

Resistencia del virus de la hepatitis B a lamivudina y adefovir en un paciente con hepatitis crónica B y antígeno e negativo

M.L. Mateos^a, M. Tato^a y V. Moreira^b

^aServicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. España.

^bServicio de Gastroenterología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. España.

RESUMEN

Paciente de 49 años, diagnosticado de hepatitis crónica B y antígeno e negativo, al que a los 34 meses de tratamiento con lamivudina, y coincidiendo con un aumento de la carga viral del virus de la hepatitis B (VHB), se detectaron las mutaciones M204I y L180V, que confieren resistencia a dicho fármaco. Se cambió el tratamiento a adefovir y a los 16 meses, en un estudio de secuenciación del VHB para conocer su genotípico, se observó la mutación N236T en la región de la retrotranscriptasa, que se asocia con resistencia a adefovir. La carga viral del VHB en sangre en ese momento era de 3×10^7 U/ml.

El adefovir se considera el tratamiento alternativo a la lamivudina cuando aparecen resistencias a ésta. Es muy infrecuente la aparición de resistencias al adefovir y en España no se ha publicado todavía ningún caso. Sin embargo, hay que tener en cuenta esta posibilidad en pacientes que no responden al adefovir y confirmarla con un estudio de resistencias del VHB.

LAMIVUDINE AND ADEFOVIR RESISTANCE IN A PATIENT WITH HBeAG NEGATIVE CHRONIC HEPATITIS B

We have studied a 49-year-old patient with a HBeAg-negative chronic hepatitis B in whom, after 34 months of treatment with lamivudine and associated with an increase in the serum hepatitis B virus (HBV) DNA, the lamivudine resistance mutations M204I and L180V were detected. Lamivudine was substituted for adefovir dipivoxil and after 16 months of treatment, in the course of a study to investigate hepatitis B genotypes, the adefovir resistance mutation N236T was detected. HBV viral load in this sample was 3×10^7 UI/ml.

Adefovir is considered as the alternative treatment when lamivudine resistance is detected. Appearance of resistance to adefovir is very unusual and in Spain, no case has been communicated yet. However, we must be aware of the adefovir resistance in patients who do not respond to adefovir and it must be confirmed with a resistance study, if possible.

INTRODUCCIÓN

Los objetivos del tratamiento en los pacientes con hepatitis crónica B son principalmente suprimir la replicación del virus de la hepatitis B (VHB), normalizar los valores de transaminasas y reducir la lesión hepática. La lamivudina es uno de los tratamientos recomendados¹, pero un número elevado de pacientes no responden porque el VHB desarrolla mutaciones que confieren resistencia a este fármaco. Como tratamiento alternativo se utiliza el adefovir dipivoxil, profármaco oral del análogo del nucleótido adefovir. La resistencia a éste es muy infrecuente, aunque últimamente se han publicado algunos casos^{2,3}. La sospecha clínica de aparición de resistencia puede confirmarse mediante una prueba en el laboratorio que consiste en la secuenciación del VHB y que pone de manifiesto la presencia de la mutación N236T en la región de la retrotranscriptasa⁴.

Recientemente hemos tenido ocasión de estudiar a un paciente con hepatitis crónica B y antígeno e (HBeAg) negativo, en el que el tratamiento con lamivudina primero y adefovir después no dio resultado, debido a la aparición de mutaciones en el VHB que conferían resistencia a la lamivudina primero y después a adefovir.

OBSERVACIÓN CLÍNICA

Paciente asintomático de 49 años, que acudió en 1999 a la consulta de gastroenterología por un hallazgo casual de transaminasas elevadas –aspartato-aminotransferasa y alamina-aminotransferasa (ALT) de 50 y 86 U/l, respectivamente–. No tenía antecedentes de transfusiones ni ningún factor de riesgo para infecciones transmitidas por vía parenteral. Los marcadores serológicos de hepatitis virales fueron los siguientes: antígeno de superficie del VHB positivo, HBeAg negativo, anticuerpos contra el HBeAg positivos, ADN del VHB de $5,7 \times 10^7$ U/ml, anticuer-

Correspondencia: Dra. M.L. Mateos.

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal.
Ctra. de Colmenar, km 9,1. 28034 Madrid. España.

Correo electrónico: mmateos.hrc@salud.madrid.org

Recibido el 28-2-2005; aceptado para su publicación el 21-9-2005.

TABLA I. Evolución del ADN del virus de la hepatitis B (VHB) y de las transaminasas a lo largo del tratamiento

	Febrero de 1999	Enero de 2000 ^a	Septiembre de 2000	Febrero de 2001	Octubre de 2002 ^b	Mayo de 2003	Febrero de 2004	Abril de 2005
ALT (U/l)	110	105	145	55	258	41	129	123
AST (U/l)	65	66	100	41	178	39	76	135
ADN-VHB (U/ml)	$10^7 \text{--} 10^8$	$7,1 \times 10^7$	$5,3 \times 10^7$	$< 10^5$	5×10^6	$< 10^5$	3×10^7	$3,6 \times 10^7$
Mutaciones					L180M M204I		N236T	N236T

ALT: alanina-aminotransferasa; AST: aspartato-aminotransferasa.

Valores normales de transaminasas: ALT, 5-40 U/l; AST, 4-50 U/l.

^aInicio del tratamiento con lamivudina.

^bCambio de tratamiento con adefovir.

pos contra los virus de la hepatitis C y D negativos. Se efectuó una biopsia hepática que mostró hepatitis crónica B en fase de replicación viral (*core* nuclear citoplásmico del 20%) con leve actividad necroinflamatoria, índice de actividad histológica de Knodell de 2 y estadio de fibrosis portal de 1 según la clasificación de Ishak. Se inició tratamiento en enero de 2000 con 100 mg al día de lamivudina. La carga viral fue indetectable ($< 10^5$ U/ml, límite de detección de la técnica empleada) un año después, en febrero de 2001, y se mantuvo así hasta octubre de 2002, cuando se detectó un aumento significativo (5×10^6 U/ml). En ese momento se cambió el tratamiento a adefovir, a dosis de 10 mg al día. En mayo de 2003 la carga viral había disminuido hasta valores indetectables ($< 10^5$ U/ml) y la ALT estaba alrededor de 40-50 U/l en varias determinaciones y así se mantuvo hasta febrero de 2004, cuando se encontraron unos valores de ADN del VHB de 3×10^7 U/ml y un aumento de ALT progresivo de aproximadamente 2 o 3 veces los valores normales (tabla I). Hasta abril de 2005, fecha del último control, la carga viral se mantuvo en valores altos (osciló entre 3×10^7 y $1,1 \times 10^8$ U/ml). El paciente estuvo asintomático sin presentar datos de descompensación hepática en ningún momento. En mayo de 2005 se inició tratamiento con entecavir, a dosis de 0,5 mg al día, en uso compasivo, y el adefovir se retiró definitivamente en junio de 2005.

En un estudio retrospectivo en sueros de archivo para determinar los genotipos del VHB e investigar el desarrollo de resistencias a la lamivudina y el adefovir, se seleccionaron 3 sueros de este paciente. El primero de ellos, correspondiente a octubre de 2002, coincide con un aumento de la carga viral tras el inicio del tratamiento con lamivudina. El segundo de ellos, perteneciente a febrero de 2004, coincide con un aumento de la carga viral tras el cambio de tratamiento a adefovir. Por último, se incluye un suero correspondiente al último control, de mayo de 2005 (tabla I).

El ADN del VHB se midió por hibridación (Digene Hybrid Capture II, Digene Corporation, Gaithersburg, EE. UU.) hasta septiembre de 2003 y después mediante reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real utilizando extracción automática (Ampliprep y COBAS TAQMAN HBV HPS, Roche Diagnostics, New Jersey, EE. UU.). El genotipo y estudio de mutaciones del VHB se llevó a cabo por secuenciación directa (Trugene HBV Genotyping kit, Bayer Health care, New York, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. Este método amplifica un fragmento en la región de la retrotranscriptasa, entre los dominios B y E, región que se solapa con la que codifica el antígeno de superficie, pero no permite confirmar mutaciones de la región del *core*, por lo que no se ha podido confirmar que la cepa del VHB que infectó al paciente fuera un mutante pre-*core*.

En las 3 muestras estudiadas la secuenciación identificó el genotipo D. Los resultados de las mutaciones, así como los valores de las transaminasas, se muestran en la tabla I. Las mutaciones L180M y M204I se asocian a resistencia a la lamivudina y la N236T a resistencia al adefovir.

DISCUSIÓN

Mediante secuenciación se ha determinado que el VHB del paciente pertenece al genotipo D. Éste es el genotipo más frecuente en enfermos de hepatitis crónica en nuestro país⁵. Además, se ha confirmado que el fracaso terapéutico (aumento de la carga viral y de valores de ALT), con lamivudina primero y adefovir después, se debió a la aparición de mutaciones desarrolladas en el VHB a lo largo del tiempo.

El tratamiento con lamivudina es eficaz en la mayoría de los pacientes con hepatitis crónica B y HBeAg negativo⁶.

Sin embargo, en este paciente no se obtuvo una disminución de la carga viral hasta un año después de su inicio, para luego mantenerse el ADN del VHB indetectable durante aproximadamente un año más (tabla I). Después, en el control de octubre de 2002, se observó un aumento importante del ADN del VHB en sangre (5×10^6 U/ml) y de la cifra de ALT. Ante la sospecha clínica de resistencia fenotípica a la lamivudina, se decidió cambiar a adefovir. La resistencia a la lamivudina se confirmó posteriormente al encontrarse las mutaciones L180M y M204I en el VHB, coincidiendo con una elevación de la carga viral y de la ALT. Al instaurar el tratamiento con adefovir, inicialmente hubo una buena respuesta, pues el ADN del VHB volvió a disminuir a valores indetectables hasta febrero de 2004, fecha en que se observó un aumento significativo (3×10^7 U/ml), y así continuó hasta el último control. Este aumento de la carga viral del ADN del VHB coincidió con la presencia de la mutación N236T, que confiere resistencia a adefovir. Por lo tanto, se puede afirmar que ésta apareció antes de los 16 meses de tratamiento con adefovir. Como señalan otros autores^{2,3} y hemos confirmado en nuestro paciente, no se detectan las mutaciones L180M y M204I, asociadas a resistencia a la lamivudina, 2 años después de abandonar este tratamiento y es interesante tener en cuenta que el VHB con la mutación N236T asociada a resistencia al adefovir es susceptible a lamivudina.

La monitorización del tratamiento de la hepatitis crónica B se realiza estudiando la carga viral del VHB en sangre. Si se consigue una disminución hasta valores inferiores a 10^5 copias/ml y una mejoría de la hepatopatía, la respuesta al tratamiento se considera favorable⁷. Sin embargo, el principal problema del tratamiento con lamivudina es la aparición de resistencias, que se evidencian con un aumento de la carga del ADN del VHB y con la falta de respuesta clínica o incluso con el empeoramiento del paciente. El fracaso del tratamiento se asocia a la aparición en el VHB de las mutaciones L180M y M204I, solas o acompañadas de otras, en la región de la retrotranscriptasa. Esta resistencia aparece a lo largo del tiempo en el curso del tratamiento, pero al cabo de 5 años puede ser muy elevada, hasta del 69%⁸. El adefovir se considera el tratamiento alternativo en estos pacientes precisamente por la escasa probabilidad de que aparezca resistencia y por la seguridad y eficacia de su uso⁹. Esta resistencia se asocia a la mutación rtN236T; es decir, en la posición 236 de la región de la retrotranscriptasa, el aminoácido aspárragina

está sustituido por treonina. También se ha detectado otra mutación, alanina por valina en la posición 181 de la polimerasa (rtA181V) en 2 pacientes en tratamiento con adefovir, por lo que se cree que también esta mutación se asocia a resistencia a dicho fármaco¹⁰. Se considera que la aparición de resistencias es un hecho muy infrecuente en el curso del tratamiento con adefovir, aunque es verdad que hasta ahora no se han realizado muchos estudios que contengan un número elevado de pacientes con un seguimiento de su evolución durante un período largo. Westland et al¹¹ no encontraron ninguna resistencia a las 48 semanas de tratamiento. En el trabajo realizado por Xiong et al⁴, a las 96 semanas de tratamiento sólo en 2 de 79 pacientes se detectó la cepa mutante rtN236T. Hadziyannis et al¹², en un estudio publicado recientemente, también señalan que la aparición de resistencia al adefovir es infrecuente y dan porcentajes del 0, el 3 y el 5,9% a las 48, 96 y 144 semanas, respectivamente. Aun así, creamos que es conveniente monitorizar a los enfermos cada 4-6 meses, sobre todo después del primer año de tratamiento. Cuando haya sospecha de fracaso terapéutico, se debe estudiar la carga viral del ADN del VHB en sangre y, si es posible, realizar un estudio de resistencias al adefovir.

Hasta ahora, éste es el primer caso publicado en España en el que se detecta la mutación rtN369T asociada a un aumento de la carga viral del VHB y a fracaso en el tratamiento con adefovir. Los estudios realizados hasta la fecha indican que es muy raro que las mutaciones que confieren resistencia aparezcan antes de los 12 meses de tratamiento. Sin embargo, es previsible que se den a conocer más casos en el futuro, cuando el adefovir se mantenga durante períodos más largos, como muestra el trabajo realizado recientemente por Locarnini et al¹³. Por el momento, el único ensayo capaz de confirmar la aparición de estas mutaciones es la secuenciación del VHB y actualmente no es una prueba disponible en la mayoría de los laboratorios. En el futuro, si se confirma su utilidad y se desarrolla una prueba de laboratorio más asequible, barata y fácil de realizar, el estudio de las resistencias del

VHB debería formar parte de la monitorización del tratamiento de la hepatitis crónica B.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lok ASF, MacMahon BJ. Chronic hepatitis B: update of recommendations. *Hepatology*. 2004;39:857-61.
2. Villeneuve JP, 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.
3. Angus P, Vaughan R, Xiong S, Yang H, Delaney W, Gibbs C, et al. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology*. 2003;125:292-7.
4. Xiong S, Yang H, Westland CE, Delaney W, Colledge D, Bartolomeusz A, et al. Resistance surveillance of HBsAg-chronic hepatitis B patients treated for two years with adefovir dipivoxil [resumen]. *J Hepatol*. 2003;38 Suppl:182.
5. Nogales MC, Serrano MC, Suárez E, Corpas R, Pérez L, Claro R, et al. Determinación del genotipo del virus de la hepatitis B y detección de mutaciones de resistencia al tratamiento con lamivudina. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:515-20.
6. Buti M. Actualización en el tratamiento de la hepatitis crónica B. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:55-7.
7. Conjeevaram H, Lok A. Management of chronic hepatitis B. *J Hepatol*. 2003;38:90-103.
8. Liaw YF. Results of lamivudine in Asian trials. *Actas de EASL International Consensus Conference on Hepatitis B*; 2002, septiembre 13-14; Geneva. Geneva: European Association for the Study of the Liver; 2002.
9. Pérez Roldán F, Roncero García-Escribano O, González Carro P, Villafanez García MC, Legaz Huidobro ML. Seguridad y eficacia del uso de adefovir dipivoxil en el tratamiento de pacientes con hepatopatía crónica por VHB. *Gastroenterol Hepatol*. 2004;27:423-3.
10. Dando T, Plosker G. Adefovir dipivoxil. A review of its use in chronic hepatitis B. *Drugs*. 2003;63:2215-34.
11. Westland CE, Yang H, Delaney WE. Week 48 resistance surveillance in two phase 3 clinical studies of adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2003;38:96-103.
12. Hadziyannis S, Tassopoulos N, Heathcote E, Chang T, Kitis G, Ruizetto M, et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBsAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2005;352: 2673-81.
13. Locarnini S, Qi X, Arterburn S, Snow A, Brosgart CL, Currie G, et al. Incidence and predictors or emergence of adefovir resistant HBV during four years of adefovir dipivoxil (ADV) therapy for patients with chronic hepatitis B (CHB). *J Hepatol*. 2005;42 Suppl 2:17.