

# Resistencias en el virus de la hepatitis B

Julie Sheldon<sup>a</sup>, Rui Sarmento e Castro<sup>b</sup> y Vicente Soriano<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III. Madrid. España.

<sup>b</sup>Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Joaquim Urbano. Porto. Portugal.

**El desarrollo de fármacos inhibidores de la polimerasa del virus de la hepatitis B (VHB) ha revolucionado el tratamiento de la infección crónica por el VHB. Sin embargo, la aparición de resistencias puede comprometer su eficacia clínica y se han de conocer los mecanismos de estas resistencias, sus implicaciones clínicas, las estrategias para su prevención y cómo abordar el rescate. Dado que el VHB tiene un alto grado de replicación y una gran tasa de error, durante su ciclo vital se producen un gran número de mutaciones puntuales en individuos con replicación activa. Debido al gran tamaño del genoma del VHB, todos los posibles cambios puntuales se pueden producir diariamente y deben considerarse como preexistentes a cualquier medicación. Por tanto, en los individuos infectados por el VHB hay una mezcla de virus semejantes que evolucionan en el tiempo (cuasiespecies), algunos de los cuales son portadores de mutaciones de resistencia a los antivirales, lo que explica que puedan seleccionarse rápidamente tras la exposición al fármaco.**

De los cinco fármacos aprobados en Europa para el tratamiento de la hepatitis B, tres de ellos (lamivudina, adefovir y entecavir) son susceptibles de verse afectados directamente por dichas mutaciones, así como otros fármacos activos, como son la telbivudina, el tenofovir y la emtricitabina. La caracterización de dichas mutaciones de resistencia ayuda tanto a su prevención como a la optimización del tratamiento antiviral.

**Palabras clave:** Virus de la hepatitis B. Resistencias. Lamivudina. Adefovir. Entecavir.

Resistance in hepatitis B virus

**The development hepatitis B virus (HBV) polymerase inhibitors has revolutionised the treatment of chronic HBV infection. However, the emergence of resistance mutations can compromise their clinical efficacy and it is mandatory to know the mechanisms of these resistances, its clinical**

implications, strategies for prevention and how to deal with the rescue. Since HBV has a high degree of replication and a high error rate, during their life cycle it will produce a large number of punctual mutations in individuals with active replication. Due to the large size of the HBV genome, all the possible changes may occur daily and should be screened before starting any antiviral therapy. Therefore, in individuals infected with HBV there is a mixture of similar viruses that evolves over time (quasispecies), some of which are carriers of resistance mutations to antivirals, which explains why they can be selected quickly after exposure to drug. Of the five drugs approved in Europe for the treatment of hepatitis B, three of them (lamivudine, adefovir and entecavir) are likely to be affected directly by these mutations, as well as other active drugs, such as telbivudine, tenofovir and the emtricitabine. The characterization of the resistance mutations is helpful for the prevention and the optimization of antiviral therapies.

**Key words:** Hepatitis B virus. Resistance. Lamivudine. Adefovir. Entecavir

## Introducción

El descubrimiento y la utilización clínica de antivirales que inhiben la polimerasa del virus de la hepatitis B (VHB) han revolucionado el tratamiento de los pacientes infectados crónicamente por el VHB. Sin embargo, el beneficio clínico de estas terapias está comprometido por la aparición de virus resistentes. En este capítulo se describen los mecanismos de resistencia a los antivirales en el VHB, sus implicaciones clínicas, las estrategias para su prevención y cómo abordar el rescate.

El VHB tiene un alto grado de replicación, con una producción de  $10^{12}$  viriones al día y una tasa de error de aproximadamente  $10^{-5}$  sustituciones/base/ciclo<sup>1</sup>, lo que implica la producción de  $10^{10-11}$  mutaciones puntuales diarias en individuos con replicación activa. Debido a que el tamaño del genoma del VHB es de unos 3.200 pares de bases, todos los posibles cambios puntuales se pueden producir cada día y deben considerarse como preexistentes a cualquier medicación. Esto es debido a que la transcriptasa inversa (RT) del VHB no tiene capacidad correctora de errores que permita reparar los nucleótidos incorporados equivocadamente. Por tanto, en los individuos infectados por el VHB hay una mezcla de virus semejantes que evolucionan en el tiempo (cuasiespecies), algunos de los cuales son portadores de mutaciones de resistencia a los antivirales,

Correspondencia: Dra. J.A. Sheldon  
Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Carlos III.  
Sinesio Delgado, 10. 28029 Madrid. España.  
Correo electrónico: julies73@yahoo.co.uk

lo que explica que puedan seleccionarse rápidamente tras la exposición al fármaco.

La probabilidad de que una mutación sea seleccionada durante el tratamiento depende en buena parte de la capacidad del fármaco para suprimir la replicación viral. Así, un fármaco con actividad antiviral insuficiente ejerce, sin embargo, la suficiente presión selectiva para que ocurra la selección de mutaciones de resistencia. Por el contrario, si la supresión de la replicación viral es completa, el riesgo de seleccionar resistencias es mínimo. En el otro extremo, un fármaco apenas activo frente al VHB no ejerce presión selectiva y no selecciona resistencias o lo hace más lentamente. En la molécula, la resistencia a los antivirales se produce como consecuencia de cambios alostéricos en la polimerasa que disminuyen su afinidad por el fármaco administrado. De este modo, el sustrato natural es de nuevo utilizado.

El objetivo de la terapia en la hepatitis B crónica (HBC) es conseguir una supresión sostenida de la replicación viral y, de este modo, prevenir la progresión a cirrosis, la insuficiencia hepática terminal y el carcinoma hepatocelular. Podemos considerar, desde el punto de vista clínico, 3 tipos de respuesta a la terapia anti-VHB. La respuesta virológica, la más importante, depende de la consecución de concentraciones indetectables sostenidas de ADN-VHB sérico. La respuesta bioquímica se consigue cuando los valores de aminotransferasas disminuyen a valores normales. La respuesta histológica se refiere a una reducción de por lo menos 2 puntos en el índice de actividad histológica, sin agravamiento de la fibrosis, en comparación con los valores previos al tratamiento<sup>2</sup>.

En Europa están aprobados 5 fármacos para el tratamiento de la hepatitis B: 2 tipos de interferón, administrados por vía parenteral y con una duración de tratamiento definida en el tiempo (48 semanas), y 3 análogos de los nucleótidos/nucleósidos —lamivudina, adefovir y entecavir— que se administran por vía oral durante un tiempo indeterminado. La telbivudina ha sido aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) pero todavía no por la Asociación Europea del Medicamento (EMEA). Se han aprobado otros 2 fármacos hasta ahora sólo para el tratamiento de la infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), pero con actividad significativa sobre el VHB: tenofovir y emtricitabina. Finalmente, otros fármacos están en fase de desarrollo clínico, como la clevudina. A pesar de disponer de todos estos antivirales, el tratamiento de la HBC está lejos de haber sido resuelto, en buena parte, por la alta exposición a lamivudina en el pasado y por la presencia de virus con resistencia cruzada a los nuevos antivirales. A la luz de esta experiencia, las nuevas guías de tratamiento desaconsejan utilizar lamivudina como único antiviral frente al VHB en pacientes naïve. En general, la terapia combinada (p. ej., lamivudina + adefovir) o la utilización de fármacos más potentes y de barrera genética más alta (p. ej., entecavir) son en la actualidad de elección en estos pacientes.

## Definiciones de resistencia

El Consenso Español para el Tratamiento de las Hepatitis B y C, publicado en 2006, recogía las siguientes definiciones<sup>3</sup>:

— Efecto antiviral: es la reducción de al menos  $1 \log_{10}$  U/ml en la carga viral B con respecto a la basal en los primeros 3 meses de tratamiento.

— Fallo primario de tratamiento: imposibilidad para conseguir el efecto antiviral desde que se inicia el tratamiento.

— Fallo secundario de tratamiento: aumento confirmado de  $1 \log_{10}$  U/ml en la carga viral B sobre la cifra mínima conseguida durante el tratamiento.

— Resistencia genotípica: son las mutaciones en el genoma del VHB que aparecen durante el tratamiento con un determinado antiviral.

— Resistencia fenotípica: es la menor susceptibilidad in vitro del VHB a la inhibición de su replicación por un determinado antiviral. Sigue a la resistencia genotípica.

— Progresión virológica (*virological breakthrough*): rebote en las concentraciones de ADN-VHB sérico tras la aparición de resistencia.

La selección de mutaciones que confieren resistencia a los análogos de nucleótidos/nucleósidos es relativamente frecuente y explica los resultados insatisfactorios que se obtienen en el tratamiento de la HBC. La tasa de selección de mutaciones de resistencia depende de la carga viral antes del tratamiento, la rapidez de supresión viral, la duración del tratamiento y la exposición previa a otros análogos de nucleótidos/nucleósidos<sup>4</sup>.

La selección de mutantes del VHB resistentes a los antivirales tiene como consecuencia el aumento de los valores del ADN-VHB debidamente a la reducción de las probabilidades de supresión viral sostenida, el agravamiento de la situación histológica, la elevación de las aminotransferasas, las eventuales reagudizaciones (*flares*) y el riesgo de descompensación hepática<sup>3</sup>.

La resistencia a los antivirales es inicialmente detectada por la aparición de un rebote virológico (*virological breakthrough*) que puede definirse como un aumento superior a  $1 \log_{10}$  en la carga viral en relación al nadir durante el tratamiento, en el paciente que haya tenido respuesta virológica inicial. La adhesión rigurosa al tratamiento es uno de los aspectos más importantes para prevenir el desarrollo de resistencias. En ensayos clínicos se ha demostrado que hasta un 30% de estos rebotes es debido a un deficiente cumplimiento del tratamiento<sup>3</sup>. Por eso, antes de solicitar una prueba de resistencia es necesario evaluar el grado de cumplimiento.

Después de la aparición de mutaciones de resistencia, la carga viral B es inicialmente baja porque las cepas mutantes tienen una capacidad de replicación disminuida cuando se comparan con la cepa salvaje<sup>5</sup>. A pesar de todo, el desarrollo de mutaciones compensatorias posteriormente restaura el *fitness* de estas variantes y hay un aumento significativo de la carga viral B. Al rebote virológico le sigue un rebote bioquímico, traducido por elevación de las aminotransferasas, en pacientes que con anterioridad habían normalizado estas enzimas.

La selección de cepas mutantes anula la respuesta inicial al tratamiento y puede originar picos transitorios (*flares*) de aminotransferasas, con el agravamiento de la lesión hepática y una eventual descompensación. El desarrollo de estas cepas precede a las alteraciones bioquímicas en meses o años. La detección precoz de estos virus mutantes es esencial para prevenir la evolución de la

lesión hepática, sobre todo en determinados subgrupos de pacientes, como los inmunodeprimidos y los que presentan cirrosis.

La resistencia puede ser considerada desde el punto de vista fenotípico o genotípico. La resistencia fenotípica se refiere a la pérdida de inhibición de la replicación viral por un fármaco en experimentos de cultivo viral *in vitro*. Se sigue *in vivo* de un rebrote de la carga viral B, definido por ser al menos de 1 logaritmo comparado con el valor nadir. Las cepas virales resistentes son las que tienen mutaciones que confieren resistencia fenotípica a un fármaco determinado<sup>6</sup>.

Debido a su complejidad, las pruebas genotípicas son más utilizadas que las fenotípicas para la identificación de resistencias. Los ensayos genotípicos incluyen básicamente dos tipos de tecnología: la secuenciación directa de productos de amplificación de la RT y las técnicas de hibridación inversa sobre tiras de nitrocelulosa (InnoLiPA). La secuenciación directa permite en una única prueba valorar todas las posibles mutaciones asociadas con resistencia, ya que se analiza la secuencia completa de la polimerasa viral. En el caso de una mutación nueva, la confirmación es menester realizarla *in vitro* con ensayos fenotípicos de mutagénesis dirigida<sup>7,8</sup>.

Varios grupos han desarrollado modelos estructurales de la RT del VHB basados en la estructura cristalina de la RT del VIH. Hay una gran homología de secuencia entre ambas proteínas<sup>9,11</sup>. Tanto la RT del VIH como la del VHB tienen una estructura de «mano derecha», con pulgar, dedos y palma (fig. 1). El dominio C, donde se encuentra el motivo conservado YMDD, está localizado en el centro de la molécula, en la palma. Aunque los modelos basados en la homología de secuencia pueden no ser exactos en las regiones donde el parecido entre las 2 RT es bajo, el hecho de que el sitio activo de ambas proteínas esté conservado permite hacer estimaciones con gran certeza. Esto ha servido para predecir el efecto de las mutaciones que confieren resistencia a los análogos de nucleótidos/nucleósidos en el VHB.

## Resistencia a los análogos de nucleótidos/nucleósidos en el VHB

Se pueden considerar profármacos, porque necesitan ser activados para llevar a cabo su actividad antiviral mediante un proceso de fosforilación, que los lleva a convertirse en nucleósidos trifosfatos o nucleótidos difosfatos, que funcionan como inhibidores de la polimerasa del VHB. Los análogos de nucleósidos son fosforilados primero por cinasas celulares, pasando a la forma de nucleósidos monofosfatos y con posterioridad, a la de difosfatos y trifosfatos<sup>12</sup>. El paso inicial de fosforilación es normalmente el paso limitante en el proceso de activación y explica en parte las diferencias de potencia observadas entre los distintos análogos. En la actualidad hay 3 categorías de fármacos anti-VHB disponibles: L-nucleósidos, nucleótidos de fosfonato acíclicos y análogos de desoxiguanosina ciclopentano.

### Lamivudina

La lamivudina (LAM) (2'-3'-deoxi-3'-tiacitidina) fue aprobada como tratamiento oral de la HBC en 1998. La

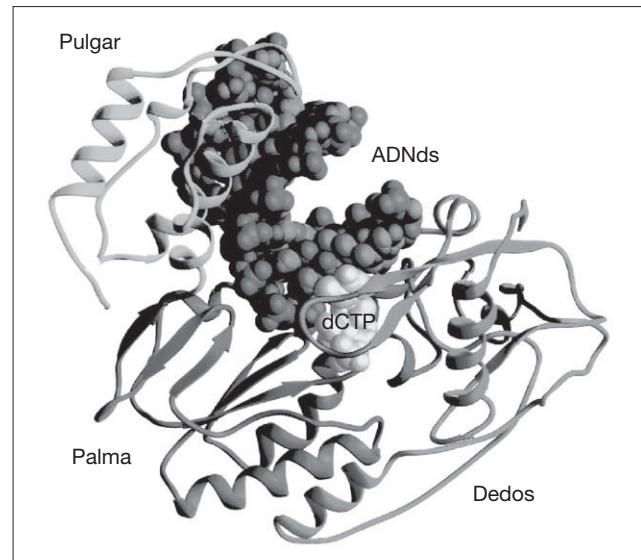


Figura 1. Modelo estructural de la transcriptasa reversa del virus de la hepatitis B.

LAM reduce rápidamente las concentraciones séricos de ADN-VHB por debajo del límite de detección en la mayoría de pacientes y tiene una tolerancia excelente<sup>13</sup>. Sin embargo, los problemas aparecen con la aparición de mutantes resistentes: en el 24% de los pacientes después de un año de tratamiento y alcanza el 70% a los 4 años<sup>14</sup>. En análisis *in vitro* se ha demostrado que las mutaciones en la región YMDD de la RT en las posiciones 204 (rtM204V/I) y 180 (rtL180M) confieren resistencia a LAM. La mutación rtM204I por sí sola es capaz de causar resistencia a LAM, mientras que rtM204V suele acompañarse de rtL180V<sup>15</sup>. El *fitness* de las mutaciones rtM204V y rtM204I es menor que el de cepas *wild-type*, pero al sumarse la mutación rtL180M, se restaura parcialmente<sup>5</sup>.

Se han descrito otras mutaciones en sujetos bajo tratamiento con LAM, incluidas rtL80V/I, rtL82M, rtI169T, rtV173L, rtA181T, rtA200V y rtV207I. La mutación rtV173L a menudo se encuentra junto con rtL180M y rtM204V. Los análisis *in vitro* indican que esta mutación no afecta a la sensibilidad del VHB a LAM, pero mejora la eficiencia de replicación<sup>5,16</sup> y hace que el virus mutado sea peor reconocido por los anticuerpos anti-HBs<sup>17,18</sup>. Un comportamiento similar ocurre con la mutación rtA200V que, combinada con rtM204I, resulta en una restauración parcial del *fitness* sin cambio en la sensibilidad a LAM<sup>5</sup>.

Las mutaciones en el motivo YMDD de la enzima son las que están asociadas más frecuentemente con resistencia a LAM. En particular, la sustitución de metionina por valina o isoleucina (o, con menor frecuencia, serina) en esta región confiere resistencia a todos los L-nucleósidos, esto es, LAM, emtricitabina, telbivudina y clevudina. En la tabla 1 se recoge la pérdida de sensibilidad fenotípica que producen distintos patrones de mutaciones de resistencia en el VHB.

Una reducida actividad catalítica para incorporar L-nucleósidos en el ADN viral naciente podría también desempeñar un papel en la resistencia a LAM. La mutación

de leucina a metionina en la posición 180 del subdominio B de la RT está asociada con una mutación en la posición 204 (M) del motivo YMDD en la mayoría de cepas resistentes a LAM. En estudios moleculares con modelos tridimensionales se indica que esta mutación adicional en el dominio B incrementa la actividad enzimática hacia el sustrato natural y compensa de este modo la reducción en la viabilidad del VHB inducida por la pérdida de una metionina en la posición 204 del motivo YMDD. Es decir, L180M restaura parcialmente el *fitness* viral comprometido por M204V y aumenta la resistencia *in vitro* a LAM<sup>5</sup>.

### Entecavir

Es un análogo carbocíclico de 2-desoxiguanosina en el cual el oxígeno del anillo de furanosa está reemplazado por un grupo vinilo. Entecavir (ETV) inhibe múltiples funciones de la polimerasa, incluidos *riming*, transcripción inversa y elongación del ADN<sup>19-21</sup>. La incidencia de resistencia a ETV en sujetos naïve a los análogos de nucleósidos es muy baja (< 1% después de 3 años)<sup>21</sup>. Sin embargo, en pacientes con resistencia a LAM es del 19% después de 3 años de tratamiento<sup>22</sup>. En un estudio de 181 pacientes expuestos a LAM (87% con mutaciones de resistencia), en la semana 90 se identificaron sólo 2 pacientes con mutaciones de resistencia a ETV. Eran portadores de las mutaciones rtL180M + rtM204V + rtM250V y rtL180M + rtM204V + rtT184G + rtS202I, respectivamente. Estos resultados indican que la resistencia a ETV ocurre de forma infrecuente y casi exclusivamente tras una exposición prolongada, y siempre junto con mutaciones de resistencia a LAM<sup>23</sup>.

### Adefovir

Los fosfonatos acíclicos contienen un nucleótido que se asemeja más a los nucleótidos naturales que a los L-nucleósidos y pueden acceder al sitio activo de la RT más libremente. Un ejemplo de fosfato acíclico es adefovir (ADV),

que se asemeja al nucleótido natural dATP. La resistencia al ADV ocurre tras la selección del cambio N236T en el dominio D de la polimerasa y A181V en el dominio B. La información de 5 estudios (en 3 de ellos se utilizó la asociación de ADV y LAM en pacientes fracasados a LAM) ha demostrado una resistencia acumulativa al ADV del 15% tras 4 años de exposición<sup>24</sup>. Más recientemente, en un estudio en fase III realizado en pacientes HBeAg negativo se ha revelado que la probabilidad de desarrollo de resistencia a 1, 2, 3, 4 y 5 años es del 0, el 3, el 11, el 18 y el 29%, respectivamente<sup>25</sup>.

El grado de resistencia al ADV es normalmente de 4 a 14 veces más elevado para el virus portador de la mutación N236T y de 2 a 3 veces más elevado para el virus con la mutación A181V. Por tanto, es mucho más bajo que el observado para las mutaciones de resistencia a LAM. Este fenómeno concuerda con la menor potencia intrínseca del ADV respecto a LAM. Grados más bajos de compromiso en la susceptibilidad al fármaco son suficientes para anular su actividad. Además, es interesante destacar que la mayoría de pacientes no muestra resistencia cruzada entre ADV y LAM, aunque recientemente, cambios en otras regiones se han relacionado con fracaso terapéutico al ADV, como son rtV84M y rtS85A en el dominio A, rtA181T/V en el dominio B, rtQ215S en el interdominio C-D, y rtI233V, rtP237H y rtN238T/D<sup>26,27</sup>. Estas mutaciones se consideran secundarias, aunque pueden reconocerse sin rtN236T en pacientes que no responden al ADV o que muestran un rebrote virológico durante la terapia con ADV.

Hasta un 25% de los pacientes europeos con hepatitis crónica B naïve a los antivirales no responde al ADV. Esta resistencia primaria ha sido atribuida a diferentes factores (tabla 2): *a*) necesidad de utilizar dosis reducidas de ADV (10 mg/día) por el mayor riesgo de nefrotoxicidad con dosis más elevadas; *b*) presencia de un polimorfismo natural en el codón 233 de la RT<sup>27</sup>; *c*) mutación A181T/V/S seleccionada por LAM, que ocasiona resistencia cruzada al ADV<sup>28,29</sup>,

**TABLA 1. Pérdida de susceptibilidad ocasionada por diferentes mutaciones de resistencia en el virus de la hepatitis B**

Patrón de mutaciones	Antiviral						
	LAM	FTC	ADV	TDF	TBV	CLV	ETV
rtL180M + rtM204V	> 700	> 2.000	1,1-2,3	0,8-5,7	> 322	> 1.600	37-50
rtL180M + rtT184I + rtM204V	> 1.000		1				
rtV173L + rtL180M + rtM204V	> 1.000	898	1,1	2,1	> 322	> 1.600	164
rtM204I	> 1.000	> 2.000	1-1,8	2,1	> 322	> 1.600	471
rtL180M + rtM204I	> 1.000	845	2,1	0,7	> 322	> 1.600	3,8
rtA181T		2					
rtA181V		4					
rtM250V							9
rtI169T							1
rtI169T + rtV173L + rtL180M + rtM204V	> 5.000		0,9				50
rtI169T + rtV173L + rtL180M + rtM204V + rtM250V	> 5.000		1				1.000
rtL180M + rtT184G + rtM204V							40
rtL180M + rtT184G + rtS202I + rtM204V	> 5.000		1,8				550
rtL180M + rtM204V + rtN236T			6	4			6
rtL180M + rtA200V + rtM204V	> 1.000		2,1				
rtL180M + rtA181V		800	2,7				
rtA194T				1,5-7,6			
rtL180M + rtA194T + rtM204V				2,4- > 10			

TABLA 2. Causas de fracaso primario al adefovir

Baja potencia antiviral ± baja exposición
Polimorfismo I233V
Resistencia cruzada a lamivudina (A181T/V)
Virus de la hepatitis B genotipo A2 (L217R)

y d) presencia del cambio L217R de forma natural, uniformemente presente en el genotipo A2 del VHB, que es la variante del genotipo A más prevalente en Europa occidental<sup>30,31</sup>. Cabe destacar que cuando el cambio L217R aparece con una histidina en los residuos rt122 o rt126 se revierte la susceptibilidad al ADV en el genotipo A2<sup>32</sup>.

### Tenofovir

Este fármaco aún no está aprobado frente al VHB, pero ya lo está para el tratamiento de la infección por VIH. Posee también actividad frente a la polimerasa del VHB. Es activo frente a mutantes resistentes a LAM, tanto *in vivo* como *in vitro*. En varios estudios se ha demostrado que el tenofovir (TDF) no selecciona mutantes resistentes durante el primer año de tratamiento<sup>33,34</sup>. En un estudio multicéntrico europeo en el que se incluyó a 45 pacientes coinfectados con VHB y VIH tratados con TDF junto con otros antirretrovirales y que mantenían viremia del VHB detectable, 2 pacientes seleccionaron un cambio en el codón 194 (rtA194T) junto con mutaciones asociadas con resistencia a LAM tras 63 y 78 semanas de tratamiento con TDF, respectivamente. Los resultados *in vitro* demostraron una pérdida de sensibilidad del VHB al TDF superior a 10 veces<sup>35</sup>.

### Resistencia cruzada

Se refiere al compromiso en la actividad de 2 o más fármacos como consecuencia de las mismas mutaciones de re-

sistencia. Hay un aumento significativo en la IC<sub>50</sub> frente a varios antivirales como consecuencia de un mismo cambio. In vivo se define como la mutación que es causante de una ausencia de respuesta o de un rebrote viral a más de un fármaco<sup>36</sup>.

Las consecuencias de las diferentes mutaciones en la polimerasa viral sobre la actividad de los análogos de nucleótidos/nucleósidos varía con los distintos fármacos antivirales. Los cambios rtM204I y rtM204V + rtL180M confieren resistencia a todos los análogos de L-nucleósidos. Por el contrario, la afinidad por los nucleótidos fosfonato acíclicos se modifica sólo ligeramente (menos de 4 veces). Aunque ambos tipos de mutantes muestran una menor susceptibilidad al ETV, la gran actividad intrínseca que presenta este fármaco refleja su alta afinidad por la molécula de RT, que apenas se ve comprometida. Por otro lado, TDF es activo contra la mayoría de los mutantes resistentes al ADV, aunque es apreciable una cierta reducción de susceptibilidad (generalmente menor a 5 veces). En la figura 2 se resumen las principales mutaciones de resistencia a los antivirales frente al VHB.

### Prevención de la selección de resistencias en el VHB

La prevención del desarrollo de resistencias pasa por escoger con criterio los fármacos para utilizar en la terapia inicial. Debe utilizarse un fármaco potente capaz de suprimir de forma prolongada el ADN-VHB y que presente una barrera genética relativamente elevada frente al desarrollo de resistencias. El inicio con una terapia combinada puede ser importante en la prevención de resistencias. Entre los fármacos aprobados, la LAM es la que presenta la tasa más elevada de resistencias en pa-

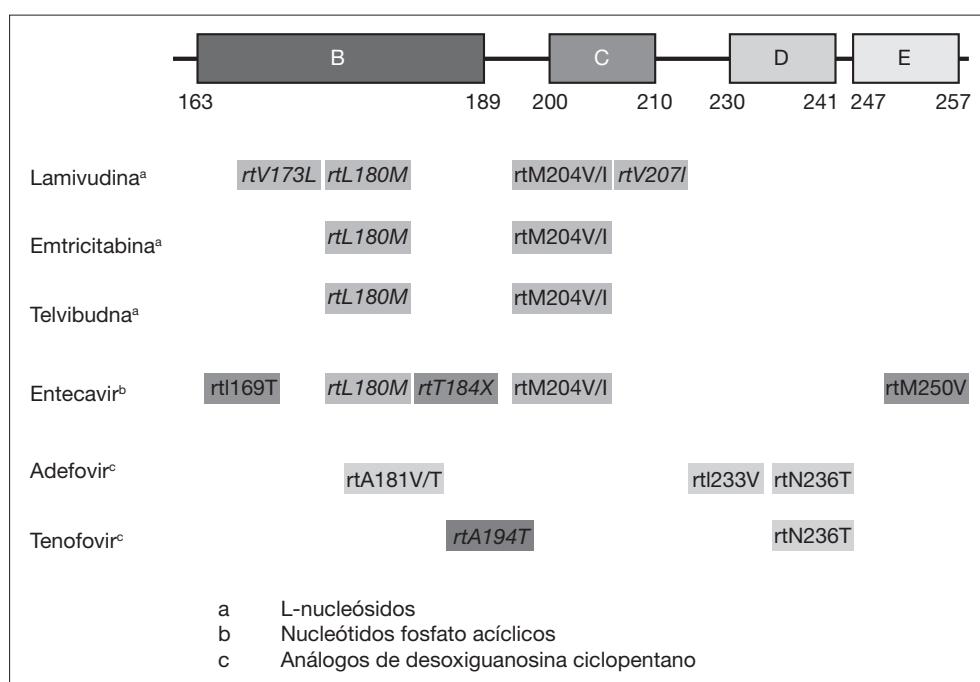


Figura 2. Principales mutaciones de resistencia a los antivirales frente al virus de la hepatitis B.

cientes naïve y el ETV el que presenta una menor tasa de resistencias.

Otro aspecto importante de la prevención es evitar el uso de estos antivirales cuando no hay criterios de tratamiento. Pacientes con viremia indetectable o < 2.000 U/ml y con lesiones histológicas mínimas generalmente no requieren tratamiento.

El desarrollo de resistencias puede también ser preventido por el uso precoz de un tratamiento alternativo, siempre que se detecte un fallo primario de tratamiento. La participación del paciente en la decisión, su comprensión de la importancia del cumplimiento y un adecuado apoyo psicosocial por el equipo sanitario son aspectos importantes para el éxito. La detección precoz de resistencias contribuye al éxito del tratamiento y por eso es necesario evaluar los valores de ADN-VHB cada 3-6 meses durante el tratamiento. Frente a un rebote virológico, debe evaluarse el cumplimiento. Si éste es correcto, hay que presumir que se han seleccionado resistencias y solicitar una prueba genotípica.

## Tratamiento de las resistencias a los antivirales en el VHB

### Resistencia a lamivudina

La selección de mutantes resistentes a LAM es el principal problema resultante del uso de este fármaco en monoterapia. El fallo virológico puede asociarse con agravamiento de la lesión hepática y eventual descompensación. Incluso en pacientes que tuvieron seroconversión del HBeAg, pueden aparecer resistencias con exacerbación de la hepatitis.

En los pacientes en tratamiento con LAM que experimentan un rebote virológico debe hacerse una prueba de resistencias. En la mayoría de casos deberá optarse por otros fármacos activos. Podrá seguir manteniéndose LAM y sumar ADV o TDF. Con esta estrategia disminuye el riesgo de *flares* y se reduce el riesgo de selección de mutaciones de resistencia al ADV, respecto a reemplazar LAM por ADV. Otro esquema terapéutico pasa por la sustitución de LAM por ETV en dosis más elevadas (1 mg/día), aunque deberá vigilarse estrechamente el riesgo de selección de resistencias en el futuro.

### Resistencia a adefovir

La resistencia al ADV es menos frecuente que la asociada al uso de LAM. En ensayos iniciales de fase III no se detectaron resistencias al ADV<sup>36</sup>, pero en estudios posteriores se concluyó que a los 2 años la tasa de resistencias es del 20%. La resistencia fue sobre todo detectada en pacientes en los que LAM había fracasado y que fueron tratados posteriormente con ADV en monoterapia<sup>37,38</sup>. En pacientes naïve, las resistencias al ADV aparecen en un 29% de los casos a los 5 años (fig. 3).

Los virus resistentes al ADV son generalmente sensibles a LAM y ETV<sup>39</sup>. Sin embargo, en los pacientes con resistencia al ADV en monoterapia que ya tenían resistencia a LAM, ésta reaparece rápidamente cuando se reintroduce LAM<sup>40</sup>.

Ya se ha comentado que, en Europa, hasta un 25% de los pacientes naïve pueden mostrar fallo primario al ADV (re-

ducción del ADV-VHB < 2 log<sub>10</sub> después de 6 meses de tratamiento)<sup>27,41,42</sup>. En estos casos hay que prescribir fármacos alternativos. El tratamiento de la resistencia primaria al ADV en pacientes que no usaron otros fármacos con anterioridad debe hacerse sumando LAM o, mejor aún, ETV. En los pacientes que tenían previamente resistencia a LAM y fracasaron al ADV secuencial en monoterapia, sólo cabe utilizar ETV (1 mg/día), aunque el mayor riesgo de selección de resistencias requiere un estrecho seguimiento. Como alternativa puede solicitarse el uso compasivo de TDF, preferiblemente junto con emtricitabina en forma de Truvada®, tal como se administra en la infección por el VIH.

### Resistencia a entecavir

La resistencia a ETV en pacientes naïve en ensayos de fase III fue sólo del 3% a las 96 semanas<sup>21</sup>. Sin embargo, en pacientes con resistencia a LAM se registraron rebotes virológicos en el 7% a las 48 semanas y en el 16% de los pacientes a las 96 semanas<sup>43</sup>, lo que confirma que la presencia de mutaciones que confieren resistencia a LAM disminuye la sensibilidad al ETV. De hecho, en estudios *in vitro* se ha mostrado que la presencia de apenas una mutación que confiere resistencia al ETV no disminuye significativamente la sensibilidad al fármaco. La sensibilidad al ETV disminuye de 10 a 250 veces si está presente una mutación de resistencia a LAM y otra al ETV. La sensibilidad al ETV disminuye más de 500 veces si están presentes 2 mutaciones de resistencia al ETV junto con una de LAM. Por eso, la dosis de ETV para pacientes con resistencia a LAM es el doble de la recomendada en pacientes naïve. Por las mismas razones, en pacientes con resistencia a LAM el uso de ETV obliga a retirar LAM. *In vitro*, las mutaciones de resistencia al ETV no comprometen al ADV, pero la experiencia clínica es aún muy limitada. La resistencia al ETV debe ser tratada mediante la sustitución del fármaco por ADV o, como alternativa, por el uso simultáneo de ambos.

En pacientes VIH positivos se puede considerar la utilización de TDF. Recientemente se ha comunicado que ETV podría inhibir la replicación del VIH-1 y seleccionar la mutación M184V, que confiere resistencia a LAM en el VIH-1<sup>44</sup>. Por este motivo, se ha desaconsejado utilizar ETV en pacientes coinfectados por VHB y VIH-1 que no reciban tratamiento antirretroviral. Este tema, de todos modos, está aún sujeto a cierto debate<sup>45-46</sup>.

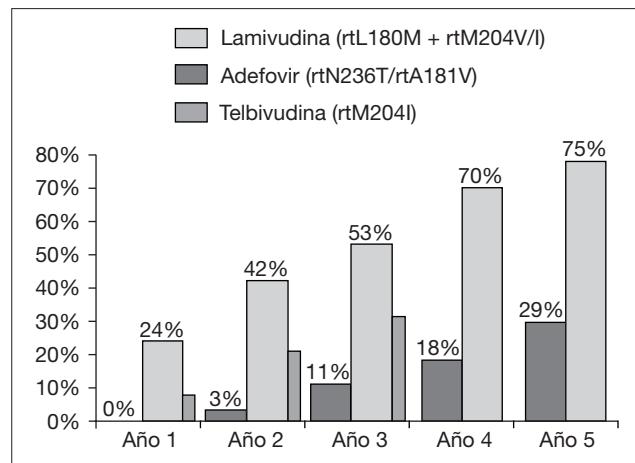


Figura 3. Incidencia de resistencias en el virus de la hepatitis B.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Nowak M, Bonhoeffer S, Hill A, Boehme R, Thomas H, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93:4398-402.
2. Lok A, McMahon B. Chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2007;45:507-39.
3. Rivas E, Baena P, Garcia M. Tratamiento de la resistencia al VHB. *Gastroenterol Hepatol*. 2006;29:59-64.
4. Bartholomeusz A, Locarnini S. Antiviral drug resistance: clinical consequences and molecular aspects. *Semin Liver Dis*. 2006;26:162-70.
5. Sheldon J, Rodes B, Zoulim F, Bartholomeusz A, Soriano V. Mutations affecting the replication capacity of the hepatitis B virus. *J Viral Hepat*. 2006;13:427-34.
6. Durantel D, Brunelle M, Gros E, Carrouee-Durantel S, Pichoud C, Villet S, et al. Resistance of human hepatitis B virus to reverse transcriptase inhibitors: from genotypic to phenotypic testing. *J Clin Virol*. 2004;34 Suppl:34-43.
7. Zoulim F. In vitro models for studying hepatitis B virus drug resistance. *Semin Liver Dis*. 2006;26:171-80.
8. Kay A, Zoulim F. Hepatitis B virus genetic variability and evolution. *Virus Res*. 2007;127:164-76.
9. Sali A, Overington J, Johnson M, Blundell T. From comparisons of protein sequences and structures to protein modelling and design. *Trends Biochem Sci*. 1990;15:235-40.
10. Das K, Xiong X, Yang H, Westland C, Gibbs C, Sarafianos S, et al. Molecular modeling and biochemical characterization reveal the mechanism of hepatitis B virus polymerase resistance to lamivudine (3TC) and emtricitabine (FTC). *J Virol*. 2001;75:4771-9.
11. Bartholomeusz A, Tehan B, Chalmers D. Comparisons of the HBV and HIV polymerase, and antiviral resistance mutations. *Antivir Ther*. 2004;9:149-60.
12. De Clercq E. Antivirals and antiviral strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2:704-20.
13. Van Leeuwen R, Katlama C, Kitchen V, Boucher C, Tubiana R, McBride M, et al. Evaluation of safety and efficacy of 3TC (lamivudine) in patients with asymptomatic or mildly symptomatic HIV infection: a phase I/II study. *J Infect Dis*. 1995;171:1166-71.
14. Lai C, Dienstag J, Schiff E, Leung N, 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.
15. Allen M, Deslauriers M, Andrews C, Tipples G, Walters K, Tyrrell D, et al. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. *Hepatology*. 1998;27:1670-7.
16. Yeh C, Chien R, Chu C, Liaw Y. Clearance of the original hepatitis B virus YMDD-motif mutants with emergence of distinct lamivudine-resistant mutants during prolonged lamivudine therapy. *Hepatology*. 2000;31:1318-26.
17. Sheldon J, Ramos B, García-Samaniego J, Bartholomeusz A, Romero M, Locarnini S, et al. Selection of hepatitis B virus (HBV) vaccine escape mutants in HBV-infected and HBV/HIV-coinfected patients failing antiretroviral therapies with anti-HBV activity. *J Acquir Immune Defic Syndr*. En prensa.
18. Matthews G, Bartholomeusz A, Locarnini S, Ayres A, Sasadues J, Seaberg E, et al. Characteristics of drug resistant HBV in an international collaborative study of HIV-HBV-infected individuals on extended lamivudine therapy. *AIDS*. 2006;20:863-70.
19. Innaimo S, Seifer M, Bisacchi G, Standring D, Zahler R, Colombo R. Identification of BMS-200475 as a potent and selective inhibitor of hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41:1444-8.
20. Yamanaka G, Wilson T, Innaimo S, Bisacchi G, Egli P, Rinehart J, et al. Metabolic studies on BMS-200475, a new antiviral compound active against hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:190-3.
21. Colombo R, Rose R, Baldick C, Levine S, Pokornowski K, Yu C, et al. Entecavir resistance is rare in nucleoside naive patients with hepatitis B. *Hepatology*. 2006;44:1656-65.
22. Tenney D, Rose R, Baldick C, Levine S, Pokornowski K, Walsh A, et al. Two-year assessment of entecavir resistance in lamivudine-refractory hepatitis B virus patients reveals different clinical outcomes depending on the resistance substitutions present. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:902-11.
23. Tenney D, Levine S, Rose R, Walsh A, Weinheimer S, 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.
24. Locarnini S, Qi X, Arterburn S, Snow A, Brosgart C, Currie G, et al. Incidence and predictors of emergence of adefovir resistant HBV during four years of adefovir dipivoxil therapy for patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol*. 2005;42:17A.
25. Hadziyannis S, Tassopoulos N, Chang T. Long-term adefovir dipivoxil treatment induces regression of liver fibrosis in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B: results after 5 years of treatment. *Hepatology*. 2005;42:754A.
26. Bartholomeusz A, Locarnini S. Hepatitis B virus mutations associated with antiviral therapy. *J Med Virol*. 2006;78 Suppl 1:52-5.
27. Schildgen O, Sirma H, Funk A, Olotu C, Wend U, Hartmann H, et al. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med*. 2006;354:1807-12.
28. Thio C, Locarnini S. Treatment of HIV/HBV coinfection: clinical and virological issues. *AIDS Rev*. 2007;9:40-53.
29. Schildgen O, Schewe C, Vogel M, et al. Successful therapy of hepatitis B with tenofovir in HIV-infected patients failing previous adefovir and lamivudine treatment. *AIDS*. 2004;18:2325-7.
30. Chang T, Lai C. Hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med*. 2006;355:322-3.
31. Chueca N, Nogales C, Rodríguez F, Sheldon J, Romero P, Peña A, et al. Hepatitis B virus (HBV) genotyping may influence therapeutic decisions in chronic hepatitis B. 5th European Drug Resistance Workshop. Cascais, 28-30 March 2007 [abstract 88]. *Rev Antivir Ther*. 2007;2:86.
32. Karataşlı E, Karayalçın S, Karaaslan H, Kayhan H, Resat A, Sahin F, et al. A novel emerging mutation pattern emerging during lamivudine treatment shows cross-resistance to adefovir dipivoxil treatment. *Antivir Ther*. 2007;12:761-8.
33. Dore G, Cooper D, Pozniak A, DeJesus E, Zhong L, Miller M, et al. Efficacy of tenofovir disoproxil fumarate in antiretroviral therapy-naïve and -experienced patients coinfected with HIV-1 and hepatitis B virus. *J Infect Dis*. 2004;189:1185-92.
34. Lada O, Benhamou Y, Cahour A, Katlama C, Poynard T, Thibault V. In vitro susceptibility of lamivudine-resistant hepatitis B virus to adefovir and tenofovir. *Antivir Ther*. 2004;9:353-63.
35. 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.
36. Ghany M, Liang T. Drug targets and molecular mechanisms of drug resistance in chronic hepatitis B. *Gastroenterol*. 2007;132:1574-85.
37. Westland C, Yang H, Delaney W, Gibbs C, Miller M, Wulfsohn M, et al. Week 48 resistance surveillance in two phase 3 clinical studies of adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2003;38:96-103.
38. Fung S, Chae H, Fontana R, Conjeevaram H, Marrero J, Oberhelman K, et al. Virological response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol*. 2006;44:703-12.
39. Lee Y, Suh D, Lim Y, Jung S, Kim K, Lee H, et al. Increased risk of adefovir resistance in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B after 48 weeks of adefovir dipivoxil monotherapy. *Hepatology*. 2006;43:1385-91.
40. Villeneuve J, Durantel D, Durantel S, Westland C, Xiong S, Brosgart C, et al. Selection of a hepatitis B virus strain resistant to adefovir in a liver transplantation patient. *J Hepatol*. 2003;39:1085-9.
41. Fung S, Andreone P, Han S, Rajender Reddy K, Regev A, Keeffe E, et al. Adefovir-resistant hepatitis B can be associated with viral rebound and hepatic decompensation. *J Hepatol*. 2005;43:937-43.
42. Durantel S, Werle B, Durantel D, Pichoud C, Currie G, Xiong S, et al. Different profiles of response to adefovir dipivoxil and factors that may influence response in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2004;40:654A.
43. Buti M, Elefsiniotis I, Jardi R, Vargas V, Rodriguez-Frias F, Schapper M, et al. Viral genotype and baseline load predict the response to adefovir treatment in lamivudine-resistant chronic hepatitis B patients. *J Hepatol*. 2007;47:366-72.
44. Sherman M, Yurdaydin C, Sollano J, Silva M, Liaw Y, Cianciara J, et al. Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2006;130:2039-49.
45. McMahon M, Jilek B, Brennan T, Shen L, Zhou Y, Wind-Rotolo M, et al. The HBV drug entecavir: effects on HIV-1 replication and resistance. *N Engl J Med*. 2007;356:2614-21.
46. Soriano V, Sheldon J, Garcia-Gasco P, Vispo E. Lack of anti-HIV activity of entecavir in an HIV patient coinfected with hepatitis B and delta viruses. *AIDS*. 2007;21:2253-4.