

Resistencias a los antivirales en los virus de las hepatitis B y C

Ana Sáez-López^a y Jesús Agüero-Balbín^{a,b}

^aServicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. ^bDepartamento de Biología Molecular. Universidad de Cantabria. Santander. España.

Los virus de las hepatitis B (VHB) y C (VHC) son responsables de una elevada morbimortalidad de distribución mundial. Las consecuencias clínicas de las infecciones por estos virus (hepatitis crónica, cirrosis, hepatocarcinoma) van a depender de factores relacionados con el huésped y con el agente viral. Entre estos últimos, cada vez cobran más importancia aquellos que se relacionan con la respuesta al tratamiento antiviral, como son la aparición de mutantes de resistencia y la infección asociada a genotipos específicos del virus. En el caso del VHB, al igual que lo establecido para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), es de vital importancia 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. Se han desarrollado técnicas para la detección de dichas mutaciones, así como algoritmos para predecir la respuesta al tratamiento. En los pacientes infectados por el VHC, sin embargo, la respuesta al tratamiento se encuentra más relacionada con la infección por genotípicos específicos, aunque en los últimos años se ha ampliado notablemente el conocimiento sobre los mecanismos moleculares de la respuesta al interferón en dichos pacientes.

Palabras clave: VHB y VHC. Resistencias. Antivirales.

Hepatitis B and C virus antiviral resistance

Infection by the hepatitis B (HBV) and C (HCV) viruses is a major cause of morbidity and mortality world-wide. The clinical outcomes of infection by these viruses (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 and the genotype responsible for the infection, are gaining increasing importance. As has been established for human immunodeficiency virus (HIV), the presence of resistance

mutations in the viral polymerase constitutes the main problem for treating HBV infection with approved drugs and those recently applied. Methods have been developed to detect these mutations, as well as algorithms to predict the response to treatment. The outcome of treatment for HCV infection is highly influenced by the viral genotype, however, and our understanding of the molecular basis for the response to interferon in these patients has grown considerably in recent years.

Key words: HBV and HCV. Resistance. Antiviral drugs.

Introducción

La población mundial infectada de forma crónica por el virus de la hepatitis B (VHB) se estima en 400 millones de personas.

El VHB es un virus ADN de cadena circular parcialmente doble perteneciente a la familia de los hepadnavirus que infectan fundamentalmente hepatocitos. Los virus de esta familia son virus envueltos que realizan un proceso de retrotranscripción durante su ciclo de replicación.

El ciclo de replicación del VHB tiene una serie de características que favorecen la persistencia del virus en el organismo: *a)* la replicación del virus no tiene efecto citopático; *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 de mutaciones espontáneamente en cada ciclo.

El grado de replicación del VHB es muy alto, mayor que el del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la hepatitis C (VHC). Se producen del orden de $\approx 10^{12}$ viriones/día, con una vida media en la circulación periférica de 24 h¹. La polimerasa del VHB carece de función correctora de errores 3'-5' exonucleasa, por lo que la tasa de mutaciones también es muy elevada, estimándose de 10^{-4} mutaciones/ciclo².

Durante el tratamiento de la infección se produce un descenso en la carga viral que tiene lugar en dos fases: la fase inicial es más rápida y refleja el aclaramiento de las partículas virales del suero. La segunda fase de aclaramiento es más lenta y se corresponde con la eliminación de las células infectadas. La vida media de éstas es de 20 días, pero varía dependiendo de la eficacia de la respuesta inmunitaria frente al VHB. Debido a la lentitud de esta segunda fase de aclaramiento viral es necesario realizar trata-

Correspondencia: Dra. A. Sáez-López.
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.
Avda. de Valdecilla, s/n. 39008 Santander. España.
Correo electrónico: anasaezlopez@gmail.com

Manuscrito recibido el 24-8-2006; aceptado el 6-9-2006.

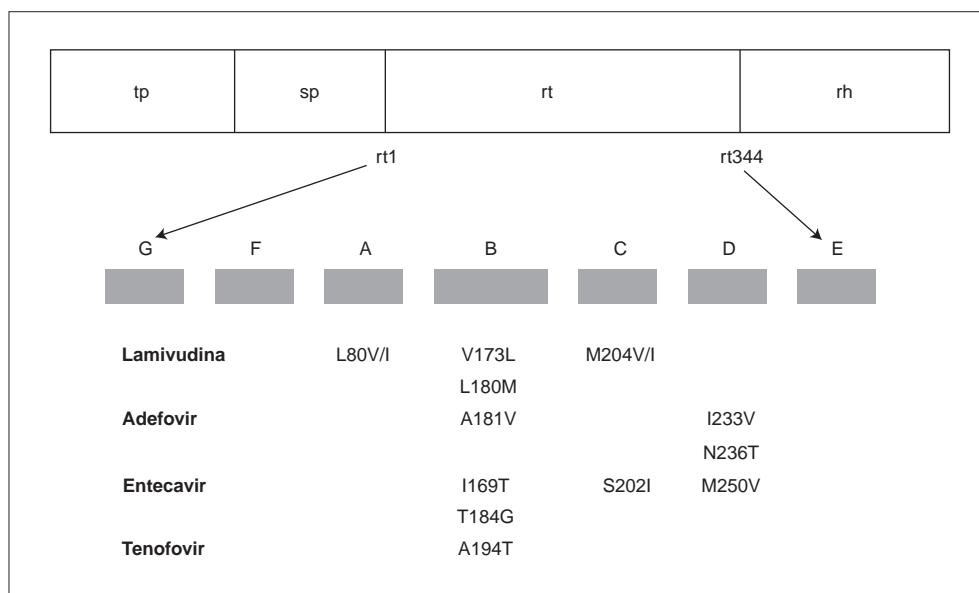


Figura 1. Esquema de la polimerasa viral del VHB mostrando las posiciones de las mutaciones de resistencia más importantes descritas. VHB: virus de la hepatitis B; tp: dominio proteína N-terminal; sp: dominio espaciador; rt: dominio transcriptasa inversa/polimerasa; rh: dominio ribonucleasa H. Adaptada de Bartholomewsz y Locarnini³.

mientos a largo plazo, lo que favorece la selección de mutaciones de resistencia.

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 resistencias, pues, es un proceso que depende de que exista replicación viral asociada a la presión selectiva de un fármaco.

Factores que favorecen la selección de resistencias

Muchos de los pacientes con hepatitis B crónica van a ser tratados durante un largo período de tiempo, lo que favorece la aparición de mutaciones. Los factores que influyen en la selección de resistencias dependen tanto del fármaco, como del virus y del huésped³.

Factores virales: cinética de aclaramiento y de producción viral, ausencia de mecanismo corrector de errores de la polimerasa, *fitness* de los mutantes.

Factores del huésped y del fármaco: experiencia farmacológica previa, incumplimiento terapéutico, capacidad para metabolizar los fármacos a su forma activa, potencia del antiviral.

La polimerasa viral

El genoma del VHB consiste en una molécula de ADN parcialmente bicatenario de 3,2 kb que contiene 4 ORF. El mayor de ellos es el que codifica para la polimerasa viral. Las funciones de esta última son fundamentales para la replicación viral lo que convierte a la polimerasa en la diana principal de los antivirales. Estas funciones son: actividad de transcriptasa inversa, ADN polimerasa dependiente de ADN y ribonucleasa H.

La polimerasa del VHB consta de cuatro dominios: una proteína N-terminal (tp) que sirve como cebador para la transcriptasa inversa, un dominio espaciador (sp) de función desconocida, el dominio transcriptasa inversa/polimerasa (rt) y el dominio ribonucleasa H (rh) (fig. 1).

En el dominio espaciador pueden producirse mutaciones o delecciones que no afectan a la función de la polimerasa, pero que originan una distinta longitud entre las polimerasas de los distintos genomas del VHB. De esta forma, y para evitar la confusión que se generaba en el mapeo de las mutaciones en la proteína, Stuyver et al⁴ 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 (a.a), es constante para todos los genotipos. De hecho, no se han observado variaciones en la longitud de la rt en ninguno de los ocho genotipos descritos para el VHB, por lo que las diferencias entre éstos (> 8%) tienen lugar en otros puntos del genoma. Siguiendo esta numeración, pues, los dominios espaciador y proteína N-terminal son genotipo dependientes, y el dominio rt y el dominio rh son genotipo independientes. El dominio rt, a su vez, se divide en 7 regiones o motivos (A-G)⁴ (fig. 1).

Para poder entender los mecanismos de resistencia se han creado modelos tridimensionales basándose en la homología con la polimerasa del VIH-1. Empleando estos modelos se han podido localizar las distintas mutaciones y estudiar los cambios estructurales que provocan en la polimerasa⁵.

Definición de resistencia a los antivirales

La resistencia virológica se describe habitualmente como alta, intermedia o de bajo nivel basándose en los *fold-changes* de la IC₅₀ (50% de la concentración eficaz máxima) frente al antiviral. Esta clasificación, sin embargo, no se correlaciona 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 VHB que

TABLA 1. Patrones descritos de mutaciones en la polimerasa del VHB, responsables de la resistencia a lamivudina

Patrón	Mutaciones en la polimerasa
1	rtM204V + rtL180M
2	rtM204I
3	rtM204V + rtV173L + rtL180M
4	rtM204I + rtL80V/I
5	rtM204S + rtL180M
6	rtM204I + rtL180M

VHB: virus de la hepatitis B; rt: transcriptasa inversa/polimerasa. De Locarnini¹³.

muestran resistencia al adefovir 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 VHB *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 $1 \times \log_{10}$ U/ml durante los primeros 3 meses de tratamiento. La resistencia secundaria sería el aumento de, por lo menos, $1 \times \log_{10}$ 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 farmacológica⁶.

Resistencias a lamivudina

La lamivudina 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 VIH pero se comprobó que también era efectiva frente al VHB a concentraciones más bajas. En este último inhibe también la actividad retrotranscriptasa de la polimerasa viral⁷.

El tratamiento con lamivudina provoca 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 resistencias 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 tratamiento⁸⁻¹⁰.

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 a.a 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^{11,12}.

Se han descrito 6 patrones principales de mutaciones asociados con la resistencia a lamivudina, siendo el más

habitual el rtM204V + rtL180M¹³ (tabla 1). 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 rtM204I¹⁴.

Estas mutaciones hacen que la unión entre la lamivudina y la polimerasa sea menos fuerte en comparación con el sustrato natural y que la lamivudina no se una a la polimerasa por motivos de impedimento estérico¹⁵.

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 lamivudina: a) sexo masculino; b) índice de masa corporal elevado; c) niveles elevados de carga viral antes del tratamiento¹⁶; 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 tratamiento¹⁷.

Resistencias a adefovir

Adefovir dipivoxil es el profármaco del adefovir, un análogo del nucleótido deoxiadenosina monofosfato. El adefovir inhibe la polimerasa del VHB 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 adefovir se asocia con la presencia de las mutaciones rtN236T y rtA181V, localizadas en los dominios D y B, respectivamente^{18,19}. 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 adefovir, 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 lamivudina³.

Recientemente ha sido publicada una nueva mutación asociada a la resistencia a adefovir: 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 lamivudina²⁰.

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^{21,22}. Un estudio reciente indica que la aparición de mutaciones de resistencia puede ser de hasta un 20% a los 2 años de tratamiento²³. La selección de estas mutaciones de resistencia para el adefovir 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 adefovir 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 adefovir 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 adefovir se puede emplear en aquellos enfermos que presenten mutaciones de resistencia a aquélla²⁴ (tabla 2).

Resistencias a entecavir

El entecavir (ETV) inhibe la polimerasa del VHB 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 lamivudina, aunque en menor medida que lo es frente al virus salvaje. La resistencia a ETV se asocia con 2 grupos o perfiles de mutaciones, y ambos incluyen mutaciones de resistencia a lamivudina: *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 VHB que ha desarrollado resistencia a lamivudina. 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)* la lamivudina y el ETV tienen cierto grado de resistencia cruzada (tabla 2); *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 a la lamivudina²⁵ (la aparición de resistencias al ETV se observa en un 10% de los enfermos tratados previamente con lamivudina, a los 2 años de tratamiento)²⁶; *c)* el ETV inhibe la replicación de los virus resistentes a adefovir (el VHB con la mutación rtN236T es tan sensible al ETV como el virus salvaje)¹⁹.

Resistencias a emtricitabina y tenofovir

La emtricitabina (FTC) es un derivado fluorado de la lamivudina, y presenta actividad frente al VIH y frente al VHB. 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^{27,28} (tabla 2).

El tenofovir (TDF) es un análogo del nucleótido adenosa, aprobado para su uso en el tratamiento del VIH, que se ha mostrado así mismo eficaz en el tratamiento de la infección por VHB, especialmente en pacientes con resistencias a lamivudina. En este último caso ha demostrado ser incluso más eficaz que el adefovir²⁹. Recientemente, se ha comprobado también su eficacia en casos de VHB resistentes a adefovir²⁰.

La resistencia a TDF ha sido descrita recientemente en pacientes tratados y coinfectados con VHB y VIH en los que se mantenían concentraciones detectables de ADN de VHB en sangre durante más de 6 meses³⁰. En dos de los pacientes se comprobó, junto a mutaciones de resistencia a lamivudina, 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 lamivudina, demostró un incremento de 10 veces en la IC₅₀ en comparación con el virus salvaje³⁰.

TABLA 2. Perfiles de resistencias cruzadas entre los distintos fármacos disponibles frente al VHB

	WT	3TC-R	ADV-R
Lamivudina	S	R	S
Adefovir	S	S	R
Entecavir	S	s	S
Emtricitabina	S	R	S
Tenofovir	S	S	S*

VHB: virus de la hepatitis B; WT: virus salvaje; 3TC-R: virus resistente a lamivudina; ADV-R: virus resistente a adefovir; S: sensible; R: resistente; s: sensibilidad disminuida respecto al virus salvaje
De Schilgen, Sirma, Funk, Olotu, Wend, Hartmann, et al²⁰.

Resistencias a otros fármacos en desarrollo

Telbivudina (L-dT), clevudina (L-FMAU), valtorcitabina (L-dC), y elbucitabina (β -L-Fd4C) constituyen ejemplos de nuevos análogos de nucleósidos en proceso de desarrollo, que han demostrado poseer resistencia cruzada *in vitro* con construcciones de VHB resistentes a lamivudina^{31,32} o adefovir³³.

Relación entre genotipo y desarrollo de resistencias

Como ya se ha señalado actualmente se reconocen 8 genotipos del VHB (A-H) basándose en una diferencia de más del 8% en la secuencia de nucleótidos a lo largo de todo el genoma³⁴⁻³⁶.

En Europa y España los genotipos más frecuentes son el A y el D³⁷, mientras que los genotipos B y C prevalecen en Asia y Oceanía³⁸. Si bien los distintos genotipos parecen influir en el desarrollo de la enfermedad (peor pronóstico para el C en comparación con el B)³⁹ 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 lamivudina y adefovir, 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 D⁴⁰. Sobre la relación entre el genotipo y la respuesta a lamivudina algunos trabajos concluyen que hay una mayor tendencia a desarrollar mutaciones de resistencia en el genotipo A que en el D⁴¹, si bien esta diferencia se aprecia tan sólo durante el primer año de tratamiento, no observándose la misma a los 2 años del mismo⁴². 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 rtM204I⁴¹. En cuanto al adefovir no parecen existir diferencias entre los genotipos A y D⁴³, si bien un estudio reciente relaciona el genotipo D con un mayor riesgo de resistencia²³.

Detección de resistencia a los antivirales

En los casos de fracaso terapéutico, antes de emprender un estudio de resistencias hay que descartar otras posibles causas, como son la falta de adherencia al tratamiento o problemas relacionados con la metabolización y la absorción del fármaco⁶.

La detección de resistencias se puede hacer empleando métodos genotípicos y métodos fenotípicos. Estos últimos se basan en el empleo de cultivos celulares y de modelos animales. Son sistemas válidos para el estudio de la replicación del VHB, de la acumulación de cccADN en las células y para la caracterización de mutaciones. Son los únicos que aportan una medida directa de la resistencia *in vitro*, pero son métodos que no están disponibles para su uso en el laboratorio clínico^{44,45}.

Detección mediante métodos genotípicos

Se basan en la búsqueda de mutaciones de resistencia en la polimerasa viral. Los métodos más empleados son aquellos que se basan en la secuenciación de ácidos nucleicos o en técnicas de hibridación.

Secuenciación directa de ADN

La principal ventaja de este método es que permite detectar cualquier cambio de a.a, y puede aplicarse a cualquier parte del genoma del VHB, por lo que es una técnica que se utiliza para detectar resistencias a antivirales nuevos. La principal desventaja es su falta de sensibilidad en la detección de las poblaciones resistentes si éstas coexisten con el virus salvaje y representan menos del 20% del total. Este hecho limita su utilidad para detectar resistencias en su fase más temprana de generación. Además es una técnica laboriosa que requiere una interpretación por personal entrenado, por lo que no es un método adaptado para el cribado^{46,47}. Recientemente Visible Genetics ha desarrollado un sistema comercial basado en la secuenciación directa de ADN, que solventa los problemas asociados a la realización y la falta de estandarización de la técnica manual (TRUGENE® HBV genotyping kit) (Bayer/Visible Genetics, Toronto, Ontario).

Técnicas de hibridación

El sistema más empleado es el INNO-LiPA® HBV DR v2 (Innogenetics, Bélgica). Se basa en la amplificación de una región de 867 pb de la polimerasa, que incluye los dominios A al F, y su posterior hibridación con una serie de sondas inmovilizadas en tiras de nitrocelulosa. Este sistema muestra una buena concordancia con los resultados obtenidos por secuenciación directa, entre un 86 y un 99%⁴⁷⁻⁴⁹. Las sondas permiten diferenciar secuencias del virus salvaje de secuencias con mutaciones en los codones 80, 173, 180 y 204 y en los codones 181 y 236 de la rt, que se asocian con la resistencia a lamivudina y adefovir, respectivamente.

Este sistema es más sensible que la secuenciación directa de ADN para detectar mutaciones, permitiendo una detección más precoz de la resistencia y la detección de mutantes que están en baja proporción. Además es un método simple y rápido de realizar, y con una interpretación fácil de los resultados. Como inconvenientes de la técnica cabe reseñar que tan sólo es capaz de detectar la presencia de mutaciones conocidas, por lo que a medida que se van conociendo nuevas mutaciones de resistencia

es necesario diseñar nuevas sondas para actualizar el sistema. Así mismo, los polimorfismos en la región de las sondas pueden impedir la unión a las mismas, provocando resultados difíciles de interpretar. En definitiva, la técnica no puede caracterizar muestras con mutaciones nuevas o que presenten delecciones en la región de las sondas^{48,49}. Existen también aplicaciones de la técnica para la determinación del genotipo (INNO-LiPA® HBV Genotyping) o la expresión del antígeno e (INNO-LiPA® HBV PreCore).

El fenotipo virtual

Se trata de una alternativa a la realización de estudios fenotípicos. Este método se diseñó inicialmente para el análisis de resistencias en el VIH⁵⁰, siendo reciente su aplicación para el caso del VHB⁵¹. El sistema se sustenta en una base de datos muy amplia que contiene información acerca del fenotipo, el genotipo y datos clínicos de aislamientos virales. La secuencia individual de un aislamiento se introduce en el sistema y éste encuentra en la base de datos el genotipo con el que muestra una mayor homología, asociándole el fenotipo correspondiente. El SeqHepB es un programa que se ha desarrollado específicamente para realizar el fenotipo virtual de aislamientos de VHB (www.seqvirology.com/genome7). Actualmente la base de datos contiene información de 17.200 aislamientos clínicos pertenecientes a 1.500 pacientes, e incluye más de 3.000 secuencias diferentes de VHB, en las que se han identificado 90.000 variaciones. Este programa determina el genotipo y el serotipo del aislamiento, e informa cualquier mutación detectada resaltando aquellas que tienen importancia clínica. Además de informar mutaciones asociadas con resistencias a antivirales, el programa informa mutantes de escape a la vacuna y el estado del antígeno e⁵¹.

Interpretación de los resultados

Predecir un fenotipo de resistencia a partir de un genotipo puede ser complicado, especialmente cuando están presentes múltiples mutaciones de resistencia y mutaciones compensatorias, situación que es frecuente en aquellos individuos que han recibido tratamiento durante períodos prolongados y con varios antivirales. El genotipado puede identificar mutaciones específicas asociadas con la resistencia, pero no puede predecir el fenotipo de resistencia cuando el perfil de mutaciones es complejo. En estos casos el genotipo debe ser interpretado teniendo en cuenta la historia de tratamiento previo, incluyendo las mutaciones previas de resistencia, ya que éstas pueden permanecer en pequeña proporción y no serán detectadas hasta que la presión farmacológica vuelva a ser suficiente^{24,51}.

Prevención de la aparición de resistencias

Podemos minimizar el desarrollo de resistencias actuando a tres niveles: *a)* evitando el tratamiento cuando no es necesario; *b)* eligiendo con cuidado el tratamiento, y *c)* monitorizando la aparición de resistencias.

Tratar sólo si es necesario

La naturaleza del VHB implica que puede haber virus con mutaciones de resistencia en pequeña proporción en

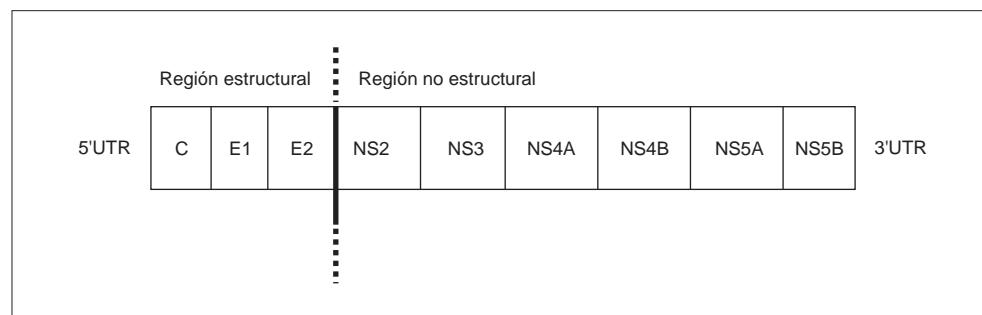


Figura 2. Esquema de la estructura del genoma del VHC. VHC: virus de la hepatitis C.

enfermos que no han estado nunca en tratamiento y que serán seleccionados cuando éste comience.

Elegir adecuadamente el tratamiento

La aparición y posterior selección de mutaciones de resistencia es un proceso que depende necesariamente de que exista replicación viral, por lo que el tratamiento debe suprimir la replicación viral lo más rápido y lo más completamente posible³.

Vigilar la aparición de resistencias

La detección de resistencias debe ser lo más rápida posible, antes de que se produzca un aumento de la carga viral. Se deben controlar los niveles de transaminasas y de carga viral después de haber iniciado el tratamiento y realizar un control más estrecho en aquellos pacientes con más probabilidad de desarrollar resistencias. En cualquier caso se deben seguir las pautas indicadas en los correspondientes documentos de consenso establecidos al respecto.

Resistencias del virus de la hepatitis C

Introducción

La población mundial infectada de forma crónica por el VHC se estima en 240 millones de personas.

El VHC es un virus ARN envuelto, de unos 50 nm de diámetro, perteneciente a la familia de los flavivirus. El genoma del VHC consiste en una molécula única y lineal de ARN monocatenario de unos 9,5 kb de tamaño con un solo ORF que se traduce en una poliproteína de aproximadamente 3.000 a.a, en cuyos extremos se encuentran dos regiones no codificantes (5'-UTR y 3'-UTR). A continuación del extremo 5' se encuentra la región estructural que codifica 3 proteínas estructurales (core, E1 y E2) e inmediatamente después la región no estructural, que codifica una serie de proteínas con distintas actividades enzimáticas (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) (fig. 2).

Variabilidad genética del VHC

El grado de replicación del VHC es muy elevado (10^{11} - 10^{12} viriones/día) siendo el tiempo de vida media del virus de 2,5 h, algo más largo que el del VIH pero mucho más corto que el descrito para el VHB. Como corresponde a los virus ARN, el genoma del VHC se caracteriza por un elevado grado de heterogeneidad debido a que la ARN polimerasa carece de actividad 3'-5' exonucleasa que funciona como correctora de errores durante la replicación. La

tasa de mutación espontánea es, pues, muy elevada, acumulándose estas mutaciones en el tiempo, pero no es la misma a lo largo del genoma. La región más heterogénea se encuentra entre las regiones estructurales E1 y E2, donde se reconocen dos regiones hipervariables (HVR1 y HVR2) que se establecen por la presión del sistema inmunitario. Como consecuencia de esta cinética de replicación, la población viral en un individuo infectado consiste en una mezcla de genomas relacionados pero diferentes entre sí (98-99% de homología), que se denominan *quasiespecies*.

Relación entre genotipo y respuesta al tratamiento

En función del alto grado de heterogeneidad genética que presenta el VHC, se han descrito 6 genotipos mayores (1-6) que, a su vez, son divididos en más de 70 subtipos, designados con una letra después del número del genotipo (1a, 1b, 2a,...)⁵². Los genotipos más frecuentes en América, Europa y Japón son el 1, 2 y 3, que son de distribución mundial. Dentro del genotipo 1 el más frecuente es el subtipo 1a, que predomina en el oeste de Europa y en Norteamérica, mientras que el 1b es el más frecuente en Japón, y en el sur y este de Europa⁵³.

Actualmente el tratamiento de elección para el VHC es la combinación de IFN y ribavirina. Muchos de los pacientes son resistentes a esta terapia combinada antiviral, por lo que se ha intentado buscar factores que pudiesen predecir la respuesta al tratamiento, siendo la relación entre el genotipo y la respuesta al IFN el más importante de ellos⁵⁴. Así pues, y a diferencia de lo que sucede con el VHB, en el caso del VHC sí hay una relación clara entre el genotipo y la respuesta al tratamiento. Los pacientes infectados con los genotipos 1, en especial 1b y 4 responden peor a la terapia antiviral que los infectados con los genotipos 2 y 3. Los mecanismos por los que el VHC es resistente al tratamiento no están del todo establecidos, pero parece que las regiones más implicadas en la resistencia son las regiones no estructurales: NS5A y NS5B, y las regiones estructurales: E2 y core.

La región no estructural NS5A codifica una fosfoproteína de 56-58 kDa que interviene en la replicación del VHC, y también en la respuesta al IFN mediante la unión e inactivación funcional de una proteíncinasa (PKR). La PKR es una cinasa inducida por el IFN, que fosforila el factor de iniciación de la traducción eIF-2 α , provocando una inhibición de la síntesis proteica y de la replicación viral en las células infectadas. En condiciones normales, pues, la unión de NS5A a PKR inhibe la función de esta última⁵⁵.

En un estudio para determinar las bases genéticas de la resistencia al IFN, Enamoto et al⁵⁶ realizaron una com-

paración de los genomas del VHC del genotipo 1b entre pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento con IFN. Las diferencias fueron localizadas en la mitad carboxiterminal de NS5A, identificando en la misma una región de 40 a.a, entre los a.a 2209-2248, a la que denominaron ISDR (región determinante de la sensibilidad al IFN). Para la unión de la proteína NS5A con PKR se necesita la región ISDR⁵⁵, pero no es suficiente ya que también se precisan 26 a.a adicionales en el extremo carboxiterminal de ISDR para completar el complejo de unión de NS5A a PKR⁵⁷. Así pues, mutaciones en estas regiones harían que la proteína NS5A no se uniera eficazmente a PKR activada por el IFN, pudiendo esta última ejercer su acción antiviral. Sin embargo otros estudios no han confirmado esta relación, por lo que este mecanismo no es el único que explicaría las bases moleculares de la relación entre NS5A y respuesta a IFN.

En este sentido, se ha comprobado que la fosfoproteína codificada por NS5A también interacciona con la proteína 2',5'-oligoadenilato sintetasa, la cual, al igual que PKR, es un efecto final de la actividad del IFN. Así pues, se inhibiría la respuesta a este último por un mecanismo independiente de PKR⁵⁸. Otro mecanismo PKR independiente descrito para NS5A es la inducción de la síntesis de interleucina 8 (IL-8), citocina que atenúa las propiedades antivirales del IFN⁵⁹, por lo que los valores de IL-8 son mayores en los no respondedores a IFN que en los respondedores⁶⁰.

La región NS5B también ha sido implicada en la respuesta al IFN y a la ribavirina. Esta región codifica una ARN polimerasa ARN dependiente (RdRp) que interviene en la replicación del genoma de VHC.

En los últimos años algunos estudios han sugerido que las diferencias entre los distintos grados de replicación y sensibilidad al IFN entre los genotipos del VHC pudieran estar en relación con secuencias específicas de la región NS5B, por lo que la polimerasa de algunos genotipos (1b) tendría mayor actividad que la de otros (2a)⁶¹. Se ha llegado incluso a identificar una mutación en la polimerasa del genotipo 1b (a.a 2735) que se relaciona con una mejor respuesta al IFN y títulos más bajos de carga viral, que los presentados por el genotipo salvaje^{61,62}. Estudios posteriores han confirmado que las mutaciones en la polimerasa codificada por NS5B (de manera similar a lo descrito para la proteína NS5A) se encuentran asociadas con una mejor respuesta al tratamiento combinado de IFN más ribavirina^{63,64}. Recientemente, Young et al⁶⁵ han localizado una mutación en el a.a 415 de la polimerasa NS5B (F415Y) que se asocia con resistencia a ribavirina. Por otra parte, en trabajos dirigidos a la búsqueda de nuevos tratamientos frente al VHC se comprueba cómo la presencia de mutaciones a nivel de NS5B o NS3 (codifica una serina proteasa que interviene en el proceso de replicación viral) confieren resistencia a los fármacos experimentales desarrollados frente a estos productos⁶⁶.

Otras regiones recientemente implicadas en la respuesta al tratamiento han sido las regiones estructurales *E2*, por un mecanismo similar al descrito para NS5A (inhibición de la proteína PKR)^{67,68}, y *core*. En este último caso, los resultados obtenidos en un análisis multivariante han llegado a definir las sustituciones a nivel de los a.a 70 y/o 91 de la región del core como factores predictivos de mala respuesta a la terapia combinada IFN más ribavirina⁶⁹.

Bibliografía

- Nowak M, Bonhoeffer S, Hill A, Boehme R, Thomas H, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;29:31-3.
- Girones R, Miller RH. Mutation rate of the hepadnavirus genome. *Virology*. 1989;170:595-7.
- Bartholomeusz A, Locarnini S. Antiviral drug resistance: clinical consequences and molecular aspects. *Semin Liver Dis*. 2006;26:162-70.
- Stuyver LJ, Locarnini SA, Loh 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.
- Bartholomeusz A, Tehan BG, Chalmers DK. Comparisons of the HBV and HIV polymerase, and antiviral resistance mutations. *Antivir Ther*. 2004;9:149-60.
- 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.
- 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'-thiacytidine. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39:1430-5.
- 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.
- 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.
- 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.
- Delaney WE, Yang H, Westland CE, Das K, Arnold E, Gibbs CS, et al. The hepatitis B virus polymerase mutation rtV173L is selected during lamivudine therapy and enhances viral replication in vitro. *J Virol*. 2003;77:11833-41.
- Melegari M, Scaglioni PP, Wands JR. Hepatitis B virus mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. *Hepatology*. 1998;27:628-33.
- Locarnini S. Hepatitis B viral resistance: mechanisms and diagnosis. *J Hepatol*. 2003;39:S124-S32.
- 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 lamivudine therapy in Japanese patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol*. 1999;59:270-6.
- Das K, Xiong Y, 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.
- Lai CL, Dienstag J, Schiff E, Leung NW, Atkins M, Hunt C, et al. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin Infect Dis*. 2003;36:687-96.
- 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;34:785-91.
- 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.
- Villeneuve JP, Durantel D, Durantel S, Westland C, Xiong S, Brosart CL, et al. Selection of hepatitis B virus strain resistant to adefovir in a liver transplantation patient. *J Hepatol*. 2003;39:1085-9.
- 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.
- Locarnini S, Qi X, Arterburn S, Snow A, Brosart 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.
- Hadziyannnis 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Colombo 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].
- 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.

28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. Norder H, Courouce AM, Magnus 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.
35. 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.
36. Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnus LO. Genotype H: A new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol*. 2002;83:2059-73.
37. Echevarría JM, León P. Hepatitis B virus genotypes identified by a Line Probe Assay (LiPA) among chronic carriers from Spain. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2004;22:452-4.
38. Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology*. 2003;46:329-38.
39. 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.
40. 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.
41. Zollner B, Petersen J, Puchhammer-Stockl E, Kletzmayr J, Sterneck M, Fischer L, et al. Viral features of lamivudine resistant hepatitis B genotypes A and D. *Hepatology*. 2004;39:42-50.
42. 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.
43. 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.
44. Zoulim F. Assessing hepatitis B virus resistance in vitro and molecular mechanisms of nucleoside resistance. *Semin Liver Dis*. 2002;22:23-31.
45. Zoulim F. In vitro models for studying hepatitis B virus drug resistant. *Semin Liver Dis*. 2006;26:171-80.
46. Clarke B, Bloor S. Molecular genotyping of hepatitis B virus. *J Clin Virol*. 2002;25:S41-S5.
47. Aberle SW, Kletzmayr J, Watschinger B, Schmeid B, Vetter N, Puchhammer-Stockl E. Comparison of sequence analysis and the INNO-LiPA HBV DR line probe assay for detection of lamivudine-resistant hepatitis B virus strains in patients under various clinical conditions. *J Clin Microbiol*. 2001;39:1972-4.
48. Lok ASF, Zoulim F, Locarnini S, Mangia A, Niro G, Decraemer H, et al. Monitoring drug resistance in chronic hepatitis B virus (HBV)-infected patients during lamivudine therapy: evaluation of performance of INNO-LiPA HBV DR assay. *J Clin Microbiol*. 2002;40:3729-34.
49. Hussain M, Fung S, Libbrecht E, Sablon E, Cursaro C, Andreone P, et al. Sensitive line probe assay that simultaneously detects mutations conveying resistance to lamivudine and adefovir. *J Clin Microbiol*. 2006;44:1094-7.
50. Gallego O, Martín-Carbonero L, Agüero J, De Mendoza C, Corral A, Soria-no V. Correlation between rules-based interpretation and virtual phenotypic interpretation of HIV-1 genotypes for predicting drug resistance in HIV-infected individuals. *J Virol Methods*. 2004;121:115-8.
51. Shaw T, Bartholomeusz A, Locarnini S. HBV drug resistance: mechanisms, detection and interpretation. *J Hepatol*. 2006;44:593-606.
52. Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmisch F, Irvine B, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol*. 1993;74:2391-9.
53. Farci P, Purcell RH. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *Semin Liver Dis*. 2000;20:103-26.
54. Davis GL, Lay JY. Factors predictive of a beneficial response to therapy of hepatitis C. *Hepatology*. 1997;26 Suppl 1:122-7.
55. Gale MJ, Korth MJ, Tang NM, Tan SL, Hopkins DA, Dever TE, et al. Evidence that hepatitis C virus resistance to interferon is mediated through repression of the PKR protein kinase by the nonstructural 5A protein. *Virology*. 1997;230:217-27.
56. Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, et al. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. *J Clin Invest*. 1995;96:224-30.
57. Gale MJ, Blakely C, Kwieciszewski B, Tan SL, Dossett M, Tang NM, et al. Control of PKR protein kinase by hepatitis C virus non-structural 5a protein: molecular mechanisms of kinase regulation. *Mol Cell Biol*. 1998;18:5208-18.
58. Taguchi T, Nagano-Fujii M, Akutsu M, Kadoya H, Ohgimoto S, Ishido S, et al. Hepatitis C virus NS5A protein interacts with 2',5'-oligoadenylate synthetase and inhibits antiviral activity of IFN in an IFN sensitivity-determining region-independent manner. *J Gen Virol*. 2004;85:959-69.
59. Polyak SJ, Khabar KS, Paschal DM, Ezelle HJ, Duverlie G, Barber GN, et al. Hepatitis C nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J Virol*. 2001;75:6095-106.
60. Polyak SJ, Khabar KS, Rezeiq M, Gretch DR. Elevated levels of interleukin-8 in serum are associated with hepatitis C virus infection and resistance to interferon therapy. *J Virol*. 2001;75:6209-11.
61. Horiike N, Michitaka K, Masumoto T, Okura I, Akbar S, Onji M. Relationship between the effect of interferon therapy and the change of hepatitis C virus non-structural 5B gene. *J Gastroenterol Hepatol*. 1999;14:345-51.
62. Okura I, Horiike H, Michitaka K, Onji M. Effect of mutation in the hepatitis C virus nonstructural 5B region on HCV replication. *J Gastroenterol*. 2004;39:449-54.
63. Hamano K, Sakamoto N, Enomoto N, Izumi N, Asahina Y, Kurosaki M, et al. Mutations in the NS5B region of the hepatitis C virus genome correlate with clinical outcomes of interferon-alpha plus ribavirin combination therapy. *J Gastroenterol Hepatol*. 2005;20:1401-9.
64. Kumagai N, Takahashi N, Kinoshita M, Tsunematsu S, Tsuchimoto K, Saito H, et al. Polymorphisms of NS5B protein relates to early clearance of hepatitis C virus by interferon plus ribavirin: a pilot study. *J Viral Hepat*. 2004;11:225-35.
65. Young KC, Lindsay KL, Lee KJ, Liu WC, He JW, Milstein SL, et al. Identification of a ribavirin-resistant NS5B mutation of hepatitis C virus during ribavirin monotherapy. *Hepatology*. 2003;38:869-78.
66. Mo H, Lu L, Pilot-Matias T, Pithawalla R, Mondal R, Masse S, et al. Mutations conferring resistance to a hepatitis C virus (HCV) RNA-dependent RNA polymerase inhibitor alone or in combination with an HCV serine protease inhibitor in vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:4305-14.
67. Saito T, Ito T, Ishiko H, Yonaha M, Morikawa K, Miyokawa A, et al. Sequence analysis of PePHD within HCV E2 region and correlation with resistance of interferon therapy in Japanese patients infected with HCV genotypes 2a and 2b. *Am J Gastroenterol*. 2003;98:1377-83.
68. Gupta R, Subramani M, Khaja MN, Madhavi C, Roy S, Habibullah CM, et al. Analysis of mutations within the 5' untranslated region, interferon sensitivity region, and PePHD region as a function of response to interferon therapy in hepatitis C virus-infected patients in India. *J Clin Microbiol*. 2006;44:709-15.
69. Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Someya T, et al. Predictive factors of virological non-response to interferon-ribavirin combination therapy for patients infected with hepatitis C virus of genotype 1b and high viral load. *J Med Virol*. 2006;78:83-90.

NOTA

Los artículos publicados en la sección "Formación Médica Continuada" forman parte de grupos temáticos específicos (antibiograma, antimicrobianos, etc.). Una vez finalizada la publicación de cada tema, se irán presentando al Sistema Español de Acreditación de la Formación Médica Continuada (SEAFORMEC) para la obtención de créditos.

Una vez concedida la acreditación, esta se anunciará oportunamente en la Revista y se abrirá un período de inscripción gratuito para los socios de la SEIMC y suscriptores de la Revista, al cabo del cual se iniciará la evaluación, durante un mes, que se realizará a través de la web de Ediciones Doyma.

ANEXO. Resistencias a los antivirales en los virus de las hepatitis B y C

1. Respecto al VHB, señale la respuesta correcta:

- a) Es un virus hepatotropo de efecto citopático.
- b) El grado de replicación es similar a otros virus como el VHC o el VIH.
- c) La aparición de resistencias es independiente del proceso de replicación.
- d) La eliminación de las células infectadas es un proceso lento.
- e) Son ciertas a) y c).

2. En relación a la polimerasa del VHB:

- a) La longitud del dominio rt depende de cada genotipo.
- b) Copia con fidelidad.
- c) El dominio rt consta de 4 regiones.
- d) Es la diana principal de los antivirales.
- e) Todas son ciertas.

3. Respecto a la lamivudina es falso que:

- a) Provoca una disminución rápida de la carga viral.
- b) El desarrollo de resistencias es independiente del tiempo de tratamiento.
- c) La mutación principal de resistencia se localiza en el a.a 204 de la rt.
- d) La mutación rtM204V se localiza en el motivo B de la rt.
- e) Son ciertas b) y d).

4. Señale la respuesta correcta respecto al adefovir:

- a) La aparición de resistencias es similar a la lamivudina.
- b) Presenta resistencia cruzada con la lamivudina.
- c) La resistencia se asocia con la presencia de las mutaciones rtN236T y rtA181V.
- d) Estructuralmente es muy similar a la lamivudina.
- e) Las principales mutaciones de resistencia se localizan en el motivo B de la rt.

5. Señale la respuesta correcta respecto al entecavir:

- a) Es tan efectivo frente al VHB resistente a la lamivudina como al virus salvaje.
- b) Las mutaciones de resistencia a la lamivudina son necesarias para conferir resistencia fenotípica.
- c) Es efectivo frente al VHB resistente al adefovir, aunque en menor medida de lo que lo es el virus salvaje.
- d) No presenta resistencia cruzada con la lamivudina.
- e) Son ciertas a) y c).

6. En relación al VHB:

- a) Se reconocen actualmente 6 genotipos de virus (1-6).
- b) Los genotipos B y el C son los más frecuentes en España.
- c) Existe una relación clara entre la respuesta al tratamiento y los distintos genotipos.
- e) El fracaso terapéutico se debe exclusivamente a la aparición de resistencias.
- a) Todas son falsas.

7. Respecto a la detección de resistencias en el VHB, señale la respuesta incorrecta:

- a) La secuenciación directa de ADN es un método poco sensible para la detección de resistencias.
- b) Las técnicas de hibridación son más sensibles que la secuenciación directa de ADN.
- c) Las técnicas de hibridación presentan una buena concordancia con los resultados obtenidos por secuenciación directa.
- d) La secuenciación directa de ADN es un método simple apto para el cribado.
- e) Las técnicas de hibridación precisan ser actualizadas cada vez que se detecta una nueva mutación de resistencia.

8. Señale la respuesta incorrecta respecto al VHC:

- a) El grado de replicación y la tasa de mutaciones espontáneas es muy elevada.
- b) El tratamiento de elección es la combinación de IFN y ribavirina.
- c) La región más heterogénea del genoma viral se encuentra entre las regiones estructurales E1 y E2.
- d) No existe una relación clara entre la respuesta al tratamiento y los distintos genotipos.
- e) Los pacientes infectados con los genotipos 1 y 4 responden peor al tratamiento.

9. Señale la respuesta incorrecta respecto al VHC:

- a) Los mecanismos de resistencia para el VHC no están bien establecidos.
- b) La región NS5A interviene en la respuesta al IFN mediante la inactivación de la proteína PKR, exclusivamente.
- c) La proteína NS5A induce la síntesis de IL-8.
- d) La región ISDR no es suficiente para la unión efectiva de NS5A con PKR.
- e) Mutaciones en NS5A favorecen la acción antiviral del IFN.

10. Señale la respuesta correcta respecto al VHC:

- a) En Norteamérica y el oeste de Europa predomina el genotipo 1a.
- b) La resistencia a ribavirina se asocia con la presencia de la mutación F415Y.
- c) La región NS5B codifica una ARN polimerasa ARN dependiente.
- d) Mutaciones en NS5B están asociadas con una mejor respuesta al tratamiento combinado.
- e) Todas son ciertas.