ($\leq 3\%$) a excepción de *Y181C* (7%). La presencia de mutaciones de resistencia a RPV se asoció con disminución de actividad de RPV y también de ETR en estudios fenotípicos³⁰.

Un estudio realizado en España ha evaluado la presencia de mutaciones de resistencia y la potencial actividad de RPV en pacientes con infección por VIH-1 con fracaso previo con INNTI²⁴. Se analizaron genotipos procedentes de 1.064 pacientes con fracaso previo a EFV, NVP y ETR. Las mutaciones más frecuentes ($> 1\%$) fueron: *K101E* (9,1%), *K101P* (1,4%), *E138A* (3,9%), *Y181C* (21,8%), *H221Y* (8,3%) y *M230L* (1,5%). La mutación *E138K* se observó en un 0,3%, la asociación *K101E+M184I* en el 1% y no se encontró la combinación *E138K+M184I*. Se estimó resistencia a RPV según el algoritmo de la RIS en el 19,3% de los pacientes, siendo menor en los pacientes con fracaso a EFV (14,5%) y mayor en aquellos con fracaso a NVP (25%) y ETR (27,6%)²⁷.

Eficacia de rilpivirina en pacientes con infección por VIH-1 con mutaciones de resistencia a inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa

A pesar de que RPV ha demostrado actividad *in vitro* frente a cepas de VIH-1 con una mutación de resistencia a INNTI y actividad frente a una gran variedad de cepas de VIH-1 con resistencia fenotípica a INNTI de primera generación, no se dispone de información suficiente de ensayos clínicos que hayan evaluado la eficacia de RPV en pacientes con fracaso previo y resistencia a INNTI. Se ha publicado únicamente un pequeño ensayo clínico fase II en el que se comparó la eficacia de RPV a dosis de 25, 50 y 150 mg como sustituto de un inhibidor de la proteasa potenciado con ritonavir (IP/r) o un INNTI, ambos junto con 2 ITIAN, en pacientes con fracaso virológico y, al menos, una mutación de resistencia a INNTI. Al octavo día de tratamiento (objetivo primario) se observó una reducción de la CV plasmática de 0,71 log₁₀ copias/ml cuando se sustituyó un INNTI, y de 1,19 log₁₀ copias/ml cuando se sustituyó un IP/r³¹. Por tanto, no se dispone de información suficiente para poder evaluar la utilidad de RPV en este escenario clínico.

Conclusiones

Los estudios *in vitro* y los datos de los ensayos clínicos fase III han permitido identificar 16 mutaciones asociadas con resistencia a RPV:

K101E/P, *E138A/G/K/Q/R*, *V179L*, *Y181C/I/V*, *Y188L*, *H221Y*, *F227C* y *M230I/L*. La mayoría de estas mutaciones son poco prevalentes en pacientes que no han recibido tratamiento antirretroviral, y no suelen conferir resistencia de moderado o alto nivel por sí solas. Aunque el porcentaje de fracaso virológico en pacientes con CV basal ≤ 100.000 copias/ml tratados con RPV y 2 ITIAN es bajo y comparable al porcentaje de fracaso virológico con EFV y 2 ITIAN, el riesgo de selección de mutaciones de resistencia tras el fracaso, tanto a RPV como a ITIAN, es elevado. La mutación de resistencia a RPV más frecuente en estos casos es la *E138K*, que habitualmente emerge en combinación con *M184I*, debido al doble efecto compensatorio de esta asociación, ocasionando resistencia a RPV y, al mismo tiempo, resistencia a 3TC y FTC. La selección de resistencia a RPV confiere resistencia cruzada con el resto de INNTI, destacando el alto porcentaje de resistencia a ETR.

Por otro lado, aunque la actividad de RPV *in vitro* no se ve afectada por la presencia de algunas mutaciones frecuentes de resistencia a INNTI, como la mutación *K103N*, no hay información de la eficacia de RPV como tratamiento de rescate en fracasos con INNTI de primera generación.

Conflicto de intereses

Arkaitz Imaz ha realizado consultorías, actividades de formación o ha recibido ayudas para la investigación en relación con la infección por VIH de Abbott, Boehringer Ingelheim, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, Janssen-Cilag, Merck Sharp&Dohme y ViiV Healthcare.

Federico García ha realizado consultorías, actividades de formación o ha recibido ayudas para la investigación de Abbott, Gilead Sciences, Merck Sharp&Dohme y ViiV Healthcare.

Silvana di Yacovo ha realizado consultorías, actividades de formación o ha recibido ayudas para la investigación en relación con la infección por VIH de Abbott, Boehringer Ingelheim, Gilead Sciences, Merck Sharp&Dohme y ViiV Healthcare.

Josep M. Llibre ha realizado consultorías, actividades de formación o ha recibido ayudas para la investigación de Abbott, Boehringer Ingelheim, Bristol-Myers Squibb, Gilead Sciences, Janssen-Cilag, Merck Sharp&Dohme y ViiV Healthcare.

Bibliografía

- Azjin H, Tirry I, Vingerhoets J, De Béthune MP, Kraus G, Boven K, et al. TMC278, a next-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), active against wild-type and NNRTI-resistant HIV-1. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:718-27.
- Das K, Bauman J, Clark A, Frenkel YV, Lewi PJ, Shatkin AJ, et al. High-resolution structures of HIV-1 reverse transcriptase/TMC278 complexes: strategic flexibility explains potency against resistance mutations. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:1466-71.
- Lansdon E, Brendza K, Hung M, Wang R, Mukund S, Jin D, et al. Crystal structures of HIV-1 reverse transcriptase with etravirine (TMC125) and rilpivirine (TMC278): implications for drug design. *J Med Chem.* 2010;53:4295-9.
- Molina J, Cahn P, Grinsztejn B, Lazzarin A, Mills A, Saag M, et al. ECHO Study Group. Rilpivirine versus efavirenz with tenofovir and emtricitabine in treatment-naïve adults infected with HIV-1 (ECHO): a phase 3 randomised double-blind active-controlled trial. *Lancet.* 2011;378:238-46.
- Cohen C, Andrade-Villanueva J, Clotet B, Fourie J, Johnson MA, Ruxrungtham K, et al. THRIVE Study Group. Rilpivirine versus efavirenz with two background nucleoside or nucleotide reverse transcriptase inhibitors in treatment-naïve adults infected with HIV-1 (THRIVE): a phase 3, randomised, non-inferiority trial. *Lancet.* 2011;378:229-37.
- Cohen C, Molina J, Cahn P, Clotet B, Fourie J, Grinsztejn B, et al; ECHO Study Group; THRIVE Study Group. Efficacy and safety of rilpivirine (TMC-278) versus efavirenz at 48 weeks in treatment-naïve HIV-1-infected patients: pooled results from the phase 3 double-blind randomized ECHO and THRIVE trials. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;60:33-42.
- Rimsky L, Vingerhoets J, Van Eygen V, Eron J, Clotet B, Hoogstoel A, et al. Genotypic and phenotypic characterization of HIV-1 isolates obtained from patients on rilpivirine therapy experiencing virologic failure in the phase 3 ECHO and THRIVE studies: 48-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;59:39-46.
- Cohen C, Wohl D, Arribas J, Henry K, Van Lunzen J, Bloch M, et al. STaR Study: Single-Tablet Regimen emtricitabine/rilpivirine/tenofovir DF is non-inferior to efavirenz/emtricitabine/tenofovir DF in ART-naïve adults - week 48 Results. 11th

- International Congress on Drug Therapy in HIV Infection. Glasgow, UK; 11-15 November, 2012. Abstract #O425.
9. Haddad M, Napolitano LA, Paquet AC, Evans MC, Petropoulos CJ, Whitcomb J, et al. Impact of HIV-1 reverse transcriptase E138 mutations on rilpivirine drug susceptibility. International Workshop on HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies. Los Cabos, México; June 8-11, 2011. Abstract #10.
 10. Haddad M, Napolitano LA, Paquet A, Evans MC, Petropoulos CJ, Whitcomb J, et al. Mutation Y188L of HIV-1 reverse transcriptase is strongly associated with reduced susceptibility to rilpivirine. 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infection. Seattle, WA USA; March 5-8, 2012. Abstract 695.
 11. Crauwels HM, Van Schaick E, Van Heeswijk RPG, Vanveggel S, Boven K, Vis P. Effect of intrinsic and extrinsic factors on the pharmacokinetics of TMC278 in antiretroviral naïve, HIV-1-infected patients in ECHO and THRIVE. 10th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection. Glasgow, UK; 7-11 November 2010. *Journal of the International AIDS Society.* 2010;13 Suppl 4:P186.
 12. Llibre JM, Schapiro JM, Clotet B. Clinical implications of genotypic resistance to the newer antiretroviral drugs in HIV-1-infected patients with virological failure. *Clin Infect Dis.* 2010;50:872-81.
 13. Asahchop EL, Oliveira M, Wainberg MA, Brenner BG, Moisi D, Toni T, et al. Characterization of the E138K resistance mutation in HIV-1 reverse transcriptase conferring susceptibility to etravirine in B and non-B HIV-1 subtypes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:600-7.
 14. Vingerhoets J, Rimsky L, Van Eygen V, Nijs S, Vanveggel S, Boven K, et al. Preexisting mutations in the rilpivirine Phase III trials ECHO and THRIVE: prevalence and impact on virologic response. *Antivir Ther.* 2013;18:253-6.
 15. Kulkarni R, Babaoglu K, Lansdon EB, Rimsky L, Van Eygen V, Picchio G, et al. The HIV-1 reverse transcriptase M184I mutation enhances the E138K-associated resistance to rilpivirine and decreases viral fitness. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012;59:47-54.
 16. Hu XH, Kuritzkes DR. Impact of interaction of reverse transcriptase mutations E138K and M184I/V on rilpivirine susceptibility and viral fitness of HIV. 19th CROI. Seattle, Washington; March 5-8, 2012. Abstract #706.
 17. Singh K, Marchand B, Rai DK, Sharma B, Michailidis E, Ryan EM, et al. Biochemical mechanism of HIV-1 resistance to rilpivirine. *J Biol Chem.* 2012;287:38110-23.
 18. Hu Z, Kuritzkes DR. Interaction of reverse transcriptase (RT) mutations conferring resistance to lamivudine and etravirine: effects on fitness and RT activity of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol.* 2011;85:11309-14.
 19. Xu HT, Asahchop EL, Oliveira M, Quashie PK, Quan Y, Brenner BG, et al. Compensation by the E138K mutation in HIV-1 reverse transcriptase for deficits in viral replication capacity and enzyme processivity associated with the M184I/V mutations. *J Virol.* 2011;85:11300-8.
 20. Fourati S, Malet I, Lambert S, Soulie C, Wirden M, Flandre P, et al. E138K and M184I mutations in HIV-1 reverse transcriptase coemerge as a result of APOBEC3 editing in the absence of drug exposure. *AIDS.* 2012;26:1619-24.
 21. Asahchop EL, Wainberg MA, Oliveira M, Xu H, Brenner BG, Moisi D, et al. Distinct resistance patterns to etravirine and rilpivirine in viruses containing NNRTI mutations at baseline. *AIDS.* 2012. [Epub ahead of print].
 22. Xu HT, Oliveira M, Asahchop EL, McCallum M, Quashie PK, Han Y, et al. Molecular mechanism of antagonism between the Y181C and E138K mutations in HIV-1 reverse transcriptase. *J Virol.* 2012;86:12983-90.
 23. Johnson VA, Calvez V, Gunthard HF, Paredes R, Pillay D, Shafer RW, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013. *Top Antivir Med.* 2013;21:6-14.
 24. Tibotec Pharmaceuticals. Edurant™ (rilpivirine) tablets: US prescribing information. Disponible en: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/202022s0001bl.pdf
 25. European Medicines Agency. Edurant® 25 mg film-coated tablets: summary of product characteristics. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002264/WC500118874.pdf
 26. Stanford University Drug Resistance Database [consultado 19-2-2013]. Disponible en: <http://hivdb.stanford.edu/>
 27. Anta L, Llibre JM, Poveda E, Blanco JL, Álvarez M, Pérez-Elfías MJ, et al; Resistance Platform of the Spanish AIDS Research Network. Rilpivirine resistance mutations in HIV patients failing non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based therapies. *AIDS.* 2013;27:81-5.
 28. HIV French Resistance, French ANRS (National Agency for AIDS Research) AC11 Resistance Group. September 2012- Version n.º 22 [consultado 19-2-2013]. Disponible en: <http://hivfrenchresistance.org/>
 29. Lambert-Niclot S, Charpentier C, Storto A, Fofana DB, Soulie C, Fourati S, et al. Prevalence of pre-existing resistance-associated mutations to rilpivirine, emtricitabine and tenofovir in antiretroviral-naïve patients infected with B and non-B subtype HIV-1 viruses. *J Antimicrob Chemother.* 2013. [Epub ahead of print].
 30. Picchio G, Rimsky LT, Van Eygen V, Haddad M, Napolitano LA, Vingerhoets J. Prevalence of rilpivirine resistance-associated mutations in US samples received for routine resistance testing. XIX International AIDS Conference. Washington DC, USA; July 22-27 2012. TUPE 047.
 31. Arastéh K, Rieger A, Yeni P, Pozniak A, Boogaerts G, Van Heeswijk R, et al. Short-term randomized proof-of-principle trial of TMC278 in patients with HIV type-1 who have previously failed antiretroviral therapy. *Antivir Ther.* 2009;14:713-22.