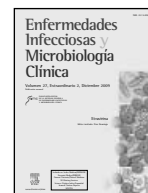




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Etravirina: barrera genética y desarrollo de resistencias

Josep M. Llibre^{a,*}, José Ramón Santos^a y Bonaventura Clotet^{a,b}

^aFundació Lluita contra la Sida, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, España

^bFundació IrsiCaixa, Badalona, Barcelona, España

Palabras clave:

Etravirina
TMC125
Genotipo
Fenotipo
Resistencia a antivirales

RESUMEN

A diferencia de los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINAN) de primera generación, para desarrollar resistencia completa a etravirina (ETR) se requiere el acumulo de varias mutaciones. Muestra una barrera intermedia frente a la aparición de resistencia parcial, y alta para el de resistencia completa. Algunas mutaciones seleccionadas por nevirapina o efavirenz impactan la actividad de ETR, siendo las más frecuentes Y181C, G190A/S, K101E, L100I, Y188L y V90I. El grado de resistencia conferida por cada una es distinto. En la actualidad se dispone de al menos 3 listados de mutaciones que otorgan la puntuación exacta a cada mutación. Estos listados se han validado con el grado de resistencia observado en fenotipos pareados, y con respuesta clínica en los estudios DUET. Los 3 scores muestran un elevado grado de concordancia entre ellos. ETR es, en la actualidad, uno de los antirretrovirales en los que se puede calcular de modo sencillo y con mayor precisión su actividad basándose en datos genotípicos. Las mutaciones seleccionadas tras fracasos a inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos, especialmente análogos de la timidina, T69D/N y M184I/V, confieren hipersusceptibilidad frente a ETR (*fold change* < 0.4) en hasta 1 de cada 3 muestras analizadas. Es crucial la retirada precoz de ITINAN de primera generación en pacientes con fracaso virológico para evitar el acumulo de mutaciones que puedan comprometer la actividad del fármaco.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Etravirine: genetic barrier and resistance development

ABSTRACT

Unlike first-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI), to develop complete resistance to etravirine (ETR), various mutations must be accumulated. This drug shows an intermediate barrier against partial resistance and a high barrier to complete resistance. Some mutations selected by nevirapine or efavirenz affect the activity of ETR, the most frequent being Y181C, G190A/S, K101E, L100I, Y188L and V90I. The grade of resistance conferred by each mutation differs. Currently, there are at least three lists of mutations that confer an exact score to each mutation. These lists have been validated with the grade of resistance observed in paired phenotypes and with clinical response in the DUET studies. The three scores show a high degree of agreement. ETR is currently one of the antiretroviral drugs whose activity can be calculated simply and accurately on the basis of genotypic data. The mutations selected after failure to nucleoside reverse transcriptase inhibitors, thymidine analogue, T69D/N and M184I/V, confer hypersusceptibility to ETR (*fold change* < 0.4) in up to 1 out of every 3 samples analyzed. The early withdrawal of first-generation NNRTIs in patients with virological failure is essential to avoid the accumulation of mutations that could compromise the activity of this drug.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Etravirine
TMC125
Genotype
Phenotype
Antiviral resistance

Introducción

Los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINAN) de primera generación (efavirenz [EFV], nevirapina [NVP], delavirdina) constituyen el prototipo de fármacos antirretrovirales con baja barrera genética frente al desarrollo de resistencia del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)¹. Una sola mutación confiere resistencia completa a los fármacos, al implicar incrementos en

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jmlibre@flsida.org (J.M. Llibre).

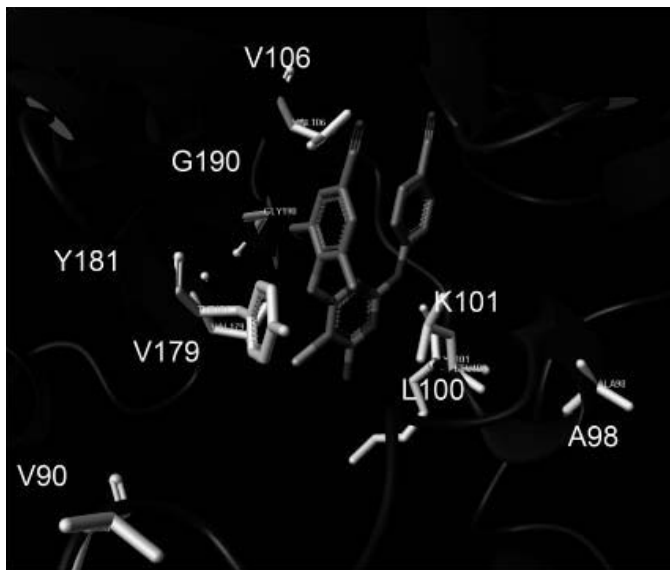


Figura 1. Posicionamiento de etravirina en el bolsillo de unión de la transcriptasa inversa del VIH-1, y localización de algunas de las mutaciones frente al fármaco (cortesía de Johan Vingerhoets).

su concentración inhibitoria inalcanzables con los rangos terapéuticos obtenidos en plasma². Asimismo, la mayoría de estas mutaciones confiere resistencia completa a todos los ITINAN de primera generación. De igual manera, la presencia de mutantes resistentes frente a estos ITINAN (*K103N*, *Y181C*) en poblaciones minoritarias (por debajo del 20% de la población viral total), indetectables mediante los genotipados comerciales disponibles actualmente, compromete su eficacia virológica debido al elevado impacto clínico de la presencia de poblaciones virales con sólo 1 mutación frente a ITINAN^{3,4}.

Etravirina (ETR) ha sido el primer ITINAN de segunda generación comercializado. Es un inhibidor diarilpirimidínico, con actividad ampliada frente a cepas de VIH resistentes a EFV y NVP. Su seguridad y eficacia ha sido demostrada en los ensayos clínicos TMC125-C223 y DUET, estos últimos controlados con doble ciego⁵⁻⁸.

La molécula fue seleccionada específicamente por preservar su actividad frente a cepas de VIH-1 con la mutación *K103N* (concentración eficaz 50 [EC_{50}] 0,001 μ M), la más frecuente globalmente en pacientes tras fracasos a ITINAN de primera generación⁹. Asimismo, conservaba actividad frente a dobles mutantes (asociadas a *K103N*), y mantenía actividad (EC_{50} < 100 nM) frente al 97% de cepas recombinantes resistentes a ITINAN de primera generación¹⁰. Su EC_{50} frente a VIH-1 salvaje es de 0,001 μ M, y tiene cierta actividad frente al VIH-2. Es activo también frente a subgrupos M y O del VIH-1.

Todo ello se debe posiblemente a su flexibilidad molecular, que le permite mantener la unión al receptor en el bolsillo de unión de la transcriptasa inversa (TI) a pesar de cambios conformacionales causados por las mutaciones en la TI que ya impiden la unión de NVP o EFV (fig. 1)¹¹.

Por otra parte, en los estudios DUET, en los que todos los pacientes recibieron darunavir/ritonavir (DRV/r), se ha observado que la rama que recibió ETR (frente a placebo) acumuló menos mutaciones frente a DRV/r en el fracaso. Esto es, ETR fue suficientemente activa como para proteger en estos pacientes la actividad de DRV/r, el paradigma de fármaco con mayor barrera genética (fig. 2)¹². Este dato es crucial para comprender el grado de protección al resto del régimen (incluyendo DRV/r) que otorga ETR en una pauta de rescate.

Sin embargo, en el estudio en fase II TMC125-C227, que comparó ETR con un inhibidor de la proteasa (IP) seleccionado por el investigador, ambos asociados a 2 inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (ITIAN), la respuesta virológica con ETR fue subóptima y el estudio debió suspenderse prematuramente¹³. Los

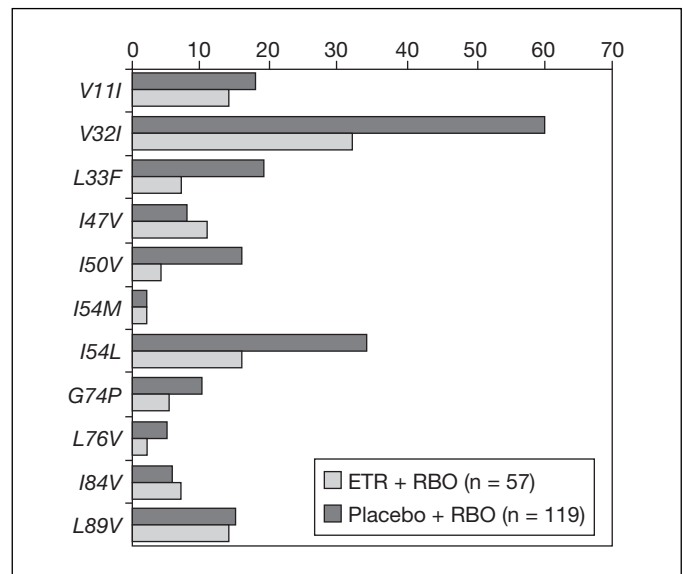


Figura 2. Mutaciones seleccionadas de novo frente a darunavir en los pacientes con fracaso virológico en el estudio DUET¹². RBO: régimen de base optimizado.

pacientes incluidos habían fracasado a pautas con ITINAN e ITIAN (*naïves* a IP) y seleccionado resistencia a ITINAN. Aproximadamente el 70% tenía al menos 2 mutaciones frente a ITINAN. Un análisis *post-hoc* de datos de resistencia basal identificó la presencia de Y181C asociada a otras mutaciones para ITINAN, un incremento en la EC_{50} de ETR \geq 10 veces, o un mayor número de mutaciones frente a ETR, con una reducción de la respuesta. Este estudio evidenció que ETR comparte cierto grado de resistencia cruzada con los ITINAN de primera generación, siendo necesaria la estimación del grado de resistencia cruzada que confería cada una de las mutaciones seleccionadas por los ITINAN, así como de sus combinaciones más frecuentes.

El desarrollo de resistencia a ETR es un fenómeno complejo que requiere de la coexistencia de varias mutaciones, y varía según el número y tipo de mutaciones presentes. Tiene una barrera genética frente al desarrollo de resistencia del VIH-1 superior a la de los ITINAN de primera generación, y no aplica al fenómeno de todo o nada que muestran estos fármacos con una sola mutación¹⁰. Para desarrollar resistencia completa se requieren en general 3-5 mutaciones, dependiendo del peso de cada una de ellas. *K103N* no reduce la actividad de ETR por sí sola.

Sin embargo, la mayoría de pacientes que presentan alguna mutación frente a ETR presenta simultáneamente varias mutaciones más en el genotipo frente a ITINAN (3-4 como media), por lo que resultó inicialmente complicada la estimación de la importancia de cada una de ellas¹³. Además, algunas de estas mutaciones son infrecuentes, resultando difícil acumular suficientes casos para conseguir significación estadística de los datos.

En la actualidad, el patrón mutacional de ETR es muy bien conocido tanto *in vitro* como *in vivo*. El listado de mutaciones asociadas a resistencia se ha ido ajustando a medida que se ha incrementado el uso y la experiencia con el fármaco.

Se dispone de por lo menos 3 *scores* bien definidos que determinan el peso de cada mutación, por lo que actualmente ETR es uno de los fármacos frente a los que podemos calcular la actividad con mayor precisión con sólo información genotípica en pacientes multitratados¹⁴⁻¹⁶.

Datos *in vitro*

Se realizaron estudios de selección "clásica" de resistencia con baja multiplicidad de infección con incrementos progresivos de las

concentraciones de fármaco, así como estudios de alta multiplicidad con concentraciones fijas del fármaco¹⁷. Se evidenció que las mutaciones seleccionadas por ETR en VIH salvaje incluían las ya conocidas *L100I*, *Y181C*, *G190E* y *M230L*, así como otras mutaciones poco conocidas como *E138K* y *V179I/F*. Algunas de ellas son mutaciones que no condicionaban resistencia frente a ITINAN, por lo que eran infrecuentes hasta la actualidad.

Los estudios con mutantes dirigidos únicamente demostraron la mayor barrera genética del fármaco y su perfil diferencial respecto a ITINAN de primera generación.

Asimismo, se identificaron varias vías de resistencia a ETR en virus salvaje. Los 2 patrones más característicos fueron *Y181C/M230L* y *Y181C/G190E*¹⁷. Ambos se asociaban, a su vez, a otras mutaciones no relacionadas previamente con resistencia a los ITINAN: *L31I*, *E40K*, *A62V*, *L74V*, *V90I*, *V179F* y *T386A*.

La combinación de *V179F* con *Y181C* confería resistencia a ETR pero no a EFV. Las mutaciones seleccionadas por ETR in vitro identificadas que se asociaron a resistencia (definida como *fold change* [FC] >10) fueron *L100I*, *V179F*, *V179I*, *Y181C*, *G190E*, *M230L* y *Y318F*, mientras que *V189I*, *E194G*, *L234I* y *T386A* podían incrementar secundariamente el grado de resistencia o jugar un rol compensatorio sobre la capacidad replicativa. Todas las vías de escape con alta resistencia a ETR seleccionadas requerían al menos de 3 mutaciones, incluyendo *Y181C*.

Frente a un banco de cepas de VIH mutantes con resistencia única o doble a ITINAN de primera generación, las portadoras de *L100I* + *K103N*, *Y181I* y *F227C* mostraron los niveles más elevados de resistencia frente a ETR¹⁰.

Datos genotípicos

El patrón mutacional de ETR in vitro es bien conocido en la actualidad. Sin embargo, sólo se han validado clínicamente las mutaciones presentes en un porcentaje mínimo de pacientes que permita su análisis estadístico, por lo que algunas de ellas, infrecuentes, pueden no estar representadas aún en los *scores*⁹. No obstante, ETR es uno de los fármacos en el que podemos calcular la actividad con mayor precisión en la actualidad con información genotípica.

Disponemos de 3 *scores* que otorgan una puntuación específica a cada mutación. Sumando los puntos obtenidos, se obtiene un valor que indica el grado de resistencia al fármaco basándose en los puntos de corte validados.

El primero de ellos corresponde al propio fabricante y se validó inicialmente con la respuesta clínica de los pacientes en los estudios DUET¹⁴.

Score de Tibotec

Para obtener el primer *score*, el fabricante utilizó datos de pacientes procedentes de los estudios DUET y se analizó la respuesta virológica obtenida según la presencia de las mutaciones contra ITINAN presentes basalmente. En la población del estudio se excluyó a los pacientes que usaron enfuvirtide activo, y los que abandonaron ETR por razones distintas al fracaso virológico, quedando 403 pacientes¹³. Se trata de la selección de pacientes habitual en todos los estudios de análisis de resistencias a fármacos. La respuesta virológica se definió como carga viral (CV) < 50 copias/ml a 24 semanas, y la reducción de respuesta se definió como una tasa de respuesta < 75% de la observada en pacientes sin mutaciones basales. Sólo se incluyeron en el análisis las mutaciones presentes en al menos 5 pacientes de entre un panel de 44 mutaciones frente a ITINAN seleccionadas por constar en la lista IAS-USA, o estar asociadas a un incremento en la resistencia in vitro a ITINAN o a ETR¹⁸.

Se confirmó que el número de mutaciones para ITINAN en la lista IAS-USA o globales no eran buenos predictores de respuesta a ETR. Se identificaron entonces 13 mutaciones asociadas con resistencia (*V90I*, *A98G*, *L100I*, *K101E*, *K101P*, *V106I*, *V179D*, *V179F*, *Y181C*, *Y181I*, *Y181V*,

G190A y *G190S*) y se confirmó que ETR es un fármaco con una barrera genética media-alta que necesitaba 3 mutaciones o más para desarrollar resistencia completa, que el incremento en el número de mutaciones se asociaba a una disminución en su respuesta virológica y que la mutación *K103N* no afectaba su actividad. No obstante, aunque globalmente la presencia de 3 mutaciones de este primer *score* se asoció con una respuesta reducida al fármaco, resultó obvio que el peso ponderado de cada mutación era distinto. Así, la tasa de respuesta al fármaco se va reduciendo con cada nueva mutación, al igual que sucede con la mayoría de fármacos con barrera genética media-alta. La mejor correlación se obtiene en presencia de *Y181C*, con una reducción lineal de respuesta a ETR con cada nueva mutación (fig. 3).

Analizando por separado la tasa de respuesta obtenida según cada mutación, se observó un escalonamiento progresivo desde *L100I* (menor efecto) hasta *V179F* (mayor efecto) (fig. 4). Sin embargo, cada una de ellas se acompañaba de una media de 3-4 mutaciones más para ITINAN, lo que dificultó el análisis. No obstante, el análisis multivariante ajustando por CV y cifra de CD4 basales, fármacos activos en el régimen acompañante y actividad (FC) de DRV/r, confirmó la correlación entre las mutaciones identificadas frente a ETR y la respuesta virológica ($p = 0,0008$)¹³.

Con mucho, de las mutaciones identificadas frente a ETR, las más frecuentes tras fracaso a ITINAN de primera generación son *Y181C* y *G190A*. *Y181C* es la más frecuentemente seleccionada por NVP.

Se han identificado 17 mutaciones que, en combinación, pueden ir disminuyendo paulatinamente la eficacia de etravirina. Estas mutaciones son *V90I*, *A98G*, *L100I*, *K101E/H/P*, *V106I*, *E138A*, *V179D/F/T*, *Y181C/I/V*, *G190A/S* y *M230L*. Cabe resaltar que este listado de mutaciones al que se llegó a partir de los estudios DUET es el que actualmente recogen las guías de IAS-USA en su reciente actualización de diciembre de 2008.

La mutación frente a no análogos más frecuente en nuestro medio, la *K103N*, no afecta a la eficacia clínica de ETR por sí sola (un dato que, por su importancia, quizá debiera ser mencionado).

Por otro lado, en la publicación de Vingerhoets et al¹⁴ de Sitges (2008) también se propusieron 3 puntos de corte para el *fold change*: sensible (< 3), intermedia (3-13) y resistente (> 13). Paralelamente, se planteó una tabla de ponderación o *score*, dando pesos relativos a cada una de ellas y concluyendo que ninguna por sí sola confiere resistencia plena a ETR. De esta buena correlación de datos clínicos, genotípicos y fenotípicos podemos precisar mejor la barrera genética de ETR y valorar su utilidad clínica incluso cuando un test de resistencias hable de "sensibilidad intermedia". La correlación entre este *score* y los fenotipos en los pacientes del mismo estudio resultó aceptable, aunque no perfecta.

A pesar de que este *score* sólo incluye la sustitución *E138A* en la posición 138, tanto Monogram como Stanford consideran deletérea cualquier sustitución en esta posición (*E138A/G/K/Q*). Recientemente, los investigadores de Virco han confirmado también que las sustituciones *E138A/G/Q* se asocian a un impacto significativo sobre la resistencia a ETR¹⁹. La presencia de *E138A/G/Q* asociada a otras mutaciones incrementa en más de 10 veces la resistencia a ETR.

Score de Monogram

Por su parte, los investigadores de Monogram han desarrollado otro *score* independiente de mutaciones a ETR basándose en una correlación con la resistencia observada en fenotipos, independientemente de los resultados clínicos¹⁵. A diferencia del *score* de Tibotec, éste fue realizado basándose en la información de una extensa base de datos provenientes de 4.248 muestras de la práctica clínica y fueron consideradas todas las mutaciones, incluyendo polimorfismos, potencialmente asociados con resistencia a ITINAN. En este caso, los autores identificaron 30 mutaciones, difiriendo algunas de ellas con las identificadas en el *score* anterior y se le otorgó, asimismo, una puntuación para cada mutación (tabla 1). Para su interpretación, una

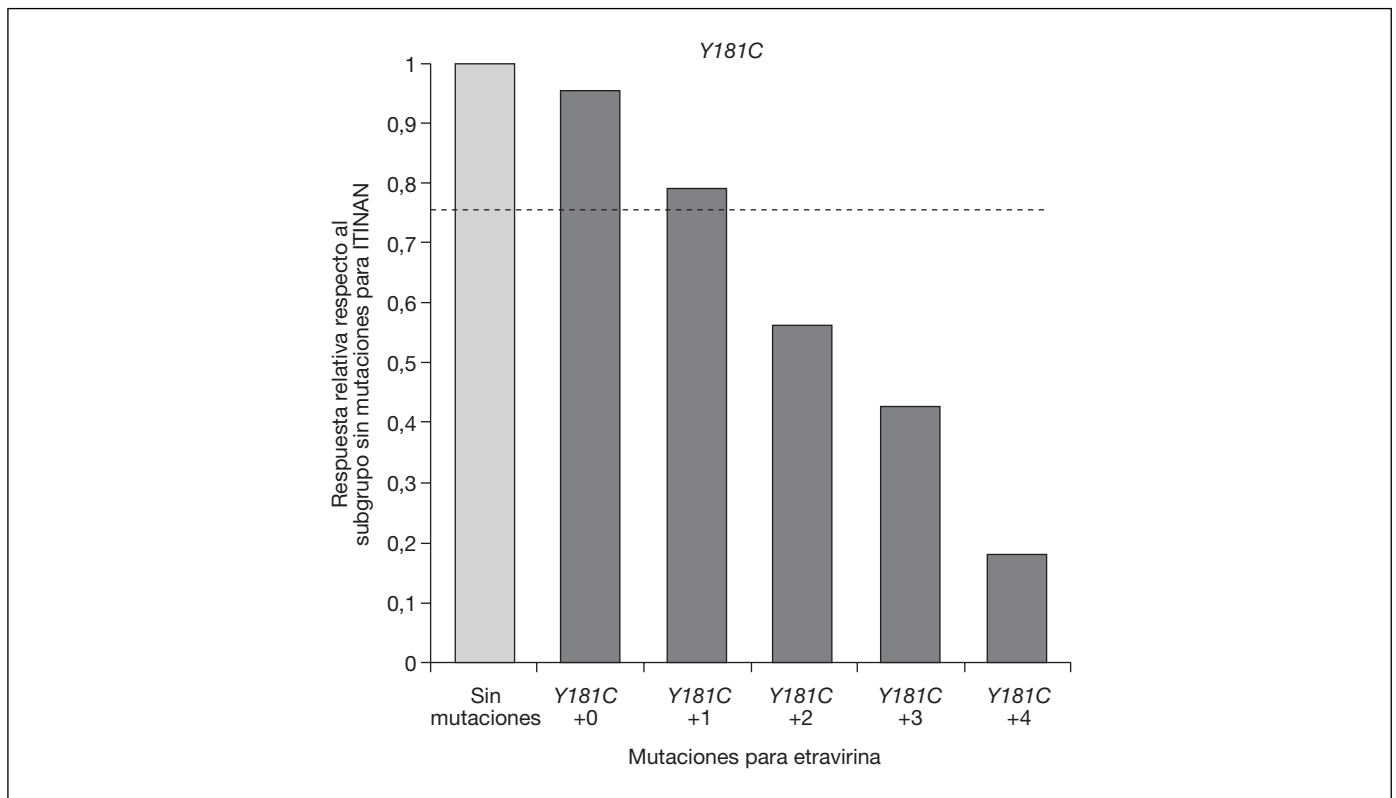


Figura 3. Tasa de respuesta virológica observada en los estudios DUET con el acúmulo de mutaciones para etravirina en presencia de Y181C¹³. ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos.

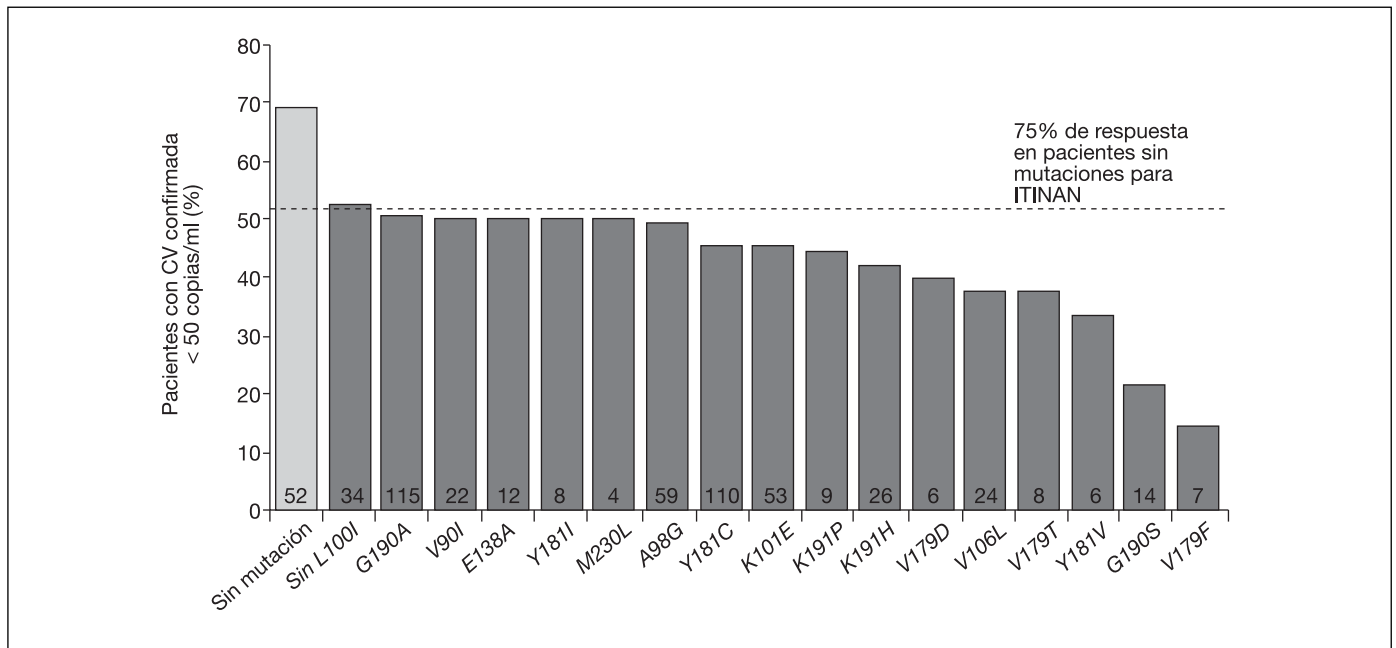


Figura 4. Efecto de las 17 mutaciones identificadas en el score de etravirina sobre la respuesta virológica observada en los estudios DUET. E183A, M230L, K101H y V179T se han añadido en la revisión 2008 a las presentes en 2007^{13,14}. CV: carga viral; ITINAN: inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos.

puntuación ≥ 4 se asocia a FC $> 2,9$ (resistencia intermedia), pero no se logró identificar el punto de corte para la resistencia completa.

La lista identificada muestra una tasa de discordancia respecto a los fenotipos de sólo el 12,4% (el 5,9% en muestras sin mutaciones para análogos), mejor que el 16,8% observado utilizando la presencia

de hasta 3 mutaciones del primer score de Tibotec para definir resistencia al fármaco, como inicialmente se había transmitido.

A pesar de que la lista de mutaciones incluidas y la puntuación de una de ellas difieren ligeramente, la interpretación final de ambos scores es muy parecida.

Tabla 1

Puntuaciones ponderadas de las mutaciones que condicionan resistencia a etravirina (ETR) según los scores de los investigadores de Monogram, Tibotec y Stanford

Mutación	Tibotec ¹⁴	Monogram ¹⁵	Stanford ¹⁶
V90I	1	1	
A98G	1		5
L100I	2,5	4	20
K101E	1	2	15
K101H	1	1	5
K101N			5
K101P	2,5	4	20
K101Q			5
K103N			10
K103S			10
K103T			10
V106A		2	5
V106I	1,5		
V106M		1	10
E138A	1,5	3	5
E138G		3	5
E138K		2	10
E138Q		1	10
V179D	1	1	10
V179E		3	10
V179F	1,5	1	25
V179L		2	
V179M		1	
V179T	1		
Y181C	2,5	4	35
Y181I	3	4	35
Y181F		1	
Y181S			20
Y181V	3	4	35
Y188C			10
Y188H			15
Y188L		2	20
V189I		1	
G190A	1		15
G190C			10
G190E		1	25
G190Q	3		15
G190S	1,5		15
G190T			10
G190V			10
H221Y		1	
P225H		1	10
F227C			15
F227L			5
M230L	2,5	3	20
L234I			10
K238N		3	5
K238T		1	5
Y318F			10

Los espacios en blanco indican que esa mutación no confiere ningún punto en ese score.

Interpretación y significado de las puntuaciones obtenidas con los scores

Score	Puntuación obtenida	Interpretación
Tibotec	0-2	Alta respuesta virológica (74%)
Correlación con la tasa de respuesta virológica obtenida en la rama con ETR en los estudios DUET	2,5-3,5 ≥ 4	Respuesta intermedia (52%) Respuesta reducida (38%), similar a la obtenida en la rama comparadora sin ETR
Monogram*	< 4	Sensible. Corresponde a un <i>fold change</i> < 2,9
Correlación con el fenotipo con un <i>fold change</i> < 0 > a 2,9 en una gran base de datos, independiente de los estudios DUET	≥ 4	Resistencia intermedia. Corresponde a un <i>fold change</i> > 2,9
Stanford	0-9	Sensible
Correlación con el grado de resistencia estimado frente al fármaco	10-14	Resistencia potencial de bajo nivel. El virus probablemente será sensible, aunque contiene algunas mutaciones que indican exposición previa a fármacos de la clase
	15-29	Resistencia de bajo nivel
	30-59	Resistencia intermedia
	≥ 60	Resistencia de alto nivel

*Este score no consiguió identificar el punto de corte para resistencia completa o de alto nivel.

Recientemente, se ha comparado ambos listados con el utilizado en la base de datos de Stanford utilizando muestras con correlación genotipo-fenotipo, y la respuesta clínica en los estudios DUET²⁰. La fiabilidad en la predicción de respuesta clínica o de resistencia fenotípica fue muy similar entre los 2 scores y la propia base de datos de Stanford, lo que confirma que el patrón de mutaciones que confieren respuesta a ETR está ya aceptablemente delimitado (fig. 5).

Base de datos de Stanford

La base de datos de la Universidad de Stanford otorga puntuaciones para cada mutación, y estratifica el resultado final en 5 niveles de sensibilidad/resistencia¹⁶. La estimación de cada puntuación se realiza basándose en estudios publicados que relacionen las mutaciones con el tratamiento antirretroviral, la reducción de la sensibilidad al fármaco (especialmente las mutaciones que la reducen en ausencia de otras) o la respuesta virológica al fármaco. Las mutaciones polimórficas generalmente no reciben puntos (p. ej., V90I y V106I para ETR). Las que reciben mayor puntuación son las que se seleccionan en los fracasos al fármaco. Las puntuaciones se actualizan regularmente. En la tabla 1 se muestra la puntuación que otorga actualmente esta base de datos frente a ETR para todas las mutaciones a ITINAN, y su comparación con los scores de Tibotec y Monogram.

A diferencia de los otros scores, esta base otorga puntos a mutaciones como K103N (10 puntos), ya que considera que a pesar de que no se haya relacionada con resistencia a ETR por sí misma, marca la exposición previa a ITINAN con adquisición de resistencia, por lo que se asocia a mutaciones que sí la incrementan. Asimismo, la presencia de K103N incrementa in vitro la resistencia a ETR cuando se asocia a determinadas mutaciones.

Datos fenotípicos

El fenotipo interpreta mucho mejor que el genotipo las interacciones entre diversas mutaciones, ya sean antagonistas, compensadoras o sinérgicas. Por ello es de enorme importancia disponer de estudios con correlación genotipo-fenotipo con cualquier antirretroviral, así como su correlación con la respuesta clínica al fármaco.

A partir de un grupo de 599 pacientes tratados con ETR en los estudios DUET, Tibotec ha cuantificado los valores de corte clínico (CCO, *clinical cut-off*) del fármaco. Se han correlacionado con respuesta virológica a las 24 semanas, excluyendo la población con fracaso no virológico y los que recibieron enfuvirtide de novo, como se realiza habitualmente²¹. Obviamente, ha sido la primera ocasión en que se establecían estos puntos de corte para un ITINAN.

Los CCO fenotípicos para ETR CCO1 = 3 y CCO2 = 13, son los límites inferior e intermedio que se establecieron. La mejor tasa de respuesta virológica (el 71%; CV < 50 copias/ml) se observó con un FC basal ≤ 3 (equivalente a una puntuación en el score de Tibotec de 0-2 puntos), mientras que la tasa de respuesta intermedia a ETR (el 50%; CV < 50 copias/ml) se observó con un FC de 3-13 (equivalente a un score de Tibotec de 2,5-3,5 puntos). No pudo confirmarse que con FC > 13 no hubiera ninguna actividad residual de ETR debido al bajo número de pacientes con un FC > 13, aunque probablemente el valor sea bastante definitivo.

Asimismo, los investigadores de Monogram han validado el valor de corte bajo fenotípico (mediante Phenosense) para ETR en 2,9²². Identificaron este valor como el del percentil 99 en el incremento del FC a ETR en muestras que no tenían ninguna mutación para ITIAN, ITINAN ni IP. No consiguieron identificar inicialmente el CCO alto que define resistencia al fármaco. En un reanálisis realizado en los estudios DUET que sólo incluía pacientes con actividad reducida para DRV (FC > 30), la respuesta a ETR se redujo seriamente con un FC para ETR > 10, aunque nuevamente sólo hubo 12 muestras que cumplieran estas condiciones²². Por tanto, aunque Monogram no

Figura 5. Predicción de respuesta virológica, definida como porcentaje de pacientes con carga viral < 50 copias/ml a 48 semanas (estudios DUET) y correlación con fenotipos (*fold change*) entre los 3 scores de Tibotec¹⁴, Monogram¹⁵ y Stanford^{16,37}. VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo.

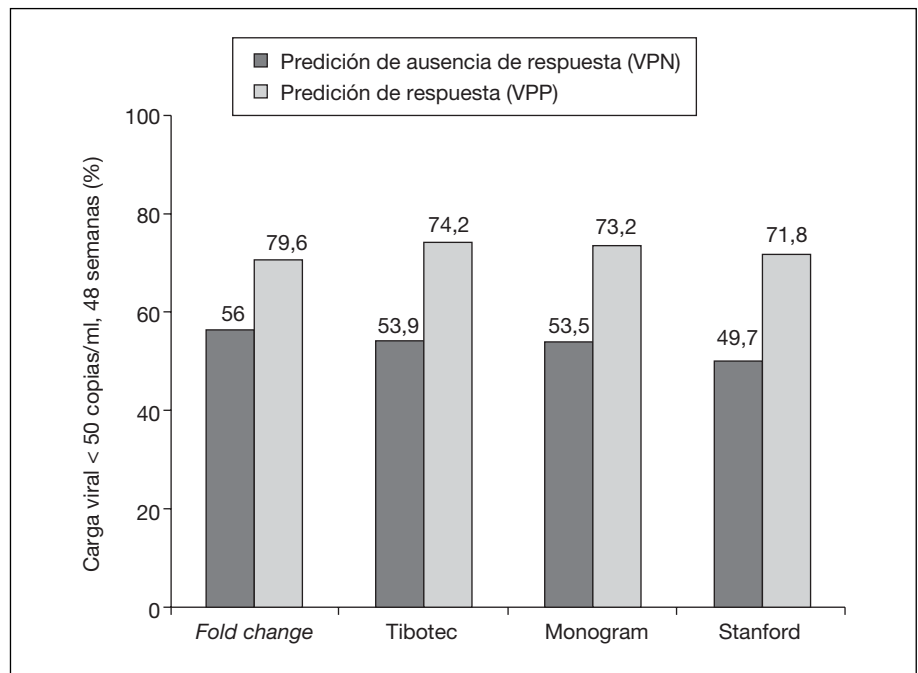
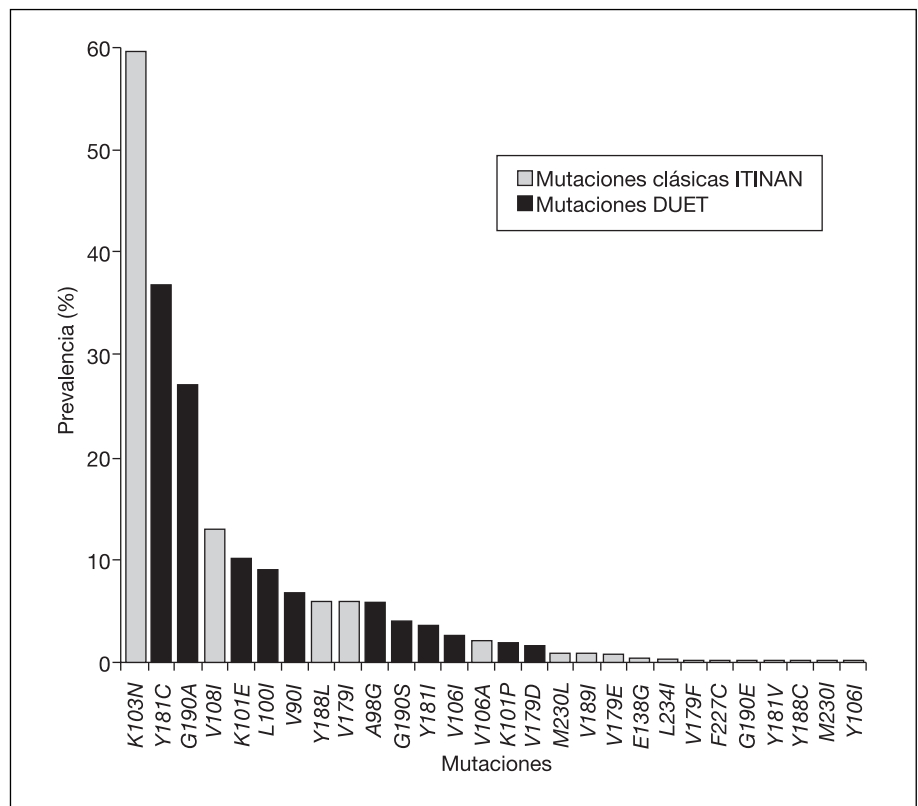


Figura 6. Prevalencia de mutaciones frente a ITINAN (color gris) y específicas frente a etravirina (color negro) en 1.586 muestras clínicas rutinarias de pacientes que han fracasado a regímenes con nevirapina o efavirenz (1998-2006)⁹.



establezca aún definitivamente su CCO2 en 10 para ETR, sí reporta que la actividad del fármaco está muy reducida por encima de ese límite.

Por su parte, Virco ha definido los valores de CCO1 (punto en que se pierde el 20% de actividad máxima de ETR) en 1,6 y el CCO2 (valor en que se pierde el 80% de la actividad máxima) en 27,6²³. Asimismo, la actividad de ETR se ve reducida al 50% con un FC de 5,0.

Algunas mutaciones frente a ITINAN confieren hipersusceptibilidad a ITINAN de primera generación^{24,25}. Este fenómeno bien conocido

puede llegar a comportar beneficio clínico y se ha analizado asimismo frente a ETR. Efectivamente, la presencia de análogos de la timidina M184V o T69N se asoció a distintos grados de hipersusceptibilidad frente a ETR²⁶. El efecto neto final en ausencia de mutaciones para ITINAN es una hipersusceptibilidad al fármaco, mientras que en presencia de 1-2 mutaciones para ITINAN se observa una reducción del nivel de resistencia. Las mayores reducciones en el FC se observaron en presencia de K219N (FC de 0,19) y T215Y (FC de 0,36). Asimismo, cuando no aparecían más de 2 mutaciones para ITINAN, la

presencia de *L74V*, *M184I*, *L210W* y *T215F/Y* se asoció a $FC < 0,4$. Se encontraron asociaciones estadísticamente significativas de *M41L*, *D67N*, *T69D/N*, *K70R*, *L74I/V*, *V118I*, *M184V*, *H208Y*, *L210W*, *T215F/Y* y *K219N/Q/R* con una reducción del FC a ETR. Aunque la relevancia clínica del efecto de estas mutaciones no ha sido aún evaluada, la hipersusceptibilidad frente a ETR no es infrecuente. De hecho, hasta el 34% de las muestras analizadas en el estudio DUET presentaba un $FC < 4^{27}$.

Prevalencia de mutaciones a etravirina tras fracasos de inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos de primera generación

Las mutaciones más comúnmente observadas tras fracasos virológicos o interrupciones de ITINAN de primera generación son (por este orden): *K103N*, *Y181C*, *G190A*, *V108I*, *K101E*, *L100I* y *V90I* (fig. 6)^{9,28}. Las 3 combinaciones mas frecuentes son *Y181C* + *G190A* (27,1%), *K101E* + *G190A* (12,5%) y *V90I* + *Y181C* (7,0%)²⁸.

Sin embargo, las mutaciones seleccionadas por NVP y EFV difieren ligeramente. EFV selecciona *K103N*, *L100I*, *Y188L*, *G190A*, *P225H* y *K101E*, mientras NVP selecciona *Y181C*, *K103N*, *G190A*, *H221Y*, *K101E* y *A98G*^{29,30}.

Hay controversia acerca de si los fracasos a uno y otro fármaco seleccionan mayor resistencia frente a ETR, con datos contradictorios. Así, aunque las mutaciones seleccionadas tras fracasos a NVP comprometen más la actividad de ETR (especialmente *Y181C*), la tasa de acúmulo de mutaciones tras fracasos a NVP resultó ser un 58% menor (intervalo de confianza del 95%, 22-77%; $p = 0,006$) que la de EFV en la cohorte de EuroSIDA con 154 pacientes tratados con NVP o EFV, y genotipos basales y de seguimiento³¹. Contrariamente, en el estudio ANRS AC11 el uso previo de NVP se asoció a peor respuesta virológica a ETR que el de EFV (el 77 frente al 91%; $p = 0,03$)³². En otro estudio reciente, tras el fracaso a EFV la tasa de pacientes sin mutaciones frente a ETR fue mayor que tras el fracaso a NVP ($p = 0,002$), aunque no hubo diferencias significativas en la tasa de pacientes con más de 2 mutaciones frente a ETR, por lo que las diferencias entre NVP y EFV se centrarían en grados bajos de resistencia a ETR³³. Finalmente, un análisis realizado en los estudios DUET con 599 pacientes tratados con ETR, el que tiene mayor nivel de evidencia y potencia estadística de todos ellos, demostró exactamente las mismas tasas de respuesta en pacientes tratados anteriormente con NVP o EFV (el 61% para ambos, definida como $CV < 50$ copias/ml a 48 semanas), de modo que la exposición previa a NVP no resultó ser un predictor de respuesta a ETR ($p = 0,603$)³⁴.

Globalmente, no es infrecuente encontrar cepas con actividad intermedia de ETR tras fracasos a ITINAN de primera generación con selección de mutaciones, aproximadamente un 30% de pacientes, mientras que sí es infrecuente la resistencia completa al fármaco (cerca del 5%)⁹.

En cualquier caso, lo más importante para evitar la selección de resistencia a ETR es la retirada precoz de los ITINAN de primera generación en pautas en fracaso virológico, así como evitar las interrupciones prolongadas de tratamientos con estos fármacos.

Papel de las mutaciones minoritarias frente a etravirina.

La presencia de mutaciones en proporciones bajas de la población viral de VIH-1 de un individuo, habitualmente $< 20\%$, no puede ser detectada mediante los genotipos comerciales utilizados actualmente¹.

Es frecuente la presencia de mutantes simples, con una sola mutación, bastante más infrecuente la presencia de dobles mutantes, y excepcional la presencia en poblaciones minoritarias de 3 o más mutaciones ocultas frente a una misma diana (p. ej., los ITINAN)^{3,4}.

Por tanto, el paradigma de fármacos frente a los que la detección de estas mutaciones tendrá impacto clínico es el que posee barrera genética baja.

Para comportar una pérdida completa de actividad de ETR se requieren habitualmente 3-5 mutaciones. Sin embargo, en pacientes con 1 a 3 mutaciones frente a ETR y actividad intermedia del fármaco,

la presencia de otra mutación oculta podría llegar a tener relevancia clínica.

Recientemente, se han analizado los primeros 240 residuos de la TI en muestras de 33 pacientes en cuyo genotipo convencional sólo se identificaba *K103N*. Mediante el ultrasecuenciador 454 (Life Sciences, Roche) se comprobó que 6 de 13 pacientes *naïve* tenían básicamente otra mutación frente a ITINAN, pero sólo 1 de ellos con relevancia (baja, *V90I*, 1,4% de la población viral) frente a ETR³⁵. En cambio, 9 de 20 pacientes (45%) con fracaso previo a NVP o EFV tenían mutaciones minoritarias frente a ETR (*G190A/S*, *V90I*, *Y181C*, *K101E*, *L100I*, *V179D* y *V106I*). Estas mutaciones estaban presentes en el 1-31% de la población viral y podrían tener repercusión sobre un tratamiento con ETR. Por tanto, la presencia de mutaciones ocultas frente a ITINAN en poblaciones minoritarias es frecuente en pacientes que han fracasado a ITINAN de primera generación, mientras que es excepcional en *naïves*.

De este modo, en pacientes con fracaso a ITINAN de primera generación y presencia de *K103N* en genotipo de masas, serán muy relevantes los datos de estudios en curso acerca del impacto clínico de poblaciones minoritarias con mutaciones frente a ETR, pues no son infrecuentes.

Conclusiones

ETR es el primer ITINAN de segunda generación con actividad frente a cepas de VIH-1 resistentes a ITINAN de primera generación. Comparte un cierto grado de resistencia cruzada con los ITINAN de primera generación. *K103N*, la mutación más frecuente tras el fracaso a estos fármacos, no impacta la actividad de ETR, y la importancia de cada mutación identificada en su *score* es distinta. El conocimiento adecuado de su perfil de resistencias es indispensable para poder optimizar su uso, alcanzando tasas muy elevadas de supresión virológica en pacientes multitratados con fracaso virológico.

Actualmente, se dispone de *scores* sencillos que predicen con fiabilidad y concordancia la actividad del fármaco basándose en las mutaciones presentes en el fracaso virológico.

Aunque la resistencia completa a ETR es infrecuente, aproximadamente 1 de cada 3 pacientes con fracasos a ITINAN de primera generación que seleccionen mutaciones presentará grados variables de resistencia intermedia al fármaco.

En un futuro próximo se esperan estudios que aclaren el impacto diferencial de fracasos previos a NVP o EFV sobre la respuesta al fármaco, así como la relevancia clínica de la presencia de mutaciones minoritarias frente a ETR.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. *AIDS Rev*. 2008;10:67-84.
2. Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med*. 2004;350:1023-35.
3. Johnson JA, Li JF, Wei X, Lipscomb J, Irlbeck D, Craig C, et al. Minority HIV-1 drug resistance mutations are present in antiretroviral treatment-naïve populations and associate with reduced treatment efficacy. *PLoS Med*. 2008;5:e158.
4. Metzner KJ, Giulieri SG, Knoepfel SA, Rauch P, Burgisser P, Yerly S, et al. Minority quasiespecies of drug-resistant HIV-1 that lead to early therapy failure in treatment-naïve and -adherent patients. *Clin Infect Dis*. 2009;48:239-47.
5. Nadler JP, Berger DS, Blick G, Cimoch PJ, Cohen CJ, Greenberg RN, et al. Efficacy and safety of etravirine (TMC125) in patients with highly resistant HIV-1: primary 24-week analysis. *AIDS*. 2007;21:F1-10.
6. Madruga JV, Cahn P, Grinsztejn B, Haubrich R, Lalezari J, Mills A, et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2007;370:29-38.
7. Lazzarin A, Campbell T, Clotet B, Johson M, Katlama C, Moll A, et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-2: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2007;370:39-48.

8. Cohen CJ, Berger DS, Blick G, Grossman HA, Jayaweera DT, Shalit P, et al. Efficacy and safety of etravirine (TMC125) in treatment-experienced HIV-1-infected patients: 48-week results of a phase IIb trial. *AIDS*. 2009;23:423-6.
9. Llibre JM, Santos JR, Puig T, Molto J, Ruiz L, Paredes R, et al. Prevalence of etravirine-associated mutations in clinical samples with resistance to nevirapine and efavirenz. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62:909-13.
10. Andries K, Azijn H, Thielemans T, Ludovici D, Kukla M, Heeres J, et al. TMC125, a novel next-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor active against nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-resistant human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:4680-6.
11. Udier-Blagovic M, Tirado-Rives J, Jorgensen WL. Validation of a model for the complex of HIV-1 reverse transcriptase with nonnucleoside inhibitor TMC125. *J Am Chem Soc*. 2003;125:6016-7.
12. Peeters M, Vingerhoets J, Tambuyzer L, Azijn H, Hill A, De Meyer S, et al. Etravirine protects the activity of darunavir in the DUET trials. Proceedings of the 9th International Conference on Drug Therapy in HIV Infection. Glasgow, 9 Nov 2008. Abstract P181.
13. Vingerhoets J, Buelens A, Peeters M, Picchio G, Tambuyzer L, Van Marck H, et al. Impact of baseline NNRTI mutations on the virologic response to TMC125 in the phase III clinical trials DUET-1 and DUET-2. Proceedings of the XVI International HIV Drug Resistance Workshop. Barbados, 12 junio 2007. Abstract 32.
14. Vingerhoets J, Peeters M, Azijn H, Hoogstoel A, Nijs S, De Bethune MP, et al. An update of the list of NNRTI mutations associated with decreased virologic response to etravirine (ETV): multivariate analyses on the pooled DUET-1 and DUET-2 clinical trial data. Proceedings of the XVIIth International Drug Resistance Workshop. Sitges, Spain, 10 junio 2008. Abstract 24.
15. Benhamida J, Chappey C, Coakley E, Parkin N. HIV-1 genotype algorithms for prediction of etravirine susceptibility: novel mutations and weighting factors identified through correlations with phenotype. Proceedings of the XVIIth International HIV Drug Resistance Workshop. Sitges, Spain, 10 junio 2008. Abstract 130.
16. Stanford University HIV Drug Resistance Database [consultado 8-7-2009]. Disponible en: <http://hivdb.stanford.edu/>
17. Vingerhoets J, Azijn H, Franssen E, De Baere I, Smeulders L, Jochmans D, et al. TMC125 displays a high genetic barrier to the development of resistance: evidence from in vitro selection experiments. *J Virol*. 2005;79:12773-82.
18. Hirsch MS, Gunthard HF, Schapiro JM, Brun-Vezinet F, Clotet B, Hammer SM, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adult HIV-1 infection: 2008 recommendations of an International AIDS Society-USA panel. *Clin Infect Dis*. 2008;47:266-85.
19. Kagan RM, Sista P, Pattery T, Bachelier L, Schwab DA. Additional HIV-1 mutation patterns associated with reduced phenotypic susceptibility to etravirine in clinical samples. *AIDS*. 2009;23:1602-5.
20. Tambuyzer L, Vingerhoets J, Azijn H, Hoogstoel A, Nijs S, Picchio G. Comparison of two etravirine weighted genotypic scores with phenotypic susceptibility and virological response data. Proceedings of the 7th European HIV Drug Resistance Workshop. Stockholm, Sweden, 9 Mar 2009. Abstract 114.
21. Peeters M, Nijs S, Vingerhoets J, Tambuyzer L, Woodfall B, De Bethune MP, et al. Determination of phenotypic clinical cut-offs for etravirine (ETV): pooled week 24 results of the DUET-1 and DUET-2 trials. Proceedings of the XVIIth International Drug resistance Workshop. Sitges, Spain, 8 junio 2008. Abstract 121.
22. Coakley E, Chappey C, Benhamida J, et al. Biological and clinical cut-off analysis of etravirine in the PhenoSense HIV assay. Proceedings of the XVII International HIV Drug Resistance Workshop. Sitges, Spain, 8 junio 2008. Abstract 122.
23. Bachelier L, Van del Borgh K, Van Craenenbroeck E, Winters B, Lecocq P. Exploring etravirine resistance among recent routine clinical samples submitted for resistance testing. Proceedings of the XVII International HIV drug resistance Workshop. Sitges, Spain, 8 junio 2008. Abstract 110.
24. Haubrich RH, Kemper CA, Hellmann NS, Keiser PH, Witt MD, Forthal DN, et al. The clinical relevance of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor hypersusceptibility: a prospective cohort analysis. *AIDS*. 2002;16:F33-40.
25. Whitcomb JM, Huang W, Limoli K, Paxinos E, Wrin T, Skowron G, et al. Hypersusceptibility to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV-1: clinical, phenotypic and genotypic correlates. *AIDS*. 2002;16:F41-7.
26. Benhamida J, Coakley E, Parkin N, Chappey C. Increased phenotypic susceptibility to etravirine in HIV-1 with nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance. *Antivir Ther*. 2008;13 Suppl 3:A24.
27. Coakley E, Chappey C, Benhamida J, Tambuyzer L, Vingerhoets J, De Bethune MP, et al. Defining the upper and lower clinical cutoffs for etravirine in the phenosense HIV assay. Proceedings of the 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Montreal, Canada, 9 Feb 2009. Abstract 687.
28. Tambuyzer L, Azijn H, Rimsky LT, Vingerhoets J, Lecocq P, Kraus G, et al. Compilation and prevalence of mutations associated with resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antivir Ther*. 2009;14:103-9.
29. Deforche K, Camacho RJ, Grossman Z, Soares MA, Van Laethem K, Katzenstein DA, et al. Bayesian network analyses of resistance pathways against efavirenz and nevirapine. *AIDS*. 2008;22:2107-15.
30. Bannister WP, Ruiz L, Cozzi-Lepri A, Mocroft A, Kirk O, Staszewski S, et al. Comparison of genotypic resistance profiles and virological response between patients starting nevirapine and efavirenz in EuroSIDA. *AIDS*. 2008;22:367-76.
31. Cozzi-Lepri A, Clotet B, Paredes R, Kjaer J, Phillips AN, Lundgren JD. The rate of accumulation of NNRTI resistance in patients kept on a virologically failing regimen containing NNRTI: a EuroSIDA study. Proceedings of the XVII International HIV Drug Resistance Workshop. Sitges, Spain, 8 Jun 2008. Abstract 128.
32. Marcelin AG, Flandre P, Descamps D, Morand-Jaubert L, Charpentier C, Izopet, et al. Factors associated with early virologic response to etravirine in NNRTI experienced HIV-infected patients. Proceedings of the 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Montreal, Canada, 9 Feb 2009. Abstract 654.
33. Scott C, Grover D, Nelson M. Is there a role for etravirine in patients with Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance? *AIDS*. 2008;22:989-90.
34. Cahn P, Molina JM, Townner W, Peeters M, Vingerhoets J, Beets G, et al. 48-week pooled analysis of the DUET-1 and DUET-2: the impact of baseline characteristics on virologic response to etravirine. Proceedings of the XVIIth International AIDS Conference. Mexico City, 3 Aug 2008. Abstract TUPE0047.
35. Varguese V, Shariar R, Rhee SY, Simen BB, Egholm M. Minority drug resistance mutations associated with the NNRTI mutation K103N in ART-naïve and NNRTI-treated HIV-1 infected patients. Proceedings of the XVIIIth International Drug Resistance Workshop. Florida, US, 9 Jun 2009. Abstract 122.