



Resistencia a la terapia antiretroviral en la infección por virus de inmunodeficiencia humana

Alejandro Afani S. y Ana M. Gallardo O.

Antiretroviral resistance in human immunodeficiency virus infection

Resistance to anti-retroviral therapy is one of the main problems in the favorable outcome of treatment in HIV patients, as well as toxicity and adherence to treatment. Resistance has increased in recent years, and it is evaluated through genotyping and phenotypic tests. Information provided by these studies is crucial when deciding the most appropriate treatment. However, genotype interpretation is complex and subject to frequent change, because of the incorporation of new drugs and the appearance of new resistance patterns. This review aims understanding the fundamental concepts of antiretroviral resistance (ARV), which examines the general principles, mechanisms and patterns of resistance, both for the traditional family of anti-retrovirals, as well as for the most recently licensed drugs.

Key words: drug resistance, antiretroviral therapy, mutation.

Palabras clave: Resistencia, terapia antirretroviral, mutaciones.

Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago.

Departamento de Medicina Interna
Sección Inmunología.

Recibido: 13 de mayo de 2011
Aceptado: 13 de junio de 2011

Correspondencia a:

Alejandro Afani Saud
aafani@vtr.net

Introducción

El desarrollo de la terapia anti-retroviral (TARV) altamente activa ha sido de gran relevancia en cambiar la historia natural de la infección por VIH/SIDA. La terapia actual ha reducido en forma significativa la morbi-mortalidad asociada a la infección por VIH, llevando la carga viral (CV) a niveles indetectables y restaurando secundariamente el sistema inmune, evidenciado por el aumento del recuento de linfocitos T CD4 (+); asimismo, como efecto indirecto, la TARV puede disminuir la transmisión del VIH.

Hay varios factores involucrados en el éxito de la TARV en pacientes con infección por VIH. Uno de los principales inconvenientes asociados a falla virológica, además de las toxicidades, es la resistencia a los fármacos anti-retrovirales (ARVs). En diversos estudios poblacionales, entre 30 y 63% de los pacientes fallan al año de haber iniciado tratamiento. La resistencia es un problema no sólo en pacientes con falla virológica, sino también en pacientes naïve (vírgenes a tratamiento) debido a transmisión de virus resistentes. Comprender la resistencia es la clave para enfocar una TARV óptima^{1,2}.

La resistencia a ARVs está definida por la aparición de mutaciones, principalmente sobre el gen *pol*, en específico a nivel de la transcriptasa reversa (TR) y de la proteasa viral. Estas mutaciones, determinan una reducción en la susceptibilidad de la cepa viral del paciente a los fármacos, comparado con la cepa salvaje sin mutaciones.

Las clases de ARVs con las que se cuenta en la actualidad son:

- Inhibidores análogos de nucleósidos de la TR (INTR).

- Inhibidores no análogos de nucleósidos de la TR (INNTR).
- Inhibidores de la proteasa (IP).
- Inhibidores de entrada, e.
- Inhibidores de la integrasa (IIN).

La TARV de primera línea, se basa en la utilización de las tres primeras clases de fármacos como *triterapia*, habitualmente dos INTR más un INNTR, o bien dos INTR más un IP.

La falla virológica asociada a la TARV puede resultar del desarrollo de resistencia a uno o más fármacos del esquema terapéutico, lo que determina una persistente replicación viral. La resistencia puede derivar de problemas en la adherencia, potencia inadecuada de los fármacos, problemas farmacocinéticos, o bien, resistencia pre-existente. La emergencia de resistencia se asocia a una baja respuesta a la TARV, lo que se ve reflejado en un aumento de la carga viral.

Como consecuencia de la TARV se pueden presentar toxicidades a corto y largo plazo, generalmente reversibles; sin embargo, la resistencia es un fenómeno irreversible, por lo que es de gran relevancia considerar el historial de ARVs del paciente antes de decidir un cambio terapéutico, debido a la acumulación de mutaciones de resistencia a través del tiempo.

En la actualidad existen varias técnicas, entre estudios genotípicos y fenotípicos, para realizar análisis de la resistencia en pacientes con infección por VIH. Los tests genotípicos de resistencia habituales detectan mutaciones si están presentes en más de 20% de la población viral. Las mutaciones asociadas a resistencia se presentan



generalmente en el contexto de la presión selectiva que ejercen los fármacos ARVs, por lo que al suspender o discontinuar la terapia, las cepas mutantes, por su menor capacidad replicativa en relación a la cepa salvaje, se van transformando en poblaciones minoritarias (menos del 20%), y no podrán ser detectadas por las técnicas habituales de genotipificación. Al reinstalar los fármacos a los que se desarrolló resistencia o con resistencia cruzada, puede resultar una rápida reaparición de las cepas mutantes. La acumulación de resistencia a múltiples clases de ARVs, deja al paciente sin opciones de terapia efectiva, llevando a progresión de la enfermedad y muerte.

Los estudios de genotipificación detectan la presencia de mutaciones relacionadas con resistencia en el genoma viral. Se basan en la amplificación génica, mediante la reacción de polimerasa en cadena (RPC), de las regiones del gen *pol*, cuya secuencia nucleotídica es posteriormente analizada.

Los estudios de fenotipificación, por su parte, miden la inhibición de la replicación viral o de la actividad enzimática de la TR y de la proteasa viral, a diferentes concentraciones de fármacos específicos. Estas técnicas son más costosas y más complejas de realizar que los estudios genotípicos^{1,3}.

Un gran grupo de expertos internacionales ha demostrado que la máxima utilidad de los estudios de resistencia está en la elección de una nueva terapia frente a fracaso virológico o respuesta virológica sub-óptima.

La mayoría de las recomendaciones de los estudios de genotipificación concuerda en indicar su uso frente a fracaso virológico, respuesta virológica sub-óptima, mujeres embarazadas con los mismos criterios anteriores, accidentes laborales, y primoinfección, dependiendo de la epidemiología local, principalmente indicada en países con niveles de resistencia primaria o transmitida > 5 a 10%¹⁻³.

Principios de la resistencia a terapia anti-retroviral

Se define como falla virológica a las siguientes situaciones:^{1,8}

- Más de 400 copias /ml de CV a las 24 semanas de TARV.
- Más de 50 copias /ml de CV después de 48 semanas de TARV.
- Carga viral mayor de 400 copias/ml en dos determinaciones consecutivas después de haber logrado la supresión de la viremia. (“Rebote virológico”).

Elevaciones transitorias de ARN viral, después de haber alcanzado la indetectabilidad, no siempre significan falla, y son denominados “blips”.

Se define como falla inmunológica, al incremento inferior a 25-50 células/mm³ por encima del CD4 basal, después de un año de tratamiento, o disminución por debajo del nivel basal estando en tratamiento.

Se define como falla clínica, a la ocurrencia o recurrencia de eventos relacionados al VIH, después de por lo menos tres meses de TARV, excluyendo el síndrome de reconstitución inmune.

Varios factores influyen en el desarrollo de resistencia a los ARVs y dependen por un lado del virus, como es la alta tasa de mutaciones espontáneas debido a errores en la acción de la TR (3×10^{-5}), lo que explica la alta variabilidad genética del VIH, pero también contribuyen, la alta tasa replicativa del virus y su *turnover* (10^8 - 10^9 partículas virales al día), y los reservorios latentes, tanto celulares como anatómicos. Se ha estimado que se incorpora al genoma viral un promedio de 0,1 a 1 mutación por cada ciclo de replicación. Así, en un mismo individuo, la población viral tendrá una gran diversidad genética, lo que se denomina *quasi-especies*. Por otro lado, está el paciente con problemas de adherencia, elemento clave en la generación de variantes resistentes, o efectos adversos a los ARVs y, finalmente, determinan también resistencia factores propios de los ARVs, como la presión selectiva, y concentraciones sub-terapéuticas. Además, el uso de monoterapias y biterapias en el pasado, de alguna manera han contribuido al desarrollo de resistencia^{1,2}.

La resistencia a la TARV se define entonces, como la pérdida total o parcial de la susceptibilidad a los ARVs, por la presencia de mutaciones, las que representan cambios en el genoma viral. La cepa viral sin mutaciones, es lo que se denomina cepa salvaje. Las *quasi-especies* -producto de las mutaciones- suelen tener menor capacidad replicativa o *fitness* viral que la cepa salvaje.

Resistencia primaria o transmitida, es aquella que se presenta en pacientes que no han recibido aún TARV, debido a la adquisición de un virus que posee mutaciones asociadas a resistencia; en la actualidad se habla más bien de resistencia transmitida. Se entiende por resistencia secundaria o adquirida, a la que surge en el contexto de un paciente en TARV, bajo la presión selectiva de los ARVs.

El grado de resistencia que presentan los ARVs depende de la barrera genética de cada fármaco en particular, o grupo de ARVs, la que está definida por el número de mutaciones que se requiere para provocar resistencia. Fármacos con una baja barrera genética pueden requerir de una sola mutación para producir resistencia, como es el caso de lamivudina con la mutación M184V o efavirenz con la mutación K103N. Una alta barrera genética en cambio, está definida por un gran número de mutaciones necesarias para inducir resistencia, como es el caso de la mayoría de los IP^{4,5}.

Otro concepto importante es el de la hiper-susceptibilidad que pueden conferir algunas mutaciones

específicas sobre algunos ARVs. Así por ejemplo, la mutación M184V, que causa resistencia a lamivudina y emtricitabina, confiere hiper-susceptibilidad a AZT, o la mutación K65R asociada a resistencia a tenofovir (TDF), y que confiere resistencia cruzada a la mayoría de los INTR, ocasiona hiper-susceptibilidad a AZT. Así también, las mutaciones I50L y N88S, que causan resistencia a atazanavir, confieren hiper-susceptibilidad a la mayoría de los otros IP.

Frente a un paciente en que está fallando la TARV, lo inicial a revisar es la adherencia y eventualmente evaluar la necesidad de simplificar la terapia. Evaluar problemas de farmacocinética, tales como uso de fármacos concomitantes, ingesta adecuada de alimentos, problemas gastrointestinales y toxicidades. Una vez descartadas estas causas de falla a terapia, se debe analizar la resistencia, realizando un estudio genotípico en condiciones óptimas, es decir, el paciente en TARV y con una CV superior a 1.000 copias/ml de ARN viral.

El análisis de la resistencia, debiera realizarse por un panel de expertos en el tema para definir el mejor esquema de ARVs a seguir. Se deben considerar múltiples aspectos, tales como:

- Tipo de mutaciones (p.ej.: TAM 1 y 2), presencia de mutaciones primarias y secundarias, etc).
- Presencia de mutaciones específicas, o que confieren resistencia cruzada o asociadas a multi-resistencia.
- Acumulación de mutaciones (historial genotípico previo).
- Mutaciones con impacto en la capacidad replicativa del virus (“fitness viral”).
- Mutaciones que confieren hiper-susceptibilidad a otros ARVs.
- Identificación de fármacos con actividad, y familia de fármacos para el diseño de la nueva terapia.

Nomenclatura de las mutaciones

Es importante recordar que en el genoma, cada codón está representado por tripletes de nucleótidos, los que se identifican por una letra que corresponde a cada base nitrogenada, A: adenina, T: timidina, C: citosina, y G: guanósina. A su vez, cada triplete o codón codifica para un aminoácido determinado, el que a su vez se identifica por una letra específica, por ejemplo, M: metionina, V: valina, K: lisina, R: arginina, etc. Las mutaciones se denominan según el aminoácido que sea reemplazado en un codón determinado; así por ejemplo, en la mutación M184V el aminoácido original (cepa salvaje) es metionina (M), el número representa la posición del codón en el genoma (184), y a continuación sigue el aminoácido reemplazante (mutante), en este caso valina (V). En la Figura 1 se observa la mutación L90M, donde el aminoácido original

es leucina (L), el número 90 representa la posición del codón, y el aminoácido reemplazante es metionina (M)^{1,4,5}.

Resistencia a inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa

La resistencia a la familia de los INTR tiene varias vías posibles, se pueden presentar mutaciones específicas, como es el caso de las mutaciones M184V, L74V, y K65R, que son seleccionadas principalmente por lamivudina, didanosina y tenofovir, respectivamente. Estas mutaciones, además de conferir resistencia a estos ARVs, pueden causar cierto grado de resistencia cruzada con los otros INTR, especialmente la K65R (Figura 2).

Existe otro grupo de mutaciones denominadas TAM (sigla inglesa para “mutaciones asociadas a timidina”), que aparecen gradualmente, y son seleccionadas por AZT y d4T. Las mutaciones TAM se clasifican en TAM 1 y 2, de acuerdo al grado de resistencia, siendo las TAM 1 más potentes en conferir resistencia, además de conferir resistencia cruzada a los otros INTR.

TAM 1 : M41L , L210W, T215Y/F.
TAM 2 : D67N, K70R, K219Q

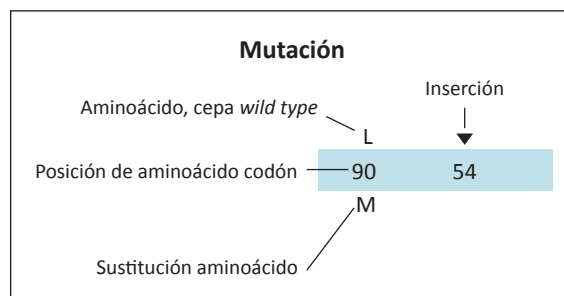


Figura 1. Características de una mutación. L: leucina. M: metionina.

Abacavir ^g	K R	L V	Y F	M V	65	74	115	184
Didanosina ^h	K R	L V			65	74		
Emtricitabina	K R			M V	65			184
Lamivudina	K R			M V	65			184
Stavudina ^{d,e,g,i,j,k}	M L	K R	D N	K R	41	65	67	70
Tenofovir ^l		K R	K E		65	70		
Zidovudina ^{d,e,j,k}	M L	D N	K R		41	67	70	
				L W				210
				T Y				215
				K F				219

Figura 2. Se observan los INTR con las barras indicando las principales mutaciones asociadas a resistencia (adaptado de Johnson VA, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2010. International AIDS Society-USA).



Tabla 1. Mutaciones relevantes que confieren resistencia a INTR

Mutación	Seleccionada por	Efectos
M184V	3TC, FTC	Pérdida de susceptibilidad a 3TC, FTC Baja susceptibilidad a ABC, DDI Retarda aparición de TAMs Hipersusceptibilidad a AZT
TAMS	AZT, D4T	Baja susceptibilidad a todos NRTI Resistencia cruzada (principalmente TAM 1)
K65R	TFD, DDI, ABC	Baja la susceptibilidad de TDF, ABC, DDI Hipersusceptibilidad a AZT
L74V	DDI, ABC	Baja la susceptibilidad a DDI, ABC Hipersusceptibilidad a AZT, TDF
Q151M	AZT, DDI	Resistencia a todos los NRTI, excepto TDF
Ins 69	AZT, DDI	Resistencia a todos los NRTI, incluso TDF

Las mutaciones más relevantes que confieren resistencia a los INTR, se detallan a continuación en la Tabla 1, así como el fármaco que selecciona dicha mutación y sus efectos:

La multi-resistencia (en inglés *multidrug resistance*-MDR) a los INTR se puede presentar, ya sea por acumulación de mutaciones TAM, o por la presencia del complejo de la Q151M, que afecta a todos los INTR, excepto tenofovir, o bien, más infrecuentemente la MDR se puede presentar por la inserción del codón 69, que confiere resistencia al grupo completo de los INTR (Figura 3).

Mecanismos de resistencia a inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa^{1,4,5}

Los INTR son “prodrogas” que requieren ser trifosforiladas por las quinasas celulares para ser activadas. Una vez fosforilados compiten con los desoxinucleótidos trifosfatos (dNTP) naturales. Al incorporarse a la cadena de ADN en formación, bloquean su elongación y finalizan su síntesis.

Las mutaciones poseen dos mecanismos para generar resistencia:

- Aumento de la fosforólisis vía ATP o pirofosforólisis (pirofosforólisis). Mediante una hidrólisis se produce la remoción de los INTR incorporados a la cadena de ADN, lo que permite continuar la síntesis de la cadena. Por este mecanismo inducen resistencia las mutaciones TAM (Figura 4).
- Disminución de unión al sustrato o discriminación. Se genera una inhibición estérica, ya que las mutaciones determinan un cambio estructural (cercano al sitio catalítico) de la TR, permitiéndole así discriminar entre los INTR, a favor de la incorporación de los dNTP a la cadena de ADN. Por este mecanismo inducen resistencia por ej.: las mutaciones M184V, L74V, y K65R (Figura 5).

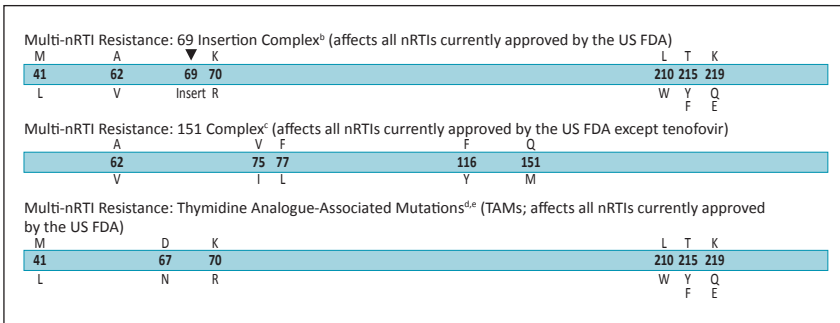


Figura 3. Mutaciones de los INTR asociadas a multi-resistencia (MDR) (adaptado de Johnson VA, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2010. International AIDS Society-USA).

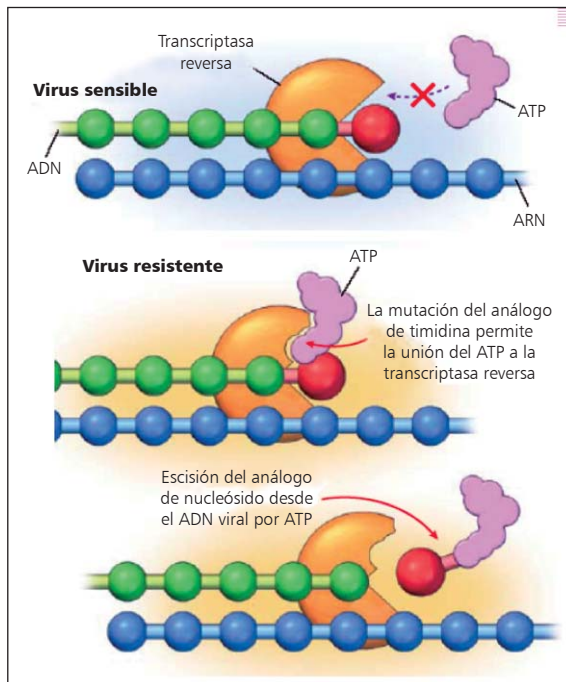


Figura 4. Mecanismo de resistencia a INTR por pirofosforólisis o hidrólisis dependiente de ATP (adaptado de Clavel F, et al. HIV drug resistance. N Engl J Med, 2004; 350 (10): 1023-35 con permiso del autor).

Resistencia a inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa

Los INNTR, a diferencia de los INTR, no requieren activación celular y actúan directamente en el bloqueo de la actividad enzimática. Los ARVs pertenecientes al grupo de los INNTR de primera generación presentan una baja barrera genética y resistencia cruzada; tal es el caso de nevirapina (NVP), y efavirenz (EFV). El desarrollo de un alto grado de resistencia puede ocurrir rápidamente, incluso en días con el uso de monoterapia y se relaciona con la aparición de una sola mutación^{1,4,5}.

Casi todas las mutaciones presentan resistencia cruzada y generan MDR a NVP y EFV: L100I, K103N, V106A/M,

V108I, Y181C/I, Y188L y G190A/S, entre otras. En la Figura 6 se observan las mutaciones relevantes asociadas a resistencia a INNTR. De los INNTR de segunda generación, el primer fármaco en emerger es etravirina (ETV). La característica central de esta nueva generación es la de presentar una mayor barrera genética. Así por ejemplo, en el caso de ETV se requiere de tres ó más de las siguientes 17 mutaciones para inducir resistencia: V90I, A98G, L100I, K101E/H/P, V106I, E138A, V179D/FT, Y181C/I/V, G190S/A, y M230L. Etravirina es una buena alternativa a pacientes con resistencia a EFV, especialmente en presencia de la mutación K103N. Sin embargo, en la actualidad el uso clínico de este fármaco se basa en una puntuación que se denomina *score* genotípico, en el cual a las diferentes mutaciones se les asigna un puntaje, de acuerdo al peso específico en producir resistencia, las que se suman y determinan el *score* final que determina el grado de susceptibilidad al fármaco. En la Figura 7 se observan las mutaciones con sus puntajes y *scores* finales, de acuerdo al sistema de interpretación genotípica de Tibotec^{5,10,11}.

Mecanismos de resistencia a inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa

Los INNTR se unen a un bolsillo hidrofóbico cercano al sitio catalítico de la enzima y mediante una inhibición alostérica desplazan residuos aspárticos asociados al sitio de unión a la polimerasa. Las mutaciones responsables de resistencia a estos ARVs se encuentran en el bolsillo hidrofóbico de unión. Una mutación puntual puede generar un alto nivel de resistencia a uno o todos los INNTR y emerge rápidamente si éstos son administrados como monoterapia, o en terapia combinada con supresión parcial. La alta barrera genética de los INNTR de segunda generación se debe a la alta flexibilidad molecular que presentan estos ARVs, lo que facilita su adaptación a este espacio en presencia de mutaciones (Figura 8).

Resistencia a inhibidores de proteasa

En el caso de los IP, estos ARVs presentan una alta barrera genética, por lo que, para provocar resistencia a un determinado ARV, es necesaria la presencia de varias mutaciones, por lo general tres o más. Emergen las mismas mutaciones en IP con o sin reforzamiento de ritonavir, sólo difieren en la frecuencia relativa. La resistencia a los IP se va desarrollando en forma secuencial con la aparición de dos o más mutaciones.

Las mutaciones primarias o mayores son aquellas que aparecen más precozmente, y confieren un alto grado de resistencia y las mutaciones secundarias o menores se seleccionan más tardíamente, tienden a acumularse y contribuyen a aumentar el nivel de resistencia; estas últimas

también son llamadas compensatorias ya que tienden a compensar la reducción de la *fitness* viral ocasionada por las mutaciones primarias⁶⁻⁸.

Actualmente, se ha identificado más de 20 mutaciones de resistencia en el gen de la proteasa. A pesar de que

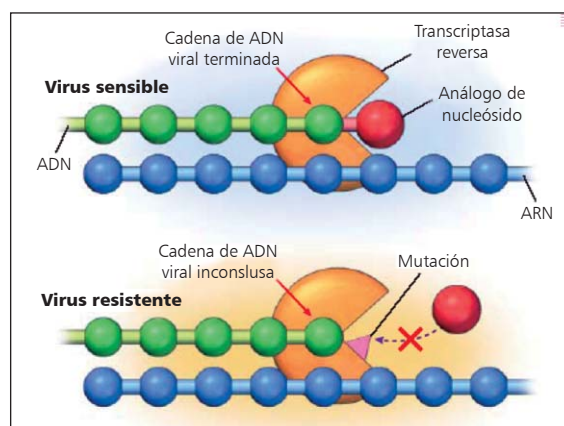


Figura 5. Mecanismo de resistencia a INTR por inhibición estérica (adaptado de Clavel F, et al. HIV drug resistance. N Engl J Med 2004; 350 (10): 1023-35, con permiso del autor).

	Nonnucleoside Analogue Reverse TRanscriptase Inhibitors (NNRTIs) ^{®/™}															
	L	K	K	V	V	Y	Y	G	P							
Efavirenz	100	101	103	106	108	181	188	190	225							
	I	P	N	M	I	C	L	S	H							
Etravirina [®]	90	98	100	101	106	138	179	181	190	230						
	I	G	I	H	P	E	A	D	C	S	A	L				
Nevirapina	100	101	103	106	108	181	188	190								
	I	P	N	A	M	I	C	L	C	A	H					

Figura 6. Mutaciones asociadas a resistencia a los INNTR (adaptado de Johnson VA, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2010. International AIDS Society-USA).

Mutación	Factor Peso
Y181I	3
Y181V	3
K101P	2,5
L100I	2,5
Y181C	2,5
M230L	2,5
E138A	1,5
V106I	1,5
G190S	1,5
V179F	1,5
V90I	1
V179D	1
K101E	1
K101H	1
A98G	1
V179T	1
G190A	1

Score de Tibotec	
Puntuación obtenida	Interpretación
0 - 2	Alta respuesta virológica
2,5 - 3,5	Respuesta intermedia
≥ 4	Respuesta reducida

Figura 7. Peso de las diferentes mutaciones asociadas con resistencia a etravirina y score de Tibotec.

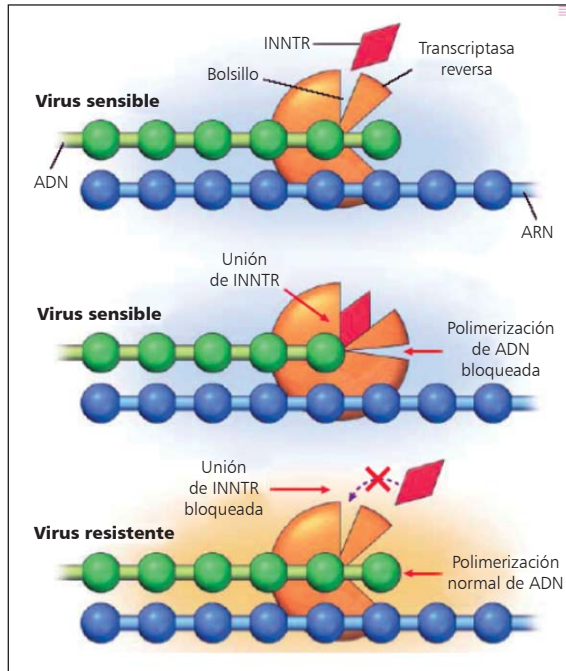


Figura 8. Mecanismo de resistencia a INNTR mediante inhibición alostérica (adaptado de Clavel F, et al. HIV drug resistance. N Engl J Med 2004; 350 (10): 1023-35, con permiso del autor).

existe un alto grado de resistencia cruzada entre saquinavir, nelfinavir, indinavir y ritonavir, hay mutaciones primarias que son relativamente específicas para cada fármaco, por ejemplo D30N para nelfinavir, I50L para atazanavir, I50V para fosamprenavir y darunavir y G48V para saquinavir, entre otros. Tipranavir y darunavir son IP de segunda generación, siendo este último el de mayor barrera genética de los IP. En la Figura 9 se observan los diferentes IP con las mutaciones primarias y secundarias asociadas a resistencia.

Con menor frecuencia se presentan mutaciones en el gen *gag*, las que pueden causar resistencia a los IP, y que no son identificadas en los estudios genotípicos habituales, los que analizan el gen *pol*. Generalmente éstas van acompañadas a mutaciones en la proteasa y rara vez se presentan aisladamente en pacientes con resistencia a IP.

Mecanismos de resistencia a inhibidores de proteasa⁸⁻¹⁰

La resistencia a los IP está mediada por cambios estructurales en el bolsillo de unión a estos ARVs, determinando reducción de la afinidad por los IP. Las mutaciones en otros sitios de la proteasa son menos obvias y parecen involucrar mecanismos de alteración en la catálisis enzimática, estabilidad del dímero enzima-sustrato, alteraciones en la cinética enzimática o perturbaciones estructurales mayores. La resistencia a los IP en general se desarrolla lentamente, ya que requiere acumulación de mutaciones. La presencia de dos o más mutaciones primarias claves (M46I/L, I50V, I54M/L/V, V82A/F/T/S, I84V y L90M), generalmente confiere resistencia cruzada a otros IP. Las mutaciones en los codones 10, 20, 36, 63, 71, 77 y 93 se encuentran fuera del sitio activo de la enzima y no se asocian a altos niveles de resistencia; sin embargo, contribuyen a ella al asociarse a las otras mutaciones (Figura 10). Las mutaciones en los codones 10, 20, 36 y 71 ocurren hasta en 5 a 10% de los pacientes vírgenes a tratamiento, como parte del polimorfismo de la enzima. La posición de mayor polimorfismo de la proteasa es el codón 63 (45% de los pacientes vírgenes a tratamiento) y cuando se observan pacientes tratados con múltiples IP, la prevalencia aumenta hasta en 90%. En la Figura 11 se observan las diferentes mutaciones asociadas a resistencia para cada IP.

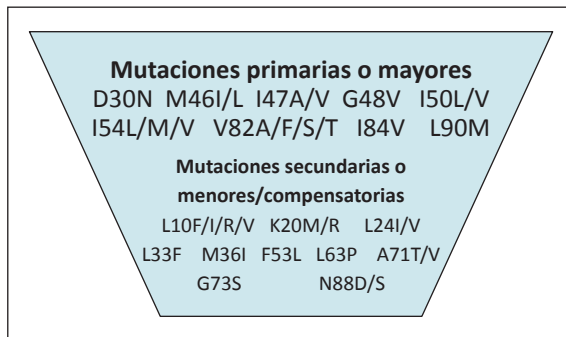


Figura 9. Mutaciones primarias y secundarias de resistencia a IP.

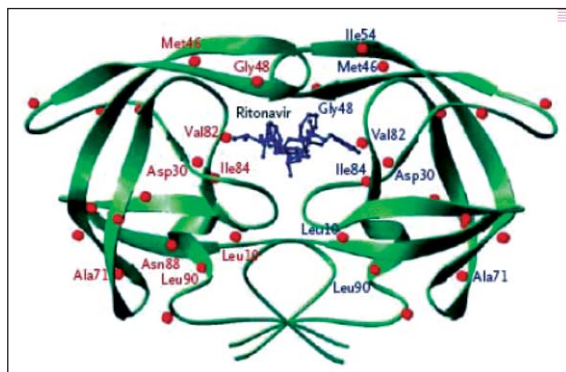


Figura 10. Estructura de la proteasa y posiciones donde frecuentemente se desarrollan mutaciones asociadas a resistencia (adaptado de Clavel F, et al. HIV drug resistance. N Engl J Med 2004; 350 (10): 1023-35, con permiso del autor).

Resistencia a nuevos anti-retrovirales

En los últimos años se ha observado una tendencia creciente en la aparición de cepas de VIH resistentes a los ARVs de uso habitual. Por esta razón, se han desarrollado nuevas familias de ARVs, agentes con mecanismos de acción diferentes, que los hace activos contra virus resistentes a IP e inhibidores de la TR. Existen actualmente

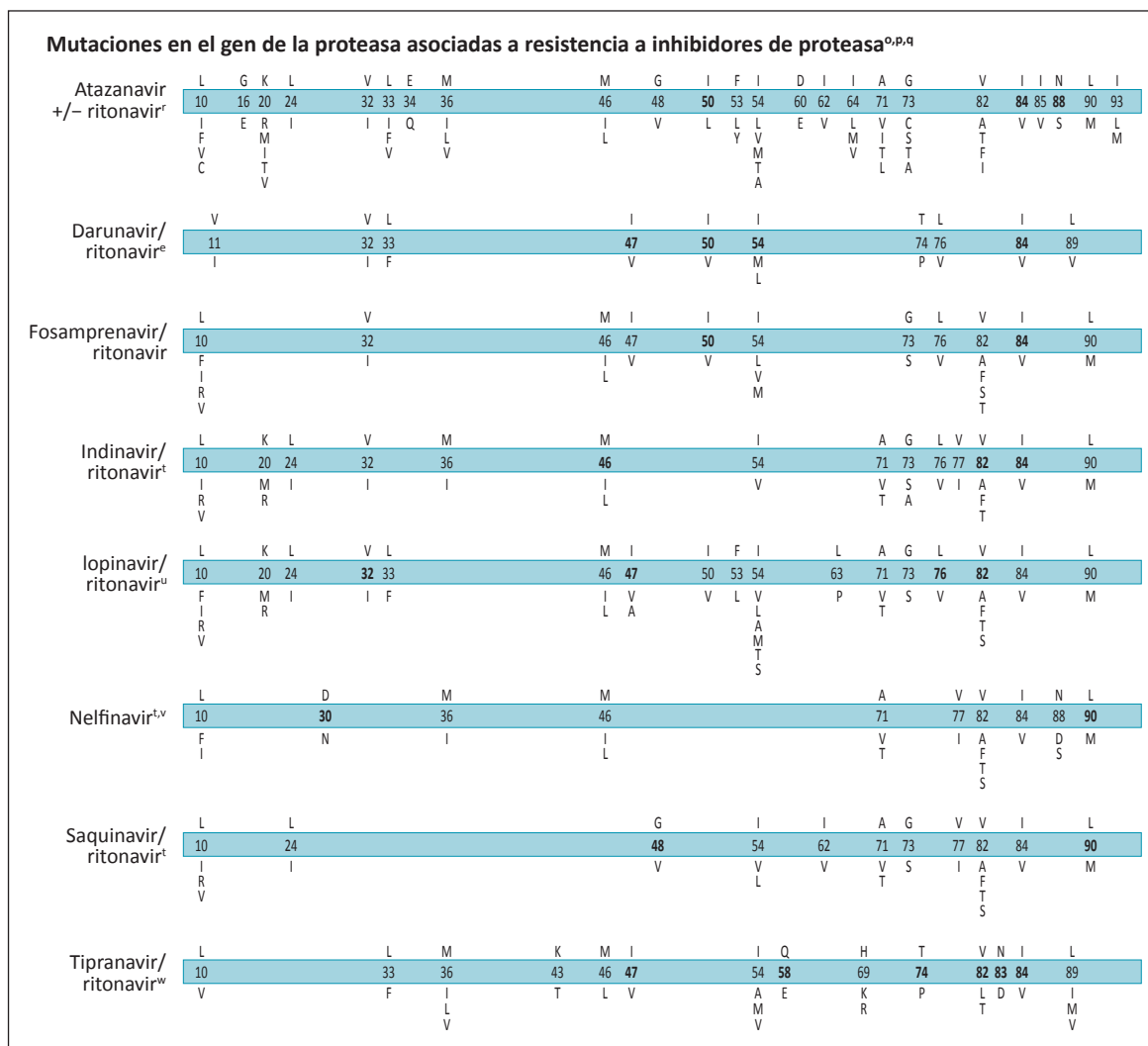


Figura 11. Mutaciones asociadas con resistencia a los diferentes IP (adaptado de Johnson VA, et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2010. International AIDS Society-USA).

dos grupos de nuevos agentes ARVs: los inhibidores de entrada y los inhibidores de integrasa.

No obstante, como veremos a continuación, ya hay descritas para estos nuevos agentes, mutaciones asociadas a resistencia, y sus respectivos mecanismos, reflejando el creciente uso de estos nuevos fármacos en los últimos años¹²⁻¹⁴.

Inhibidores de entrada

Corresponde a un grupo de fármacos que han sido denominados así, ya que tienen como objetivo la envoltura del VIH o las proteínas de membrana celular, ambas implicadas en la fusión del virus a la célula. Se incluyen dentro de este grupo: los inhibidores de la unión gp 120-CD4, antagonistas de los co-receptores (CCR5 y CXCR4) y antagonistas de la fusión. Los únicos ARVs de esta familia disponibles comercialmente son: enfuvirtide (inhibidor de la fusión), y maraviroc (antagonista de CCR5)¹⁵.

Antagonistas de la fusión

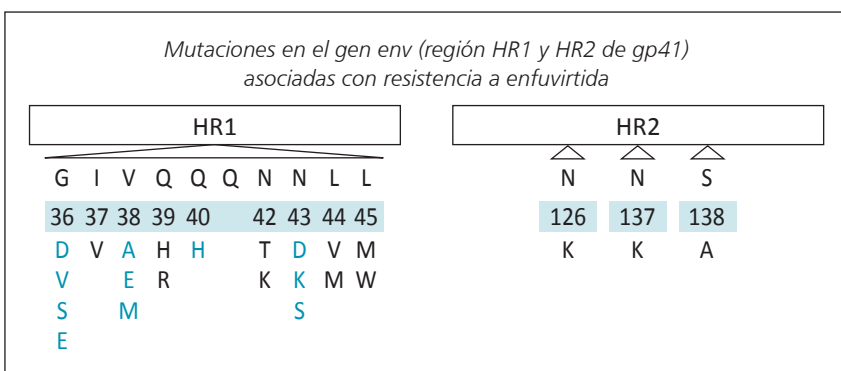
Enfuvirtide es el primer y único inhibidor de la fusión a la célula del VIH-1 en ser aprobado (año 2003). Es un péptido análogo de la porción HR2 de la gp41. Su mecanismo de acción consiste en la unión competitiva a la porción HR1 de la gp41 para impedir cambios conformacionales del complejo gp41-gp120 tras la unión del VIH-1 a los receptores celulares, impidiendo así el acercamiento, y posterior fusión entre el virus y la célula¹⁵⁻¹⁷.

La resistencia a enfuvirtide se produce principalmente por la aparición de mutaciones en la HR1 de la gp41. Se han detectado mutaciones asociadas a resistencia en las posiciones 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44 y 45 (Tabla 2 y Figura 12). Se describen polimorfismos en la posición 42 y también mutaciones en la región HR2 de la gp 41 (en las posiciones 126, 137 y 138), que podrían tener algún impacto en el *fitness* viral, principalmente en combinación con mutaciones ubicadas en las posiciones 36 a 45¹⁵⁻¹⁷.

**Tabla 2. Resumen de las principales mutaciones asociadas a resistencia para enfuvirtide**

	36	37	38	40	42	43	44	45
Cons	G	I	V	Q	N	N	L	L
Enfuvirtide	DEVS	V	EAMG	H	T	DKS	M	M

En rojo se marcan las mutaciones asociadas a reducción > 10 veces de la susceptibilidad. Adaptado de <http://hivdb.stanford.edu> (noviembre 6, 2009).

**Figura 12.** Mutaciones asociadas con resistencia a enfuvirtide (adaptado de Cabrera C, et al. AIDS 2006; 20).**Tabla 3. Resumen de mutaciones asociadas a resistencia a raltegravir y elvitegravir**

	66	92	121	138	140	143	147	148	153	155	263
Cons	T	E	F	E	G	Y	S	Q	S	N	R
Raltegravir		Q	Y	AK	AS	RCH	G	HRK		HS	
Elvitegravir	I	Q	Y	AK	AS		G	HRK	Y	HS	K

En rojo se marcan las mutaciones asociadas a reducción > 10 veces de la susceptibilidad. Adaptado de <http://hivdb.stanford.edu> (noviembre 6, 2009).

Antagonista de co-receptores

Los antagonistas del co-receptor CCR5 se unen al dominio trans-membrana de CCR5. Esto produce un cambio conformacional en el dominio extracelular de la molécula CCR5, que la hace irreconocible por la gp120 de las cepas *wild-type* del VIH; se inhibe la entrada por un mecanismo no competitivo o alostérico. El único ARV de esta familia aprobada por la FDA es maraviroc (MVC, año 2007), indicado a pacientes portadores de cepas con tropismo R5¹⁷⁻¹⁹.

En pacientes con cepas X4 (tropismo por CXCR4), o cepas con tropismo dual o mixto (R5/X4), no está indicado el uso de maraviroc¹⁹⁻²¹.

El fracaso virológico a la terapia con maraviroc se debe fundamentalmente al cambio de tropismo de las cepas virales del paciente a X4, o tropismo dual, determinado por proliferación de cepas minoritarias y, menos frecuen-

temente, por *switch* en el tropismo viral de cepas R5. Se han descrito mutaciones en la gp120 de la envoltura del VIH-1, en pacientes que permanecen con tropismo R5 y que presentan falla virológica. El perfil de resistencia a maraviroc es muy complejo, pero la mayoría de las mutaciones se presentan en la región del *loop* o asa V3 y en las regiones V2, C3, y V4 de la gp120, así como también en la gp41²¹⁻²³.

Inhibidores de integrasa (IIN)

La integrasa del VIH es una enzima formada por 288 aminoácidos y es altamente conservada. Está codificada por el gen *pol* al igual que la TR y la proteasa. Hasta la fecha se dispone de un inhibidor de integrasa aprobado por la FDA de E.U.A. en 2007: raltegravir. Otro ARV de la misma familia es elvitegravir, pero aún no comercializado. Las mutaciones se encuentran fundamentalmente próximas al centro catalítico de la enzima, entre las posiciones 66 y 155. Los estudios BENCHMRK-1 y 2 son los ensayos clínicos que proporcionaron inicialmente mayor información sobre las posibles vías de resistencia a raltegravir. Los resultados muestran que la resistencia a raltegravir se produce principalmente por las siguientes vías: selección de una histidina (H) en la posición 155, selección de diversas mutaciones en la posición 148 y cambios en la posición 143. Los sujetos que han seleccionado la mutación N155H de forma aislada, al continuar la presión farmacológica, seleccionan gradualmente otras mutaciones que incrementan el grado de resistencia al fármaco. Estas mutaciones secundarias son varias: L74M, E92Q, T97A, G140S, G163K/R, V151I y D232N. No se define un patrón predominante. Por el contrario, en los pacientes que desarrollan resistencia a raltegravir seleccionando cambios en la posición 148, sí existe un patrón de resistencia predominante: Q148H + G140S. El impacto en la susceptibilidad a raltegravir de estas mutaciones en ensayos *in vitro* muestra que, tanto N155H como los cambios en la posición 148, reducen significativamente (más de 10 veces) la sensibilidad al fármaco²⁴⁻²⁶.

Diversos estudios de virus mutantes en la integrasa han confirmado que hay un alto grado de resistencia cruzada entre raltegravir y elvitegravir (Tabla 3). Es importante señalar que la pérdida de eficacia clínica con falla virológica puede ocurrir con una única mutación en muchos casos aunque, si persiste la misma presión farmacológica, se seleccionan otras mutaciones secundarias que incrementan el grado de resistencia y probablemente compensan la pérdida de capacidad replicativa producida por las mutaciones primarias. En este sentido, raltegravir y elvitegravir deben ser considerados como fármacos de barrera genética baja.²⁵⁻²⁷

Dolutegravir (GSK-1349572), es un IIN de segunda generación que actualmente se encuentra en estudios de fase III. Este no presenta alto grado de resistencia cruzada

con los IIN de primera generación, a excepción de los patrones de resistencias con la Q148K/H/R, y cambios acompañantes que sí comprometen la susceptibilidad al fármaco²⁸.

Resumen

La resistencia a la terapia anti-retroviral constituye uno de los problemas fundamentales en el éxito del tratamiento, en los pacientes infectados con virus de la inmunodeficiencia humana, al igual que las toxicidades y los problemas de adherencia. La resistencia ha sido un

problema creciente en los últimos años, y se estudia a través de pruebas genotípicas y fenotípicas. La información que proporcionan estos estudios, resulta una herramienta crucial en la clínica a la hora de instaurar el tratamiento más apropiado. Sin embargo, la interpretación del genotipo es compleja y está sujeta a cambios frecuentes, tanto por la incorporación de nuevos fármacos, como también por la actualización en los patrones de resistencia. Esta revisión tiene por objetivo, la comprensión de los aspectos fundamentales de la resistencia a los anti-retrovirales (ARVs), donde se analizan los principios generales, mecanismos y patrones de resistencia, tanto para las familias tradicionales de ARVs, como para las nuevas familias.

Referencias

- 1.- Clavel F, Hance AJ. HIV Drug resistance. *N Engl J Med* 2004; 350; 10: 1023-35.
- 2.- Geretti A M. Clinical implications of HIV drug resistance to nucleoside and nucleotide transcriptase inhibitors. *AIDS rev* 2006; 8: 210-20.
- 3.- Jacobson J M, Lowy I, Fletcher C V, O'Neill T J, Tran D N, Ketas T J, et al. Single dose safety, pharmacology, and antiviral activity of the human immunodeficiency virus (HIV) type 1 entry inhibitor PRO 542 in HIV-infected adults. *J Infect Dis* 2000; 182: 326.
- 4.- Johnson V A, Brun-Vézinet F, Clotet B. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: December 2010. *International AIDS Society-USA* 2010; 18 (5): 156-63.
- 5.- Paredes Roger and Buenaventura C. Clinical management of HIV-1 resistance. *Antiviral Res* 2010; 85: 245-65.
- 6.- Menéndez-Arias L. Molecular basis of human immunodeficiency virus. An update. *Antiviral Res* 2010; 85: 210-31.
- 7.- Nijhuis M, van Maarseveen N M, Verheyen J, Boucher C. Novel mechanisms of HIV protease inhibitor resistance. *Curr Opin HIV AIDS* 2008; 3: 627-32.
- 8.- Llibre M J, Shapiro M J, Bonaventura C. Clinical implications of genotypic resistance to the newer antiretroviral drugs in HIV-1 infected patients with virological failure. *Clin Infect Dis* 2010; 50 (6): 872-81.
- 9.- Perno C F, Svicher V, Ceccherini-Silberstein F. Novel drug resistance mutations in HIV: Recognition and clinical relevance. *AIDS Rev* 2006; 8: 179-190.
- 10.- 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.
- 11.- Vingerhoets J, Tambuyzer L, Azijn H, Hoogstoel A, Nijs S, Peeters M, et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *AIDS* 2010; 24: 503-14.
- 12.- Patel I H, Zhang X, Nieforth K, Salgo M, Buss N. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and drug interaction potential of enfuvirtide. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44: 175- 86.
- 13.- Cabrera C, Marfil S, García E. Genetic evolution of gp41 reveals a highly exclusive relationship between codons 36, 38 and 43 in gp41 under long-term enfuvirtide-containing salvage regimen. *AIDS*. 2006; 20: 2075-80.
- 14.- Wei X, Decker J M, Liu H. Emergence of resistant human immunodeficiency virus type 1 in patients receiving fusion inhibitor (T-20) monotherapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1896-905.
- 15.- Urdaneta A, Vives M. Update in antiretroviral therapy: entry inhibitors. *Infectio* 2006; 10 (4): 266-72.
- 16.- Westby M. Resistance to CCR5 antagonists. *Curr Opin HIV AIDS* 2007; 2: 137-44.
- 17.- Briz V, Poveda E, Soriano V. HIV entry inhibitors: mechanisms of action and resistance pathways. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 619-27.
- 18.- Westby M. Reduced maximal inhibition in phenotypic susceptibility assays indicates that viral strains resistant to the CCR5 antagonist maraviroc utilize inhibitor bound receptor for entry. *J Virol* 2007; 81:2359-71.
- 19.- Anastassopoulou C G, Ketas T J, Klasse P J, Moore J P. Resistance to CCR5 inhibitors caused by sequence changes in the fusion peptide of HIV-1 gp41. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106 (13): 5318-23.
- 20.- Fkenheuer G, Nelson M, Lazzarin A. Subgroup analyses of maraviroc in previously treated R5 HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008; 359: 1442-5.
- 21.- Ogert R A. Mapping resistance to the CCR5 co-receptor antagonist vicriviroc using heterologous chimeric HIV-1 envelope genes reveals key determinants in the C2-V5 domain of gp120. *Virology* 2008; 373: 387-99.
- 22.- Kuhmann S E, Hartley O. Targeting chemokine receptors in HIV: A status report. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2008; 48: 425-61.
- 23.- Pugach P. HIV-1 clones resistant to a small molecule CCR5 inhibitor use the inhibitor-bound form of CCR5 for entry. *Virology* 2007; 361: 212-28.
- 24.- Markowitz M, Nguyen B, Gotuzzo E, Mendo F, Ratanasuwana W, Kovacs C, et al. Rapid and durable antiretroviral effect of the HIV-1 integrase inhibitor raltegravir as part of combination therapy in treatment-naïve patients with HIV-1 infection: results of a 48-week controlled study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46: 125-33.
- 25.- Jones G, Ledford R, Yu F, Miller M, Tsiang M, McColl D. Resistance profile of HIV-1 mutants in vitro selected by the HIV-1 integrase inhibitor GS- 9137 (JTK-303) [Abstract 627]. 14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. Los Angeles, 25-28 February 2007.
- 26.- Eron J, Kumar P, Lazzarin A. DTG in subjects with HIV exhibiting RAL resistance: Functional monotherapy results of VIKING Study Cohort II. 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2011). Boston. February 27-March 2, 2011. Abstract 151LB.
- 27.- Mc Coll D, Fransen S, Gupta S, Parkin N, Margot N, Ledford R, et al. Resistance and cross-resistance to first generation integrase inhibitors: Insights form a phase 2 study of elvitegravir (GS-9137) [Abstract 9]. 16th International HIV Drug Resistance Workshop. Barbados, 12-16 June 2007.
- 28.- Kobayashi M, Seki T, Wakasa-Morimoto C. S/GSK1349572, a next generation integrase inhibitor (INI) has potential for a high genetic barrier to resistance based on in vitro passage study. 8th European HIV Drug Resistance Workshop; 2010; [abstract 31].