

Hepatitis por virus B. Bases moleculares de resistencia a los nuevos fármacos

Eugenia Quirós y María del Carmen Maroto

Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina.
Universidad de Granada.

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB), a pesar de la vacuna, continúa siendo un gran problema de salud mundial. En este momento, se estima que el número de portadores crónicos del antígeno de superficie (HBsAg) en la población mundial es superior a 400 millones, actuando como reservorios de infección, y que cada año mueren 3 millones de personas debido a complicaciones directa o indirectamente relacionadas con el virus¹.

El VHB es un virus de doble cadena incompleta, que pertenece a la familia *Hepadnavirinae*, y que durante su proceso reproductivo requiere una transcripción inversa (transcripción de ARN a ADN), característica propia de los retrovirus. Diversos estudios de cinética sobre la infección con VHB han permitido establecer que, aproximadamente, pasan 10¹¹ partículas virales cada día de las células infectadas a la circulación, con un recambio diario del 50% de viriones. La vida media del virus en sangre es inferior a 3 días, y la vida media del hepatocito infectado oscila entre 3 y 100 días. Por todo ello, es necesario un tratamiento efectivo y prolongado cuya finalidad sea eliminar el VHB en pacientes con infección crónica^{2,3}.

En general, las infecciones crónicas por determinados virus, entre los cuales se encuentran el VHB y VIH, se caracterizan por la rápida aparición de múltiples variantes virales (cuasiespecies), fenómeno relacionado con la carencia de «actividad reparadora de errores» de la transcriptasa inversa (TI)⁴. Por ello, algunas mutaciones genéticas pueden conceder cierta ventaja biológica al VHB, evitando la respuesta inmune y/o presentando resistencia al tratamiento.

Hasta hace poco tiempo, el interferón (IFN) era la única terapia reconocida para el tratamiento de la infección crónica, siendo útil únicamente en una minoría de pacientes (inferior al 35%), y considerando como respuesta efectiva la pérdida de antígeno e (HBeAg), la eliminación o reducción del VHB-ADN a valores indetectables con las técnicas habituales de hibridación, y la normalización de las transaminasas. Para conseguir buenos resultados era necesario reunir una serie de factores, siendo los más importantes el alto nivel de aminoaminotransferasa (ALT) y la baja cantidad de VHB-ADN en suero previamente al tratamiento. Ambos factores son reflejo de una respuesta inmune eficaz⁵⁻⁷.

Los avances logrados en el tratamiento de la infección por VIH han abierto nuevas perspectivas en el tratamiento de la hepatitis. La transcriptasa inversa es una enzima presente en todos los virus, que durante su proceso replicativo requieren una transcripción de ARN a ADN, y que posee un dominio catalítico muy conservado, especialmente en el *locus*

YMDD del dominio C⁸. Algunos de los inhibidores de la transcriptasa inversa activos contra el VIH han demostrado ser eficaces contra el VHB^{9,10}. Los análogos de los nucleósidos son moléculas que, fosforiladas intracelularmente, presentan una afinidad por la enzima viral muy superior a la que posee por la ADN polimerasa celular, determinando el fin de sus síntesis (por lo que también son denominados «terminadores de cadena»).

Recientemente ha sido comprobada la eficacia del 3TC (lamivudina) en el control de la replicación del VHB en pacientes con infección crónica. Sin embargo, la administración crónica del fármaco se asocia fundamentalmente a una mutación en el locus YMDD y a una reactivación de la replicación viral. La sustitución de la metionina por valina o isoleucina (M-V/I) en dicho *locus*, previamente relacionada con una disminución en sensibilidad del VIH al 3TC (mutación en el codón 184 de la transcriptasa inversa del VIH), también está implicada en la sensibilidad del VHB al mismo fármaco.

El 3TC es una molécula de síntesis, análoga a la citidina (enantiómero del 2-desoxi 3-citidina), que se fosforiliza a trifosfato (3TC-TP) en el interior de la célula, compitiendo con el dCTP natural durante el proceso de síntesis del ADN, y causando la terminación de la cadena del ácido nucleico¹¹. Existen varias mutaciones en el interior del gen que codifica la polimerasa viral capaces de interferir con la sensibilidad al fármaco: la sustitución con valina o isoleucina de la metionina presente en el residuo 552 (M552V o M552I) del *locus* YMDD al interno del dominio C, y la sustitución de la leucina por metionina en el codón 528 (L528M) en el dominio B. La mutación L528M generalmente se encuentra asociada a la sustitución M552V, de forma poco frecuente a M552I, y se presenta muy raramente y de forma aislada, no mostrando en este último caso influencia sobre la sensibilidad a la terapia¹²⁻¹⁴.

Como consecuencia de la particular organización genética del VHB, en la que el gen S y el gen de la polimerasa comparten un cierto número de nucleótidos, las mutaciones presentes en la polimerasa también vienen expresadas en el gen S y, en consecuencia, en el antígeno de superficie. Estas mutaciones se localizan externamente al determinante «a» y, por tanto, no parecen modificar la respuesta inmune frente a HBsAg, aunque se han descrito episodios de reagudización de la hepatitis con la aparición del virus mutado¹⁵.

Otra mutación presente en el dominio B, V521L, ha sido identificada conjuntamente con la presencia de las sustituciones L528M y M552V, aunque no parece estar relacionada con la sensibilidad a 3TC sino con la capacidad replicativa de dichas cepas mutadas. Más raramente se han descrito sustituciones de fenilalanina por leucina en el codón 501 y leucina por metionina en el 515, aunque su significado clínico y relación con la sensibilidad a la terapia aún no está suficientemente clara.

Como consecuencia de todo lo anterior, diferentes estudios *in vitro* han permitido cuantificar la disminución de sensibilidad de VHB al 3TC. Las cepas mutantes con la(s) mutación(es) M552I, L528M+M552V o L528M+M552I aumentan la CI₅₀ más de 10.000 veces y mutantes con M552V o L528M son menos resistentes, con un aumento, solamente, de CI₅₀ de 153 y 18 veces, respectivamente¹⁶⁻¹⁸.

Las cepas mutantes resistentes emergen generalmente después de 8-9 meses de tratamiento, aumentando progresivamente y alcanzando al 32% de pacientes resistentes tras un año de tratamiento y al 60% a los 2 años. Dicha resistencia al 3TC se manifiesta con la reactivación de la replicación viral y la reaparición de ADN-VHB circulante detectable con las técnicas habituales, aun cuando los valores de viremia y de las transaminasas son inferiores a los existentes previa-

Correspondencia: Dra. M.C. Maroto Vela.
Avda de Madrid, 11. 18012 Granada.
Correo electrónico: mmicro@andalusi-ugr.es

Recibido el 5-5-2000; aceptado para su publicación el 5-7-2000

Med Clin (Barc) 2000; 115: 297-298

mente al tratamiento, probablemente en relación a una menor capacidad replicativa de las cepas mutadas respecto a la salvaje. Por este motivo, la cepa salvaje reaparece velozmente como predominante una vez que cesa el tratamiento^{19,20}.

Finalmente, debido a que el 3TC suprime la replicación viral pero no elimina las formas del ADN complementario (ADNc), la reactivación de la infección es frecuente una vez que se interrumpe el tratamiento con 3TC en monoterapia y, por tanto, es aconsejable usarlo siempre en asociación a la terapia clásica, el IFN, reforzando su acción²¹.

Otro análogo nucleosídico que tiene efecto supresor sobre la capacidad replicativa del VHB es el penciclovir, que viene normalmente suministrado como profármaco (fanciclovir). El penciclovir, una vez que incorpora 3 moléculas de fosfato (PCV-TP), compite con el dGTP natural en la síntesis del ADN y, por ello, conduce a una disminución del ADN-VHB sérico, aunque en menor grado que el obtenido con el 3TC 822.

Así mismo, se han descrito variantes virales con mutaciones que le permiten «escapar» a los efectos del fanciclovir, aunque en este caso no parece estar implicado el *locus* YMDD. Las mutaciones que determinan resistencia a fanciclovir se localizan en el dominio B del gen de la polimerasa; concretamente las sustituciones L528M y V521L asociadas con la resistencia a 3TC también parecen ser responsables de la resistencia a fanciclovir. Recientemente, han sido descritos casos aislados con mutaciones en los codones V551I o V551L en relación con la resistencia al fanciclovir, pero se necesitan más estudios para atribuirle este efecto de forma definitiva²²⁻²⁵.

Otros fármacos en fase de estudio son lobucavir (análogo de la guanina) y adefovir piridoxil (análogo de la adenosina). Los pocos datos disponibles sobre su eficacia parecen demostrar una disminución del ADN-VHB sérico de 3-4 logaritmos y la seroconversión de un 20% de pacientes después de 3 meses de tratamiento, con la consiguiente aparición de anticuerpos anti-HBe^{22,26,27}. Aún no hay datos sobre la existencia de mutantes resistentes a dichos fármacos, pero no se excluye que puedan surgir durante el curso de tratamientos más prolongados.

Como hemos aprendido en el tratamiento de la infección por VIH, el tratamiento de la infección crónica por VHB debe basarse en una «terapia de combinación» con fármacos que no conlleven grandes perfiles de resistencias y que, actuando sinérgicamente, consigan hacer desaparecer la replicación viral y evitar la aparición de mutantes resistentes²⁸. Pero, a diferencia de la infección por VIH, en el tratamiento de la hepatitis por VHB, el número de fármacos efectivos actualmente disponibles es muy reducido, y la elección de una terapia alternativa en el caso de reactivación no es fácil.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337: 1733-1745.
2. Seeger C, Mason W. Hepatitis B virus biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64: 51-68.
3. Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, Boehme R, Thomas HC, Mcdade H. Viral dynamics in hepatitis B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 4398-4402.
4. Summers J, Mason WS. Replication of the genome of a hepatitis B-like virus by reverse transcription of an RNA intermediate. *Cell* 1982; 29: 403-415.
5. Wong DKH, Cheng AM, O'Rourke N, Naylor CD, Destky AS, Heathcote J. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1993; 312: 323.
6. Fried MW. Therapy of chronic viral hepatitis. *Med Clin North Am* 1996; 80: 957-972.
7. Brook MG, Karayannis P, Thomas HC. Which patients with chronic hepatitis B virus infection will respond to alpha interferon therapy? A statistical analysis of predictive factors. *Hepatology* 1989; 10: 761-766.
8. Poch O, Sauvaget I, Delarue M, Tordo N. Identification of four conserved motifs among the RNA-dependent polymerase encoding elements. *EMBO J* 1989; 8: 3867-3874.
9. Tribault V, Benhamou Y, Seguret C, Bochet M, Katlama C, Bricaire F et al. Hepatitis B virus (HBV) mutations associated with resistance to lamivudine in patients coinfecting with HBV and HIV. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3013-3016.
10. Dore G, Cooper D, Barret C, Goh L, Thakrar B, Atkins M. Dual efficacy of lamivudine treatment in HIV-HBV-coinfecting persons in a randomized study (CAESAR). *J Infect Dis* 1999; 180: 607-613.
11. Jarvis B, Faulds D. Lamivudine. *Drugs* 1999; 58: 101-141.
12. Tipples G, Ma M, Fisher K, Bain V, Kneteman N, Tyrell D. Mutation in HBV RNA-dependent polymerase confers resistance to lamivudine in vivo. *Hepatology* 1996; 24: 714-717.
13. Honkoop P, Niesters H, DeMan R, Osterhaus A, Schalm SW. Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatitis B. Incidence and patterns. *Hepatology* 1997; 26: 1393-1395.
14. Chayama K, Suzuki Y, Kabayashi M, Kabayashi M, Tsubota A. Emergence and takeover of YMDD motif mutant HBV during long-term lamivudine therapy and re-takeover by wild type after cessation of therapy. *Hepatology* 1998; 27: 1711-1716.
15. Liaw YF, Chien RN, Yeh CT, Tsai SL, Chu CM. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy. *Hepatology* 1999; 30: 567-572.
16. Locarnini S. Hepatitis B virus surface antigen and polymerase gene variants: potential virological and clinical significance. *Hepatology* 1998; 27: 294-297.
17. Melegari M, Scaglioni PP, Wands JR. HBV mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. *Hepatology* 1998; 27: 628-633.
18. Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. *Hepatology* 1998; 27: 1670-1677.
19. Dienstag JL, Schiff ER, Wright T, Perillo R, Hann HW, Crowther L et al. Lamivudine treatment for one year in previously untreated U.S. hepatitis B patients. *Gastroenterology* 1998; 114: 1235A.
20. Niesters HG, Honkoop P, Haagsma EB, DeMan RA, Schalm SW, Osterhaus AS. Identification of more than one mutation in the HBV polymerase gene arising during prolonged lamivudine treatment. *J Infect Dis* 1998; 177: 1382-1385.
21. Omata M. Treatment of hepatitis B infection. *N Engl J Med* 1998; 339: 114-115.
22. Rosenberg PM, Dienstag JL. Therapy with nucleoside analogues for HBV infection. *Clin Liver Dis* 1999; 3: 349-362.
23. Melegari M, Scaglioni P, Wans J. HBV mutants associated with 3TC and famciclovir administration are replication defective. *Hepatology* 1998; 27: 628-633.
24. Locarnini SA, Aye T, Shaw T. The emergence of famciclovir resistant mutations in HBV polymerase during therapy in patients following liver transplantation. *Hepatology* 1998; 26: A958.
25. Márquez A, Lau D, McKenzie R, Straus S, Hoofnagle JH. Combination therapy with famciclovir and IFN-alpha for treatment of chronic hepatitis B. *J Infect Dis* 1998; 178: 1483-1487.
26. Heathcote J, Chan R, McHutchinson J. A phase II multicenter study of oral lobucavir for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 1998; 28: A621.
27. Heathcote J, Jeffers L, Wright T. Loss of serum HBV DNA and HBeAg and seroconversion following short-term (12 weeks) adefovir dipivoxil therapy in chronic hepatitis B. *Hepatology* 1998; 28: A620.
28. Colledge D, Locarnini S, Shaw T. Synergistic inhibition of hepadnaviral replication by lamivudine in combination with penciclovir in vitro. *Hepatology* 1997; 26: 216-225.
29. Malik A, Lee W. Hepatitis B therapy: the plot thickens. *Hepatology* 1999; 30: 579-581.