



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

División de Estudios de Posgrado

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN

SALVADOR ZUBIRÁN

Patrones de Resistencia Genotípica a Inhibidores de la Transcriptasa Reversa Análogos de Nucleósidos y No Nucleósidos, en Pacientes con Falla a Primer Esquema de Tratamiento Antirretroviral en México.

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA

P R E S E N T A

Dr. Edgar Samuel Vanegas Rodríguez

Tutor de tesis

Dr. Luis Soto Ramírez

Asesores:

Dr. Guillermo Ruiz Palacios y Santos

Dra. Lourdes Guerrero Almeida

Dr. Arturo Galindo Fraga



México D.F.

Junio 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez
Jefe de la Dirección de Enseñanza

Dr. Luis E. Soto Ramírez
Tutor de Tesis

Dr. Guillermo Ruiz Palacios y Santos
Profesor Titular del Curso

AGRADECIMIENTOS:

A mis amigos y compañeros.

A mis maestros.

A mis hermanos.

A mis padres porque siempre han estado conmigo.....

ÍNDICE.

RESUMEN.	7
MARCO TEÓRICO	8
INTRODUCCIÓN.	8
ESTUDIOS DE EFICACIA.	10
TENOFOVIR.	12
RESISTENCIA DEL VIH A LOS ANTIRRETROVIRALES Y MUTACIONES.	13
<i>MECANISMOS DE RESISTENCIA.</i>	14
<i>EPIDEMIOLOGÍA.</i>	16
<i>TAMs y M184V.</i>	19
<i>K65R.</i>	19
<i>OTRAS MUTACIONES.</i>	21
INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO DE RESISTENCIA.	23
JUSTIFICACIÓN.	24
OBJETIVOS.	25
PRIMARIO.	25
SECUNDARIOS.	25
METODOLOGÍA.	26
RESULTADOS.	28
GENERALES.	28
MUTACIONES.	30
<i>RESISTENCIA A INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA REVERSA NO NUCLEÓSIDOS INCLUYENDO ETRAVIRINA.</i>	30
<i>MUTACIONES A ANÁLOGOS TIMIDÍNICOS (TAMs).</i>	31
<i>M184V.</i>	32
<i>K65R, TENOFOVIR Y GRADOS DE RESISTENCIA.</i>	33
DISCUSIÓN.	35
CONCLUSIONES.	40
RECOMENDACIONES.	41
BIBLIOGRAFÍA.	42

ABREVIATURAS UTILIZADAS:

ABC: Abacavir.
AMP: Amprenavir.
ARV: Antirretroviral.
ATP: Adenosín trifosfato.
ATZ/RTV: Atazanavir/ritonavir.
AZT: Zidovudina.
ddC: Zalcitabina.
ddl: Didanosina.
d4T: Estavudina.
DNA: Ácido desoxirribonucleico.
EFV: Efavirenz.
ETV: Etravirina.
FDA: Food and Drug Administration, USA.
FPV/RTV: Fosamprenavir/ritonavir.
FTC: Emtricitabina.
IDV: Indinavir.
ITRAN: Inhibidor de la transcriptasa reversa análogo de nucleósido/nucleótido.
ITRNN: Inhibidor de la transcriptasa reversa no análogo de nucleósido.
IP: Inhibidor de la proteasa.
LPV/RTV: Lopinavir/ritonavir.
MVC: Maraviroc.
NAM: Mutación de análogos de nucleósidos (*nucleoside analogue mutation*).
NFV: Nelfinavir.
NVP: Nevirapina.
PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.
PR: Proteasa.
RAL: Raltegravir.
RNA: Ácido ribonucleico.
RT: Transcriptasa reversa.
SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.
SQV/RTV: Saquinavir/ritonavir.
TAM: Mutación de análogos de timidina (*thymidine analogue mutation*).
TARAA: Terapia antirretroviral altamente activa.
TDF: Tenofovir.
TPV/RTV: Tipranavir/ritonavir.
VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.
3TC: Lamivudina.

CÓDIGOS DE AMINOÁCIDOS:

A: Alanina.
C: Cisteína.
D: Ácido aspártico.
E: Ácido glutámico.
F: Fenilalanina.
G: Glicina.
H: Histidina.
I: Isoleucina.
K: Lisina.
L: Leucina.
M: Metionina.
N: Asparagina.
P: Prolina.
Q: Glutamina.
R: Arginina.
S: Serina.
T: Treonina.
V: Valina.
W: Triptófano.
Y: Tirosina.

RESUMEN

Introducción: El uso extendido del tratamiento antirretroviral en los países desarrollados durante los últimos 10 años ha favorecido la selección de variantes del VIH que son capaces de evadir la presión farmacológica y que actualmente representan una elevada proporción de la población viral circulante¹³. En los países en desarrollo la resistencia a antirretrovirales es un fenómeno nuevo. De acuerdo a CENSIDA (Centro nacional para la prevención y el control del VIH/SIDA) hasta el año 2007 se encontraban recibiendo tratamiento antirretroviral (ARV) en México 46018 personas lo que representaba casi el 100% de cobertura de los pacientes que requerían recibir tratamiento. La fármaco-resistencia generada por el VIH-1 es una consecuencia potencial de la terapia ARV. Este estudio determina las mutaciones y patrones de resistencia del VIH-1 después de fallar al primer esquema de tratamiento antirretroviral en México.

Objetivos: Conocer patrones de resistencia genotípica en pacientes mexicanos infectados con VIH con falla al primer esquema de tratamiento antirretroviral. Describir mutaciones asociadas a resistencia a inhibidores de transcriptasa reversa análogos de nucleósidos (ITRANs) e inhibidores de transcriptasa reversa no análogos de nucleósidos (ITRNNs). Comparar los mecanismos por los que el ITRAN tenofovir establece la resistencia genotípica.

Métodos: De junio de 2003 a enero de 2010 estudiamos, 118 pacientes de las cohortes de sujetos infectados con VIH del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y del Hospital Civil Fray Antonio Alcaide (en Guadalajara, Jal.), en falla virológica al primer esquema de tratamiento antirretroviral y que contaran con un reporte escrito de genotipo (Viroseq) para identificar mutaciones y patrones de resistencia genotípica a ITRANs e ITRNNs. Se utilizó el algoritmo de Stanford para determinar los diversos grados de resistencia a tenofovir, así como el puntaje desarrollado por Tibotec para valorar la resistencia a etravirina.

Resultados: Encontramos 118 casos (98 pacientes del INCMNSZ y 20 del Hospital Civil de Guadalajara) fallando a 37 diferentes combinaciones de ARV, siendo las más frecuentes: TDF+FTC+EFV (en 22%) y AZT+3TC+EFV (en 22%). En 24 pacientes (20%) no detectamos mutaciones. La mutación más frecuente fue M184V (en 64, 54%) y en 28 sujetos (24%) fue la única mutación; en ambos casos (tanto como única mutación como asociada a otras) fue más frecuentemente relacionada a 3TC que a FTC. Se encontraron mutaciones a análogos de timidina (TAMs) en 48 (41%) casos; 63% de estos tuvieron 3 ó más, un tercio en el patrón tipo 1. Se detectó la mutación K65R en 2 casos (1.7%) ambos asociados al uso de TDF. Por el algoritmo de Stanford ninguna falla se catalogó como de alta resistencia a TDF; pero por correlación genofenotípica de acuerdo también a dicho algoritmo 10 lo fueron. Dos de 7 con ABC o DDI desarrollaron L74V. Recibieron ITRNNs 59 pacientes (50%); K103N fue la mutación más frecuente (61%) asociada a estos y en la mayoría de los casos relacionada a efavirenz. Seis fallaron a NVP y 2 tuvieron resistencia completa a ETV, uno recibió nevirapina y el otro efavirenz; además 13 tuvieron

resistencia intermedia sin haber diferencias significativas de acuerdo a sí recibieron efavirenz o nevirapina.

Conclusiones: Se hizo evidente que en México continúan utilizándose múltiples combinaciones de ARV a pesar de la existencia de guías nacionales e internacionales. La prevalencia de TAMs y K65R fue similar a la de los países desarrollados. Hay importantes diferencias en la evaluación de resistencia a TDF. Los patrones de resistencia locales son útiles cuando no hay disponibilidad o acceso a pruebas de resistencia.

MARCO TEÓRICO

INTRODUCCIÓN.

El tratamiento de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) fue drásticamente revolucionado por la introducción de la terapia antirretroviral (ARV), caracterizada por el uso de esquemas compuestos por varios fármacos. Ello ha resultado en una sustancial reducción en la progresión a SIDA, infecciones oportunistas, hospitalizaciones y muertes, así como en una mejoría en la calidad de vida de estos pacientes¹. Dichos esquemas están compuestos de al menos 3 fármacos activos (que conforman lo que se conoce como TARAA o tratamiento antirretroviral altamente activo), divididos en lo que se conoce como columna vertebral o esqueleto (*backbone*) y un complemento o base. El esqueleto o columna vertebral generalmente está compuesto de dos inhibidores de la transcriptasa reversa análogos de nucleósidos (ITRANs) y el complemento ya sea de un inhibidor de la transcriptasa reversa no análogo de nucleósido (ITRNN) o un inhibidor de la proteasa (IP) viral.

La actividad de la terapia ARV está determinada por la existencia o no de resistencia a esquemas o fármacos específicos. A finales de los años 80 e inicios de los 90s, los ensayos clínicos con monoterapia (usando ITRANs) condujeron únicamente a una mejoría clínica e inmunológica transitoria. Se observó también que la monoterapia con zidovudina en pacientes con infección avanzada llevaba a una disminución en la incidencia de muerte y enfermedades oportunistas. Sin embargo, no se observó en enfermos asintomáticos beneficio entre el inicio temprano o tardío del medicamento. Posteriormente, dos estudios sugirieron que el uso de biterapia era superior a la monoterapia en reducir los objetivos combinados de disminución de CD4 y aparición de SIDA o muerte. Finalmente, el estudio ACTG 320 fue un punto de referencia que probó que la triple terapia con dos ITRANs más un IP era superior a la monoterapia en la reducción de las complicaciones relacionadas a SIDA y de la mortalidad. En general, esquemas compuestos por 4 ARVs no son recomendados ya que no han demostrado mayor eficacia que aquéllos formados por 3 medicamentos en pacientes *naïve* (es decir vírgenes a tratamiento) no infectados por virus fármaco-resistentes².

En general se considera que la eficacia total de los ITRNNs, IPs, inhibidores de la integrasa y antagonistas de los receptores CCR5 es aceptable para utilizarlos como manejo inicial del paciente infectado con el VIH, aunque en condiciones particulares. En la Tabla 1 se presentan las últimas recomendaciones acerca de los esquemas de ARV a utilizar en un paciente virgen a tratamiento de acuerdo al *Panel on antiretroviral guidelines for adults and adolescents* de diciembre del 2009.

Tabla 1. Recomendaciones del Panel:

- Se recomienda el inicio de terapia antirretroviral en pacientes vírgenes a tratamiento con 1 de los siguientes 3 tipos de esquemas:
 - 2 ITRANS + 1 ITRNN.
 - IP reforzado con ritonavir + 2 ITRANS.
 - Inhibidor de la integrasa + 2 ITRANS.
- Se recomiendan los siguientes esquemas como los preferidos para inicio de terapia antirretroviral en pacientes vírgenes a tratamiento:
 - Efavirenz + tenofovir + emtricitabina.
 - Atazanavir reforzado con ritonavir + tenofovir + emtricitabina.
 - Darunavir reforzado con ritonavir + tenofovir + emtricitabina.
 - Raltegravir + tenofovir + emtricitabina.
- La selección del esquema de tratamiento debe individualizarse.

Tabla 2. FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES APROBADOS POR LA Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos.

INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA REVERSA:
- ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS / NUCLEÓTIDO (ITRANS):
ZIDOVUDINA (AZT).
DIDANOSINA (ddI).
ZALCITABINA (ddC).
ESTAVUDINA (d4T).
EMTRICITABINA (FTC).
LAMIVUDINA (3TC).
ABACAIR (ABC).
TENOFOVIR (TDF).
- NO ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS (ITRNNs):
NEVIRAPINA (NVP).
DELAVIRDINA (DLV).
EFAVIRENZ (EFV).
ETRAVIRINA (ETV).
INHIBIDORES DE LA PROTEASA (IP):
NELFINAVIR (NFV).
SAQUINAVIR (SQV).
INDINAVIR (SQV).
RITONAVIR (RTV).
LOPINAVIR (LPV).
ATAZANAVIR (ATV).
FOSAMPRENAVIR (FPV).
TIPRANAVIR (TPV).
DARUNAVIR (DRV).
INHIBIDORES DE LA ENTRADA Y LA FUSIÓN:

ENFUVIRTIDE (ENF).
MARAVIROC (MVC).
INHIBIDORES DE LA INTEGRASA.
RALTEGRAVIR.

ESTUDIOS DE EFICACIA.

De las diversas combinaciones posibles existen aquéllas que son recomendadas como de primera línea para el manejo de pacientes *naïve* a tratamiento, otras que se consideran de segunda línea y algunas más que ya están en desuso o no se recomiendan. Así, se han desarrollado diversos estudios clínicos para llegar a esas conclusiones. Uno de ellos comparó TDF/FTC con AZT/3TC ambos combinados con efavirenz en 509 pacientes vírgenes a tratamiento ARV. El desenlace primario fue el tiempo en el cual ocurría pérdida en la respuesta virológica ya sea por falla virológica y/o suspensión del tratamiento por cualquier razón, incluyendo intolerancia o pérdida del seguimiento. Después de 48 semanas, 81% de los pacientes que recibieron TDF/FTC tenían niveles de RNA VIH-1 <400 copias/ml comparado con 71% en el brazo con AZT/3TC. Hubo un bajo grado de falla virológica en ambos grupos: 2% en TDF/FTC/EFV y 4% AZT/3TC/EFV, así como significativamente menores interrupciones del tratamiento debido a eventos adversos en el primer grupo comparado con el segundo (4% vs. 9%, $P=0.016$). En pacientes con RNA VIH > 400 copias/ml se desarrollaron mutaciones de resistencia en 5% con TDF/FTC/EFV y 10% en el grupo de AZT/3TC/EFV. La resistencia a efavirenz ocurrió en 4% y 7%, M184V en 1% y 3%, y a cualquier TAM 0 y 1 (<1%), respectivamente; ningún paciente desarrolló la mutación K65R³. Éste es uno de los estudios más representativos que demuestra la superioridad de un régimen sobre otro, en este caso ambos basados en la combinación de 2 ITRANS más 1 ITRNN. AZT/3TC ha sido una de las combinaciones de ITRANS más usadas, aunque las guías actuales ya no la consideran como alternativa a la opción de TDF/FTC, debido a su dosificación y a la potencial toxicidad de la zidovudina. Esta recomendación fue luego apoyada como ya se vio por los resultados encontrados en el estudio 934, en donde se observó una alta interrupción del tratamiento debido a efectos adversos en el brazo de zidovudina, en particular anemia. Sin embargo este régimen continúa siendo uno de los esqueletos preferidos en los países en desarrollo debido a su disponibilidad como cofórmula y a la falta de disponibilidad de nuevos fármacos.

Cuando se introdujo el uso de AZT requería el consumo de múltiples píldoras cada 4 horas lo cual mermaba el apego a este ARV. El desarrollo de la co-formulación de AZT/3TC facilitó la administración simultánea de dos medicamentos en una sola píldora, mejorando la adherencia de los pacientes al medicamento. Actualmente dicha combinación ha sido suplantada por TDF/FTC y/o ABC/3TC por varias razones^{4,5}:

La combinación AZT/3TC requiere dosis dos veces al día, TDF/FTC y ABC/3TC únicamente una sola dosis.

AZT está asociada con intolerancia gastrointestinal, fatiga y anemia⁸, relacionadas principalmente a la toxicidad mitocondrial característica de este fármaco. Sin embargo las otras opciones no están exentas de efectos

colaterales. El efecto colateral más serio asociado a abacavir es una reacción de hipersensibilidad. TDF puede raramente ser causa de daño renal, incluyendo el síndrome de Falconi. Pero en general los perfiles de toxicidad y efectos secundarios son más benignos de ahí que las guías actuales los recomienden como primera línea por sobre AZT/3TC como posible esqueleto de un esquema ARV.

Y aunque emtricitabina y lamivudina tienen virtualmente la misma eficacia y perfil de resistencia, en un ensayo clínico de no-inferioridad de TDF/FTC (Truvada®) contra AZT/3TC (Combivir®) (ambos con efavirenz), los pacientes asignados de forma aleatoria al grupo de Truvada® tuvieron pronóstico superior en términos de falla virológica y resistencia⁹.

También los regímenes basados en ITRNNs o IPs potenciados por ritonavir con un esqueleto de dos ITRANs son efectivos como terapia inicial en el manejo de enfermos con VIH^{4,5}.

Un meta análisis de 12 ensayos comparativos en pacientes *naïve* encontró que los esquemas basados en ITRNNs estaban asociados con resultados clínicos similares a los de los pacientes que utilizaban IPs como terapia base e incluso mostraron modestamente una mayor capacidad de supresión viral⁶.

Se encontraron resultados similares en un estudio aleatorizado subsecuente con 1397 pacientes *naïve* en tratamiento y un seguimiento de 5 años en donde IPs e ITRNNs fueron equivalentes en eficacia clínica y resultados inmunológicos⁷, alcanzándose la supresión viral a <50 copias/μl más rápidamente en el brazo de ITRNNs.

En un análisis retrospectivo de pronóstico virológico realizado en pacientes del Reino Unido que iniciaron terapia antirretroviral con abacavir (n=1135) o tenofovir (n=412), todos tomando también ya sea 3TC o FTC y también ya sea un ITRNN o un IP¹⁰, no hubieron diferencias en cuanto a tasas de falla virológica entre los dos esqueletos con nucleósidos, incluyendo pacientes que iniciaron tratamiento con cargas virales >100 mil copias/ml.

El estudio HEAT mostró equivalencias, aunque los eventos adversos incluyendo reacciones de hipersensibilidad fueron más frecuentes con abacavir (20% vs. 14%); además en los 688 pacientes observaron que ABC/3TC fue no-inferior a Truvada® cuando ambos se combinaron con LPV/r¹¹. Sin embargo más recientemente ha habido preocupación respecto a la efectividad del abacavir. El estudio ACTG 5202 que comparó ABC/3TC con Truvada® cada uno de estos con ATZ/RTV o EFV, fue detenido por la alta frecuencia de falla virológica observada en pacientes con carga viral basal >100 mil copias/ml y que recibieron ABC/3TC. Además también el tiempo de aparición de eventos adversos fue mucho más corto en el brazo que utilizó ABC/3TC ($P < 0.001$)¹², lo que probablemente también ha contribuido para que ABC/3TC ya no sea recomendado como esquema de primera línea en las últimas guías publicadas.

Se puede concluir que en la actualidad existe preferencia, y además así está recomendado en las guías internacionales, por el uso de tenofovir/emtricitabina como esqueleto principal de los esquemas de tratamiento ARV, aunque probablemente esta realidad está acorde a la disponibilidad farmacológica con

que cuente cada país, lo cual desafortunadamente se encuentra muy ligado a su capacidad económica y estatus de desarrollo.

TENOFOVIR.

Tenofovir disoproxil fumarato (TDF) se comercializó hace ya más de 5 años y su utilización en la práctica clínica habitual se disparó rápidamente y desde hace ya varios años, es el fármaco más utilizado en los países occidentales, ya sea en su formulación individual (Viread®), combinado con FTC (Truvada®) o con FTC y EFV (Atripla®).

Es un análogo de nucleótido que se administra por vía oral en forma de éster disoproxil, que se des-esterifica para alcanzar una biodisponibilidad que supera el 20% y que aumenta ligeramente si el fármaco se ingiere con grasas. De forma característica presenta una semivida intracelular que supera en más de 10 veces a la plasmática.

Es el ARV más utilizado en la práctica clínica en los países occidentales. En los pacientes que inician ARV el estándar de oro en la práctica clínica es la combinación de TDF, FTC y EFV. En los pacientes en los que por diversos motivos se decide iniciar TARA con un IP potenciado, la combinación de TDF/FTC con cualquiera de ellos constituye también una pauta de elección.

TDF en sus diferentes formulaciones puede ser una buena elección en los pacientes con un buen control virológico de la infección por el VIH, pero en aquellos en quienes se plantea la necesidad de cambiar el tratamiento ARV para evitar o revertir determinados efectos adversos, o en algunos casos para simplificar el tratamiento. La mayor experiencia clínica se tiene en pacientes con pautas que incluyen análogos de timidina que se sustituyen por TDF, observándose en ellos una recuperación parcial de la grasa subcutánea y una mejoría significativa del perfil lipídico, manteniéndose la eficacia virológica.

TDF ha demostrado ser un fármaco eficaz y seguro en pacientes con fracaso virológico previo y con mutaciones de resistencia en el gen de la transcriptasa inversa. En estos casos, la presencia de las mutaciones 41L y 210W se asocia a una peor respuesta al tratamiento de rescate que incluya TDF. Por el contrario, la existencia de TAM tipo 2 (67N, 70R y 219Q/E/N) presenta un escaso impacto en la actividad de TDF en estos pacientes. Finalmente hay que destacar que en el tratamiento con TDF la presencia de M184V se asocia con una respuesta virológica más favorable, frente a su ausencia, con cualquiera de las distintas combinaciones de mutaciones presentes. Sin embargo el tratamiento de rescate en pacientes que presentan un fracaso virológico debe individualizarse cuidadosamente en función de las causas que ocasionaron el fracaso y de las mutaciones de resistencia desarrolladas. TDF tiene una barrera genética mucho más elevada que FTC/3TC siendo necesarias varias mutaciones para que disminuya su eficacia. El tratamiento de la infección por el VIH ha mejorado notablemente, de manera que los regímenes iniciales ya no incluyen análogos de timidina y ya no se mantiene largo tiempo a los pacientes en situación de fracaso virológico, con replicación viral mantenida, que ocasionaba un acúmulo de mutaciones con resistencia prácticamente total a los ITRANs. Actualmente en la mayoría de pacientes con un primer fracaso

virológico, y a menudo con varios fracasos, se mantiene la sensibilidad a TDF, que podrá administrarse en el tratamiento de rescate.

RESISTENCIA DEL VIH A LOS ANTIRRETROVIRALES Y MUTACIONES.

La resistencia es consecuencia de mutaciones que emergen en las proteínas virales blanco de los agentes ARV⁶⁴. En EE.UU. aproximadamente el 50% de pacientes que están recibiendo terapia ARV están infectados por virus que expresan resistencia al menos a uno de los ARV disponibles al momento.

Algunos de los fármacos más utilizados y sus mecanismos de acción son:

1. ITRANs que actúan al final de la cadena de DNA e inhiben la transcripción reversa del RNA genómico viral a una cadena de DNA, un evento crucial que ocurre en una etapa temprana del ciclo de vida viral.
2. ITRNNs los cuales se unen e inhiben a la transcriptasa reversa, la enzima viral encargada de la transcripción reversa.
3. Inhibidores de la proteasa, cuyo blanco es la proteasa viral necesaria para el desdoblamiento de las proteínas precursoras, permitiendo el ensamblaje final del núcleo interno de las partículas virales.
4. Inhibidores de la entrada que bloquean la penetración de los viriones en las células blanco.

Dos conceptos son importantes para la comprensión del desarrollo de la resistencia. Primero, la infección por el VIH está caracterizada por tener altos niveles de recambio (incorporación de nuevas poblaciones virales) y replicación viral. En la mayoría de pacientes no tratados la tasa de replicación es extraordinaria, del orden de 10^{10} partículas virales nuevas cada día. Segundo, el VIH, al igual que otros virus con genoma RNA presenta una gran variabilidad genética, que se debe fundamentalmente a que la transcriptasa reversa carece de actividad exonucleasa 3 → 5', correctora de errores (la mayoría de errores son sustituciones de base pero también ocurren duplicaciones, inserciones y recombinaciones), lo que hace que la población viral en una persona infectada sea altamente heterogénea (estructura genética de cuasiespecies).

Entre esa gama de mutaciones presentes de manera natural se encuentran aquéllas que causan resistencia a los fármacos antivirales y su proporción respecto al total de la población viral dependerá del grado relativo de capacidad de replicación que cada variante tenga en ese ambiente y momento concretos. Así cuando se administra un fármaco tiene lugar una selección de la variante con una menor susceptibilidad al mismo, que con el tiempo y por mera selección darwiniana llegará a constituirse como la población mayoritaria en el huésped. La rapidez de este proceso depende del grado de ventaja selectiva conferida por la mutación, la prevalencia de ésta en la población viral y las concentraciones del fármaco en el sitio de replicación viral. La terapia combinada bloquea este proceso de selección por dos razones. Primero, se requieren múltiples mecanismos (cada uno requiriendo mutaciones diferentes) para que se presente resistencia a todos los fármacos del esquema. Segundo, múltiples antirretrovirales suprimen la replicación viral más efectivamente que

agentes individuales. En los pacientes que reciben TARAA el surgimiento de resistencia viral es posible sólo si el virus continúa replicándose en presencia de niveles farmacológicos insuficientes para bloquear dicho proceso, pero suficiente para ejercer una selección positiva en las variantes que ya tienen baja susceptibilidad farmacológica. Desde este punto de vista y en el contexto del tratamiento antirretroviral, la resistencia es a menudo una consecuencia y no la causa de la falla al tratamiento inicial.

MECANISMOS DE RESISTENCIA.

1.- RESISTENCIA A ITRANS.

Los ITRANS necesitan ser fosforilados y de esta manera competir con los dideoxínucleósidos naturales en su incorporación para la síntesis de la nueva cadena de DNA proviral; debido a que estos medicamentos carecen del grupo 3' hidroxilo, provocan la terminación anticipada de dicha cadena. Dos mecanismos distintos están involucrados en la resistencia del VIH a estos agentes: incapacidad para la incorporación del análogo en el DNA y remoción del análogo de la cadena de DNA prematuramente terminada.

Varias mutaciones o grupos de mutaciones en la transcriptasa reversa pueden promover resistencia al interrumpir la incorporación del análogo a la cadena de DNA; éstas son esencialmente M184V, el complejo de mutaciones Q151M y la mutación K65R.

La mutación M184V implica el reemplazo de metionina por valina en la posición 184 de la transcriptasa reversa y es la principal mutación que confiere resistencia a 3TC y FTC. La metionina en la posición 184 está localizada en el corazón del sitio catalítico de la transcriptasa reversa y su sustitución por valina, la cual tiene una cadena lateral diferente, interfiriendo con el apropiado posicionamiento del trifosfato de lamivudina en el sitio catalítico. La M184V induce altos grados de resistencia a 3TC; cuando ésta se usa como agente único en pocas semanas se seleccionan poblaciones resistentes y si forma parte de un esquema en falla es casi siempre la primera en aparecer.

La mutación K65R se ve con mayor frecuencia en pacientes que tienen falla a análogos de nucleósido o nucleótido, especialmente en esquemas que incluyan abacavir o tenofovir, aunque también puede ser seleccionada por didanosina y posiblemente estavudina. Ocasiona una variable pérdida de susceptibilidad a TDF, ddl y ABC, dependiendo de la presencia de TAMs.

La extracción del análogo de la cadena terminada de DNA está asociada con un grupo de TAMs, las cuales están seleccionadas por la falla a combinaciones que incluyan AZT y d4T, aunque promueven resistencia a casi todos los análogos de nucleósidos y nucleótidos incluyendo tenofovir. Estas mutaciones ocurren gradualmente y el orden de surgimiento puede variar. Por pirofosforólisis eliminan el fármaco que bloquea la elongación de la cadena de DNA mediante hidrólisis y a concentraciones fisiológicas de pirofosfato o de ATP. La transcriptasa reversa mutada facilita la aproximación al análogo incorporado de ATP o pirofosfato, que ataca el enlace fosfodiéster que une el análogo a la cadena de DNA, resultando en la retirada del análogo. Cuando el

análogo de nucleósido trifosfato es incorporado a la cadena de DNA, en lugar de liberarse el pirofosfato la presencia de múltiples mutaciones de resistencia en la transcriptasa reversa evita la translocación, permitiendo la escisión del análogo y la continuación del proceso de extensión con la adición de un nuevo nucleósido trifosfato celular. La eficiencia de este proceso, también conocido como “primer rescate”, puede ser significativamente disminuido por la presencia de otras mutaciones en la transcriptasa reversa, un fenómeno mejor descrito para el caso de la M184V, que desacelera la selección de estas mutaciones y puede levemente incrementar la actividad residual de algunos análogos de nucleósido a pesar de la presencia de TAMs (Figura 2).

2.- RESISTENCIA A ITRNNs.

Los ITRNNs son pequeñas moléculas que tienen una fuerte afinidad por un ligando hidrofóbico localizado cerca del dominio catalítico de la transcriptasa reversa (Figura 1). La unión a este sitio afecta la flexibilidad de la enzima bloqueando su habilidad para sintetizar DNA. Todas las mutaciones seleccionadas por estos agentes están localizadas en este ligando, reduciendo la actividad de dichos fármacos. La resistencia a nevirapina está asociada a menudo a la mutación Y181C, pero otras mutaciones como Y188C, K103N, G190A y V106A también pueden ocurrir. La resistencia inicial a efavirenz es generalmente promovida por la mutación K103N, pero Y188L también se puede detectar. Una mutación puede producir un alto nivel de resistencia a uno o más fármacos de esta familia. La resistencia aparece rápidamente cuando alguno de los ITRNNs es administrado como monoterapia, o si la supresión viral no es completa (Figura 2).

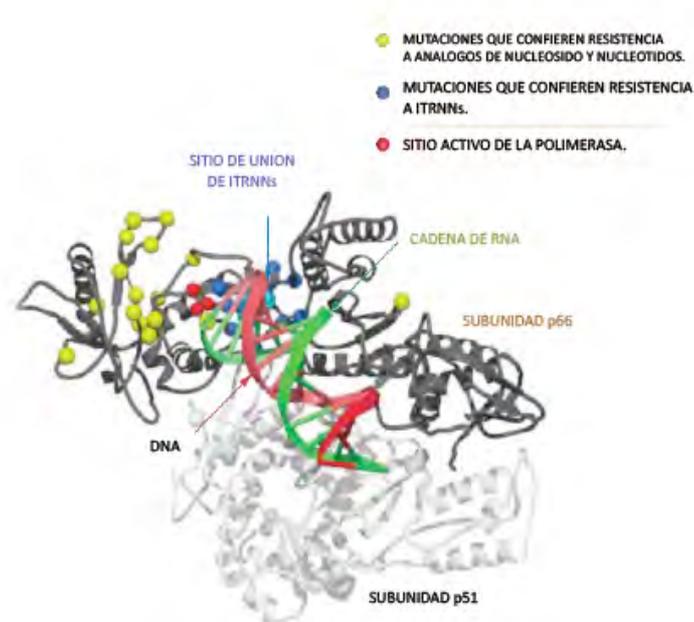


FIGURA 1: COMPLEJO DE LA TRANSCRIPTASA REVERSA (Clavel et al, 2004).

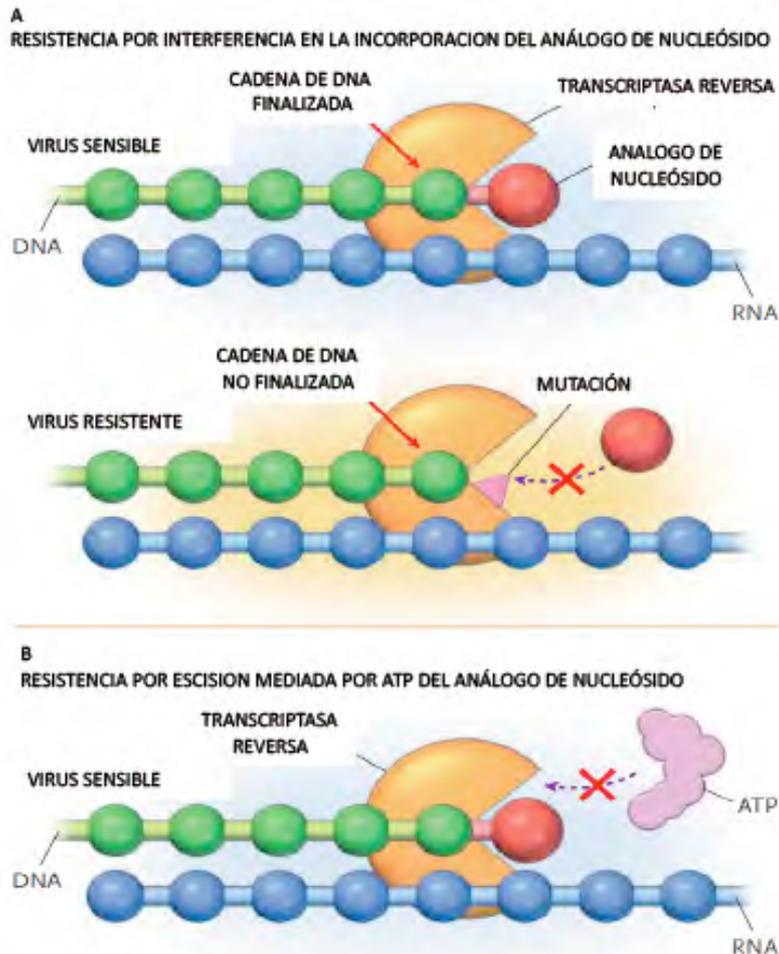


FIGURA 2: MECANISMOS PRINCIPALES IMPLICADOS EN LA RESISTENCIA A ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS (Clavel et al, 2004).

EPIDEMIOLOGÍA.

El uso extendido del tratamiento antirretroviral en los países desarrollados durante los últimos 10 años ha favorecido la selección de variantes del VIH que son capaces de evadir la presión farmacológica y que actualmente representan una elevada proporción de la población viral circulante¹³. Los virus resistentes no sólo tienen una menor susceptibilidad a los antirretrovirales disponibles, sino que además pueden transmitirse a otros sujetos, diseminando dicha característica y dando origen a lo que se conoce como resistencia primaria. En los países en vías de desarrollo la introducción del tratamiento antirretroviral ocurrió de forma tardía así como también su disponibilidad. En consecuencia, la resistencia a los antiretrovirales es un fenómeno relativamente nuevo y en algunos casos hasta limitado. Sin embargo, esto no quiere decir que no sea un problema emergente y prioritario que implica esfuerzos para realizar controles más frecuentes, asegurar una toma correcta del medicamento y disponer de las pruebas necesarias para evaluar dicho problema.

La resistencia del VIH a los antiretrovirales se refiere a la presencia de replicación viral activa a pesar de la existencia de niveles terapéuticos de uno o

varios medicamentos o bien la disminución de la susceptibilidad del virus a un fármaco o grupo de fármacos.

La prevención y el manejo de la resistencia al tratamiento antirretroviral representan un desafío para mantener una supresión viral duradera en los pacientes infectados por el VIH. De ahí la importancia de conocer los diferentes patrones de resistencia asociados a este tratamiento y con ello seleccionar de forma apropiada los regímenes iniciales y subsecuentes para maximizar la probabilidad de lograr una supresión viral efectiva.

1.- RESISTENCIA PRIMARIA.

Se le llama resistencia primaria a la presencia de ésta antes del inicio del tratamiento antirretroviral, la cual puede deberse a polimorfismos o mutaciones espontáneas, o ser resultado de la transmisión de cepas resistentes provenientes de un individuo previamente tratado.

2.- RESISTENCIA SECUNDARIA.

La resistencia secundaria es ocasionada por la presión selectiva de los medicamentos en uso cuando la supresión virológica es incompleta. Este tipo de resistencia tiene una gran relevancia clínica pues también está relacionada al desarrollo de resistencia cruzada a otros fármacos aun cuando no hayan sido usados con anterioridad. Este fenómeno tiene gran importancia pues también está asociado a eventos relacionados al SIDA y la mortalidad asociada. Se sabe por ejemplo que el surgimiento de resistencia a cualquier fármaco se asociaba a un riesgo al menos del doble de que el paciente muriese, y hasta un riesgo triplicado en pacientes con resistencia a los ITRNNs, lo cual implica la importancia que tiene la aparición de resistencia para la sobrevivencia de los pacientes¹⁴.

La resistencia primaria tiene una prevalencia promedio del 10% aunque con variaciones extremas; tanto, que en Europa occidental ha ido en disminución, mientras que en algunos lugares de EE.UU. se ha incrementado hasta cifras de 25%¹⁵. La prevalencia de resistencia transmitida en poblaciones recién infectadas en comparación con aquéllas crónicamente infectadas es del 3-5%. Esto puede traer varias consecuencias, entre ellas, la progresión de la enfermedad en pacientes que se infectan con cepas resistentes, respuesta clínica subóptima o cambios en la terapia inicial. Igualmente, la prevalencia reportada de resistencia primaria en Latinoamérica es variable. En Brasil se han reportado datos de 0 a 14% (ITRAN), Argentina hasta el 7% y en México desde un 2.5% a 7.2% (ITRAN 4.8%)¹⁶.

Sabemos que el surgimiento de las resistencias secundarias está muy relacionado a la barrera genética (entendida como el número de mutaciones específicas necesarias para mostrar pérdida de la susceptibilidad a un fármaco determinado) de cada fármaco. Así los de más baja barrera como 3TC, FTC, EFV o NVP seleccionarán resistencia de forma más temprana en semanas o meses a diferencia de los que tienen mayor barrera genética. Igualmente, la

incidencia y prevalencia de este tipo de resistencia es muy difícil de establecer pues depende del tipo de virus circulante, los fármacos antiretrovirales utilizados, el acceso a estos, patrones de apego de cada paciente, así como inclusive factores genéticos de estos, que puedan estar implicados.

Así, en México, tomando en cuenta que tiene alrededor de 200 mil personas infectadas (dato estimado a 2007: CENSIDA⁶⁵) y más de 30 mil en tratamiento, las TAMs, son más frecuentes que en otros países de Latinoamérica (T215Y/F 30%, M41L 22% y D67N 18%), diferencias que se pueden relacionar al uso prolongado de monoterapia o biterapias con zidovudina. La frecuencia de K65R sigue siendo baja (<1%). En el caso de los ITRNNs la mutación más frecuente es la K103N, con una frecuencia del 13%, seguida de la Y181C¹⁷ (Tabla 3).

En los últimos años se ha observado una disminución de la prevalencia de TAMs en pacientes VIH+ con falla virológica y, por el contrario, un aumento en la prevalencia de mutaciones asociadas con resistencia a ITRNNs. Estos datos han sido confirmados por un estudio de 164 mil genotipos de pacientes en falla virológica (Francia) realizado entre 1998 y 2005 en donde la prevalencia disminuyó significativamente entre 2003 y 2005 (del 61% al 59%) y por el contrario, la prevalencia de la mutación K103N aumentó del 38% al 40% en el mismo periodo¹⁸. En Italia, en un análisis de más de 4500 genotipos de pacientes con falla virológica, se observó un aumento en la prevalencia de mutaciones asociadas con resistencia a TDF y ABC (K65R, L74V y Y115F)¹⁹. Estos cambios probablemente se deben a la evolución que han ido teniendo los fármacos que se seleccionan como primera línea de tratamiento.

Las tendencias en el consumo de ARV a lo largo del tiempo se traducen en el tipo de selección de mutaciones de resistencia en la falla virológica. La disminución en el uso de AZT, d4T y didanosina se ha asociado a una disminución en la prevalencia de TAMs, y por el contrario el uso generalizado de tenofovir se ha asociado con un aumento en la prevalencia de la mutación K65R²⁰. Sin embargo, más recientemente un estudio español en 1177 genotipos demostró una disminución en la incidencia de K65R desde un 15.2% de detecciones durante el periodo de 2002-2004, a un 2.7% de detecciones en el periodo 2005-2006 ($P < 0.001$), a pesar del elevado pero estable uso de tenofovir. Este ensayo mostró que la selección de la mutación K65R está asociada a la exposición no sólo a tenofovir sino también a didanosina y abacavir. De hecho, notaron que desde la introducción de TDF/FTC sustituyendo el uso de ddI ocurrió una reducción dramática en la incidencia de K65R. En el mismo estudio la presencia de 3 o más TAMs, incluyendo M41L y/o L210W, tuvo una prevalencia total de 36.6%, siendo el patrón de resistencia a tenofovir que más frecuentemente se presentó, hecho atribuido a que la mayoría de pacientes que experimentaron falla a TDF habían sido previamente expuestos a AZT o d4T. En otros estudios, la presencia de K65R se encontró hasta en el 4% de pacientes con falla virológica a primera línea de tratamiento basado en d4T, 3TC y EFV, por lo que en general la frecuencia de ocurrencia no es tan alta, aunque esto es válido sobre todo para países desarrollados que están al día en cuanto a la disponibilidad de nuevos fármacos y por tanto esquemas de tratamiento más recientes e innovadores.

TAMs y M184V.

Cualquier ITRAN puede seleccionar una mutación de resistencia cuando se usa en un régimen no supresivo. El patrón específico de la mutación seleccionada puede estar asociado a varios grados de resistencia cruzada entre los ITRAN. En general una mutación única puede resultar en altos grados de resistencia a 3TC, FTC, TDF, ABC y ddI, mientras que AZT y d4T requieren múltiples mutaciones.

Zidovudina y estavudina son análogos de la timidina y comparten patrones de resistencia. Las mutaciones más comunes son: M41L, L210W, T215Y, D67N, K70R y K219Q/E/N²⁴. A este grupo de mutaciones se les conoce como TAMs, y típicamente emergen de una de las siguientes dos vías: Una que incluye a M41L, L210W y T215Y; y la alternativa que incluye D67N, K70R y K219Q/E/N^{24,25}. La primera confiere resistencia cruzada a todos los ITRANS incluyendo tenofovir, y la segunda confiere resistencia primaria a zidovudina y estavudina, pero causa menos resistencia a abacavir, didanosina y tenofovir²⁶. Pueden haber patrones mixtos en algunos pacientes y además continúan acumulándose conforme siguen produciéndose fallas al tratamiento antirretroviral, lo que puede conducir a resistencias más severas y además cruzadas entre varios ITRANS. Se requieren al menos 3 TAMs antes de perder completamente la actividad farmacológica de AZT y d4T.

Lamivudina y emtricitabina son los ITRANS con más baja barrera genética para desarrollar resistencia. Ambas seleccionan la mutación M184V, la cual es la mutación más prevalente asociada a ITRAN y a menudo la primera en aparecer²⁸. Esta mutación causa niveles altos de resistencia a 3TC y FTC así como una modesta disminución en la susceptibilidad a ABC²⁹ y ddI³⁰. Sin embargo la M184V confiere un aumento en la susceptibilidad a AZT, d4T y TDF así como parcialmente revierte la resistencia mediada por TAMs a estos ARV³¹. También conduce a una disminución en la capacidad de replicación del VIH³², lo que de alguna manera favorece el uso de ciertos ITRANS.

K65R.

K65R es la principal mutación asociada a la resistencia a tenofovir³³, aunque también es infrecuentemente seleccionada por ABC, d4T y ddI. Una mutación menos común asociada a la exposición a tenofovir es la K70E³⁴. Las TAMs (especialmente M41L, L210W y T215Y) también confieren resistencia a este fármaco. El surgimiento de esta mutación podría estar relacionado al estatus inmune del huésped y también al uso de otros agentes.

Un estudio aleatorizado (GS 903) comparó TDF con d4T en 602 pacientes vírgenes a tratamiento antirretroviral quienes también recibieron 3TC y EFV³⁵. La mutación K65R se documentó menos frecuentemente que las mutaciones a EFV o 3TC. Esta mutación se observó en 8 pacientes (1 paciente después de la semana 48) lo cual representó menos del 3% del total de pacientes tratados o 17% de aquéllos que experimentaron falla virológica en el grupo de TDF. Todos los aislamientos que expresaron la mutación K65R retuvieron la susceptibilidad a AZT y d4T y posiblemente a ABC y ddI. Como mutación única

no estuvo asociada a un suficiente descenso en la susceptibilidad para resultar en resistencia fenotípica; sin embargo al asociarse esta mutación a la M184V (5/8 pacientes) se sobrepasaban los valores de corte de susceptibilidad para ABC y ddl. La mutación K65R se acompañó siempre de resistencia a efavirenz o efavirenz más lamivudina; la mayoría de estos pacientes tenían CD4 bajos pretratamiento y altas cargas virales (media de 24 células/ μ l y 246 mil copias/ml, respectivamente). Sin embargo en otro ensayo clínico en donde se comparó TDF contra AZT (GS 934), la mutación K65R no se documentó en los pacientes tratados con tenofovir posiblemente por el uso de AZT en vez de 3TC⁴⁰. Un estudio de 222 pacientes usando regímenes que contenían TDF mostró que el surgimiento de la mutación K65R estaba asociada al uso concomitante de ITRNN o didanosina; en contraste la presencia de cualquier mutación análoga de timidina fue protectora para el desarrollo de K65R³⁷. Las implicaciones que tiene el desarrollo de esta mutación son variadas y ofrecen ventajas y desventajas. Confiere resistencia cruzada significativa a abacavir, lamivudina y didanosina; sin embargo al igual que M184V, K65R está asociada a una disminución significativa en la capacidad de replicación del VIH, la cual puede ser aditiva si se presenta también M184V. Más aun K65R es capaz también de inducir hipersusceptibilidad a zidovudina al igual que M184V³⁸. Finalmente se ha estimado que el surgimiento de K65R en pacientes en tratamiento ARV es menos común si zidovudina está incluida en un régimen con TDF o cuando alguna TAM ya está presente³⁹.

K65R ha sido una mutación raramente aislada en poblaciones tratadas, pero a inicios del año 2000 la incidencia de esta mutación empezó a incrementarse en cohortes de Norteamérica y Europa occidental. Este incremento aunque pequeño correspondió con el aumento del uso y difusión de ABC y TDF. Sin embargo, más recientemente y al entender más las interacciones entre TDF y ddl, el uso reducido de regímenes con análogos de timidina y la co-formulación de TDF con FTC han contribuido a la disminución de la frecuencia de K65R en cohortes occidentales⁴⁹. Reportes recientes encuentran una prevalencia de K65R en 2-4% de pacientes en falla^{50,51}. En el mundo desarrollado, utilizando regímenes óptimos, el surgimiento de K65R en individuos naïve es poco común, ocurriendo en 0-3% de pacientes tratados con TDF^{35,36}. En países en vías de desarrollo K65R se ha reportado en 7-14% de pacientes fallando a regímenes que contienen d4T. La presencia de K65R comúnmente se asocia a M184V, llevando a una parcial resensibilización de TDF⁵². Las TAMs se encuentran de forma infrecuente con K65R³⁹.

Aunque sabemos que K65R puede ocurrir al fallar regímenes que contengan TDF, ddl, ABC y en algunos casos estavudina conduciendo a una reducción fenotípica en la susceptibilidad a estas drogas e hipersusceptibilidad a AZT, su impacto clínico ha sido pobremente descrito. Recientemente un estudio de 130 pacientes con presencia de K65R (en los que había disponibilidad de datos referentes a tratamiento subsecuente y respuesta virológica a éste) se sometió a análisis univariado, multivariado y de inferencia estadística enfocándose en respuesta virológica y la contribución de AZT y TDF; 71 (55%) pacientes alcanzaron respuesta virológica completa (VIH-RNA < 200 copias/ml). En el análisis univariado el uso de terapia de rescate a base de AZT fue predictiva de respuesta virológica; en el multivariado AZT y TDF se asociaron a respuesta virológica, en análisis inferencial estadístico (*bootstrap*: método de remuestreo)

mostró reducciones similares en los niveles de VIH-RNA con el uso de zidovudina o tenofovir (0.5-09 log₁₀). Concluyeron que la presencia de K65R, AZT y TDF está asociada con reducciones similares en los niveles de VIH-RNA. Debido a su tolerabilidad, tenofovir puede ser el agente preferido sobre zidovudina aun en la presencia de K65R⁴⁸.

OTRAS MUTACIONES.

La mutación común al uso de ABC y ddl es L74V, la cual confiere resistencia a ambos fármacos. De forma menos común ABC selecciona otras mutaciones incluyendo K65R, Y115F y M184V. Cuando L74V se presenta en combinación con M184V ocasiona una mayor pérdida en la susceptibilidad a abacavir y didanosina; sin embargo la presencia de ambas mutaciones incrementa la susceptibilidad a AZT y TDF.

Mientras que la causa más común de resistencia cruzada amplia a los ITRAN son múltiples TAMs con M184V, existen otros dos patrones de resistencia que también pueden ocasionar resistencia cruzada significativa:

1. El complejo Q151M que está asociado con resistencia a todos los INTR excepto tenofovir.
2. La inserción T69 que causa resistencia a todos los INTR incluyendo tenofovir cuando esta mutación se acompaña de una o más TAMs en los codones 41, 210 ó 215.

Estas mutaciones son usualmente seleccionadas por esqueletos que incluyan ddl más ya sea AZT o d4T; sin embargo, son poco comunes ya que en la práctica clínica dichas combinaciones se utilizan cada vez menos.

En países subdesarrollados y en especial los del África subsahariana donde se encuentra la gran parte de población afectada por el VIH, el acceso y disponibilidad del tratamiento ARV es significativamente muy diferente a la de los países del primer mundo. Así, por ejemplo, en Malawi, en donde aproximadamente 150 mil pacientes reciben terapia antirretroviral, el esquema de primera línea que se utiliza es: d4T, 3TC y NVP; en el caso de toxicidad se sustituye AZT por d4T o EFV por NVP. La segunda línea consiste en AZT, 3TC, TDF y LPV/RTV esto de acuerdo a las guías de la OMS del 2006. Sin embargo, un documento más reciente de la OMS referente a segunda línea de tratamiento sugiere usar TDF/3TC o ABC/ddl para pacientes que fallan a primera línea con esqueletos a base de AZT o d4T y 3TC. Se sabe que la falla virológica temprana a ITRAN e ITRNN está asociada al surgimiento de la mutación M184V y mutaciones para resistencia a ITRNNs en un 50-75% de pacientes de países desarrollados^{40,41}. Si continúa la falla se desarrollan patrones de mutaciones más complejos que ya se han observado en varios estudios de países en desarrollo^{42,43}. El número y patrón de mutaciones asociadas a resistencia depende de los componentes exactos del régimen, subtipo del VIH-1 y la duración de la falla. Entonces debido a la naturaleza del programa de Malawi es esperable la acumulación de múltiples mutaciones

asociadas a resistencia a ITRANS. En un estudio realizado en ese país confirmaron la falla en 96 pacientes; 93% tuvieron mutaciones de resistencia a ITRNNs y 81% tuvo la mutación M184V. El patrón más frecuente incluyó a M184V, mutaciones a ITRNNs y al menos una TAMs (56%), 23% adquirieron las mutaciones K70E o K65R, 17% tuvieron pan-resistencia a ITRANS (K65R o K70E y mutaciones adicionales más comúnmente el complejo 151). El surgimiento de K70E y K65R estaba asociado a conteos CD4 <100 células/μl (OR 6.1) e inversamente relacionado con el uso de zidovudina (OR 0.18), lo cual es consistente con las observaciones de que K65R incrementa la susceptibilidad a AZT y que TAMs y K65R aparentemente son antagonistas⁴⁴⁻⁴⁶. Además el uso de d4T se asoció al surgimiento de K65R y K70E en el 30% de pacientes, las cuales se sabe, surgen en baja frecuencia en pacientes que reciben tenofovir^{36,44}, sin embargo surgen con mayor frecuencia en países con pobres recursos como éste, en donde d4T/3TC/NVP son utilizados como regímenes de primera línea⁴⁷.

Tabla 3. Resumen de las principales mutaciones, sus repercusiones y los fármacos que las seleccionan.

FÁRMACOS	MUTACIÓN	RESISTENCIA CRUZADA Y CAPACIDAD DE REPLICACIÓN
3TC, FTC	M184V	↓ SUSCEPTIBILIDAD A ABC, DDI. ↑ SUSCEPTIBILIDAD A AZT, D4T, TDF. ↓ CAPACIDAD DE REPLICACIÓN.
AZT, d4T	TAMs	↓ SUSCEPTIBILIDAD A TODOS LOS ITRANS DEPENDIENDO DEL NÚMERO Y PATRÓN ESPECÍFICO DE LAS TAMs.
AZT/ddl, ddl/d4T	Q151M, T69	Q151M: RESISTENCIA A TODOS LOS ITRANS EXCEPTO TDF. T69: RESISTENCIA A TODOS LOS ITRANS CON ≥ 1 TAMs (41/210/215).
TDF, d4T, ABC, ddl	K65R	↓ SUSCEPTIBILIDAD A TDF, ABC, ddl (y 3TC, FTC). ↑ SUSCEPTIBILIDAD A AZT. ↓ CAPACIDAD REPLICACIÓN.
ABC, ddl	L74V	↓ SUSCEPTIBILIDAD A ABC, ddl. ↑ SUSCEPTIBILIDAD A AZT y TDF.
EFV	L100I, K103N, V106M, V108I, Y181C/I, Y188L, G190S/A, P225H	↓ SUSCEPTIBILIDAD

NVP	L100I, K103N, V106A/M, V108I, Y181C/I, Y188C/L/H, G190A	↓ SUSCEPTIBILIDAD
ETRAVIRINA	V90I, A98G, L100I, K101E/H/P, V106I, E138A, V179D/F/I, Y181C/I/V, G190S/A, M230L	↓ SUSCEPTIBILIDAD

INTERPRETACIÓN DEL GENOTIPO DE RESISTENCIA.

El estudio del genotipo consiste en una extensa lista de mutaciones detectadas en la cepa de VIH del paciente estudiado en comparación con una cepa de referencia y que son sujetas a una interpretación clínica. Factores como la posición y el tipo de sustitución en los aminoácidos, la interacción entre mutaciones o el uso simultáneo de varios fármacos hacen que las reglas desarrolladas para interpretar la forma en la que el patrón de mutaciones influye en la actividad de los distintos fármacos antirretrovirales sean extremadamente complejas. La tendencia actual es la elaboración de reglas de interpretación a partir de series de pacientes en las que se incluye el fármaco a estudiar en el régimen terapéutico, relacionando las mutaciones basales con la eficacia virológica en términos de descenso de carga viral a los 3 o 6 meses. En ese sentido se han desarrollado reglas de interpretación para los distintos antirretrovirales disponibles. Una vez generadas las reglas de interpretación de la resistencia a cada fármaco, además de ser validadas individualmente en poblaciones similares y/o mediante *bootstrapping* (método de remuestreo) deben ser aplicadas conjuntamente en forma de algoritmo de interpretación, el cual también habrá de ser posteriormente sometido a validación clínica mediante la metodología estadística adecuada.

Estudios retrospectivos han mostrado que la presencia de resistencia farmacológica antes de iniciar un régimen nuevo es un predictor independiente de respuesta virológica a ese régimen. Estudios prospectivos han mostrado que los pacientes cuyos médicos tienen acceso a una base de datos referente a resistencia farmacológica y particularmente de tipo genotípica, responden mejor a la terapia que si los médicos no tienen acceso a dicha base de datos. La acumulación de esos estudios tanto retrospectivos como prospectivos ha llevado a que grupos de expertos recomienden las pruebas de resistencia farmacológica en el manejo del paciente que vive con VIH.

Tres tipos de datos son fundamentales para el conocimiento de la resistencia farmacológica a antirretrovirales: (1) Correlación entre el genotipo viral y los tratamientos antirretrovirales (genotipo-clínica); (2) correlación entre el genotipo

viral y los resultados *in vitro* de las pruebas de fármaco-susceptibilidad (genotipo-fenotipo); y (3) correlación entre el genotipo viral y la respuesta virológica a un nuevo régimen de tratamiento (genotipo-pronóstico). La mayoría de los sistemas de resistencia genotípica están basados en uno o más de estos tipos de datos⁶⁰.

ALGORITMO DE STANFORD.

La base de datos de Stanford (*HIVdb system*, Universidad de Stanford; Stanford, CA) utiliza estos tres componentes y es un sistema basado en normas que consiste en una lista de puntuaciones para cada fármaco y comentarios para cada mutación. El puntaje total de un fármaco deriva de la suma de los puntos individuales de cada mutación asociada a resistencia para ese fármaco y de acuerdo a éste se categorizan en 1 de 5 niveles de resistencia: (1) susceptible, (2) potencial bajo nivel de resistencia, (3) baja resistencia, (4) resistencia intermedia y (5) alta resistencia.

Sistemas de interpretación diferentes a menudo producen interpretaciones desiguales cuando se aplican a un mismo grupo de mutaciones. Por lo general esas diferencias son una cuestión de magnitud y pueden estar relacionadas a que cada sistema puede tener criterios diferentes para inferir resistencia, o también a que la estructura de sistemas basados en normas es discordante. Por ejemplo la mayoría de sistemas reportan tres niveles de resistencia: (1) susceptible, (2) intermedio o posible resistente y (3) resistente. Sin embargo otros reportan cuatro niveles y la base de datos de la Universidad de Stanford cinco, lo que hace que la interpretación de resistencias pueda ser más confusa.

JUSTIFICACIÓN.

El contexto actual de la infección por el VIH/SIDA es el de una epidemia que tiene un carácter creciente en México, aunque también el de una enfermedad que si se aborda y trata oportunamente tiende a tener características crónicas y estables, sobre todo si este abordaje y tratamiento se asocia a un uso adecuado de la terapia antirretroviral. Sin embargo, las nuevas opciones terapéuticas contra el VIH son limitadas, por lo que deben de usarse en forma adecuada los esquemas actualmente disponibles, a través de la combinación de antiretrovirales potentes para mantener una supresión viral sostenida y así prevenir el desarrollo de cualquier tipo de resistencia farmacológica.

El desarrollo de resistencia viral tiene una connotación seria y un interés primordial, debido a que condiciona la selección de tratamientos iniciales y subsecuentes o de rescate. Por ello el conocimiento de los perfiles de resistencia, específicamente en los pacientes fallando a su primer esquema de terapia antirretroviral, así como también la forma en que se presentan de acuerdo al esquema antirretroviral utilizado permite ahorrar costos en la

determinación de genotipos y anticipar qué combinaciones son las que más mutaciones generan y las posibles alternativas para evitar dicho fenómeno o en todo caso el ofrecimiento oportuno de regímenes diferentes. Otros argumentos son:

- El conocimiento del patrón de resistencia genotípica a antiretrovirales específicos permitirá orientar las decisiones terapéuticas en casos de falla virológica en pacientes que no pueden costearse la realización de una prueba genotípica.
- Existe poca información acerca del perfil de mutaciones virales asociadas a resistencia antirretroviral en la población seropositiva al VIH en México y sobre todo con falla al primer esquema de tratamiento.

OBJETIVOS.

Primario.

1. Describir los patrones de resistencia genotípica en pacientes mexicanos seropositivos al VIH que se encuentran en vigilancia médica en las Clínicas de VIH del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán de la Ciudad de México y del Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde, que desarrollaron falla virológica al primer esquema de terapia antirretroviral.

Secundarios.

1. Determinar cuáles son las mutaciones específicas en la transcriptasa reversa asociadas a resistencia en pacientes mexicanos que desarrollan falla virológica al primer esquema de terapia antirretroviral.
2. Describir y comparar los diversos métodos utilizados para establecer la resistencia genotípica (y las correlaciones fenotípicas) a tenofovir, un inhibidor de transcriptasa reversa análogo de nucleótido.

METODOLOGÍA.

Población de estudio.

Se realizó un estudio transversal, en el cual se incluyeron pacientes mayores de 18 años de ambos sexos viviendo con el VIH, en falla virológica al primer esquema de terapia antirretroviral y que asistieron a control médico a las Clínicas de VIH del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán y el Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde, en el periodo de junio de 2003 a enero de 2010, y que además contaran con un reporte escrito del genotipo de resistencia.

Se elaboró un formato de recolección de datos que incluía el esquema de primera línea que se encontraba recibiendo el paciente al momento de desarrollar falla virológica, entendida ésta como la recurrencia de viremia (> 50 copias/ml) después de haber conseguido una adecuada supresión virológica.

Procedimientos de laboratorio.

Se registraron las mutaciones específicas identificadas para ITRANs (M184V, TAMs, K65R y L74V) e ITRNN.

Dichas mutaciones se identificaron a partir de pruebas de resistencia genotípica utilizando equipos automatizados (ViroSeq, Abbott Molecular Diagnostics, EE.UU.). Para la interpretación también se utilizó el algoritmo diseñado por la Universidad de Stanford (www.hivdb.stanford.edu).

Para la interpretación de la resistencia a etravirina utilizamos el puntaje de Tibotec⁶¹, que se basa en los datos de pacientes procedentes de los estudios DUET para analizar la respuesta virológica obtenida según la presencia de mutaciones a ITRNN (17 mutaciones con un peso específico para potenciar el desarrollo de resistencia) (Tabla 4).

Tabla 4. PUNTAJE DE TIBOTEC PARA RESISTENCIA A ETRAVIRINA (Vingerhoets, et al 2008).

MUTACIÓN	PUNTAJE
181 I/V	3
101P, 100I, 181C, 230L	2.5
138A, 106I, 190S, 179F	1.5
90I, 179D, 101E, 101H, 98G, 179T, 190A	1
INTERPRETACIÓN	TOTAL
SUSCEPTIBLE	0-2
INTERMEDIA	2.5-3.5
RESISTENTE	≥ 4

De la misma manera, para simplificar la representación de la resistencia a tenofovir se utilizó el sistema propuesto por De Luca⁶¹. Las interpretaciones propuestas en este caso por el algoritmo de Stanford son trasladadas a valores numéricos en los que se asigna un valor de 0 a 1 de acuerdo al grado de susceptibilidad o resistencia que tenga un fármaco, siendo 0 = alta resistencia; 0.5 = resistencia intermedia y baja resistencia; y 1 = susceptible o potencial baja resistencia.

Análisis estadístico.

Los resultados se recopilaron en una base de datos electrónica y se analizaron con STATA® versión 8.0 (College Station, Texas, EE.UU.)

Se utilizaron frecuencias absolutas y relativas para la estadística descriptiva; para las comparaciones entre grupos se utilizaron prueba de Chi cuadrada o exacta de Fisher, según fuera adecuado.

Se consideró una asociación estadísticamente significativa cuando un valor de P fue ≤ 0.05 .

RESULTADOS.

GENERALES.

Desde junio de 2003 a enero de 2010 se obtuvieron datos provenientes de 200 muestras de igual número de pacientes VIH (+) en su primer esquema de tratamiento antirretroviral y en falla virológica, que fueron enviadas tanto a la clínica de VIH del Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición Salvador Zubirán como a la unidad de atención del paciente VIH (+) del Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”, bajo la sospecha de tener resistencia adquirida y con el objeto de recabar un genotipo adecuado para valorar dicho problema. Finalmente obtuvimos 118 genotipos (82 muestras fueron insuficientes, no amplificaron o provenían de pacientes con cargas virales ≤ 500 copias) de igual número de muestras de pacientes diferentes, de los cuales tuvimos los siguientes resultados: En el historial de los esquemas de antirretrovirales recibidos por estos 118 pacientes con genotipo de resistencia, se encontraron 37 combinaciones farmacológicas que incluían esquemas basados en 2, 3 (mayoría) y 4 fármacos, y utilizando principalmente las siguientes clases: ITRANs, ITRNNs e IPs. Los esquemas más frecuentemente usados fueron los basados en combinaciones de dos ITRANs y un ITRNN, específicamente zidovudina con lamivudina más efavirenz (22.8%) y tenofovir con emtricitabina mas efavirenz (22.03%). AZT y TDF fueron los ITRANs más utilizados (Tablas 5 y 6).

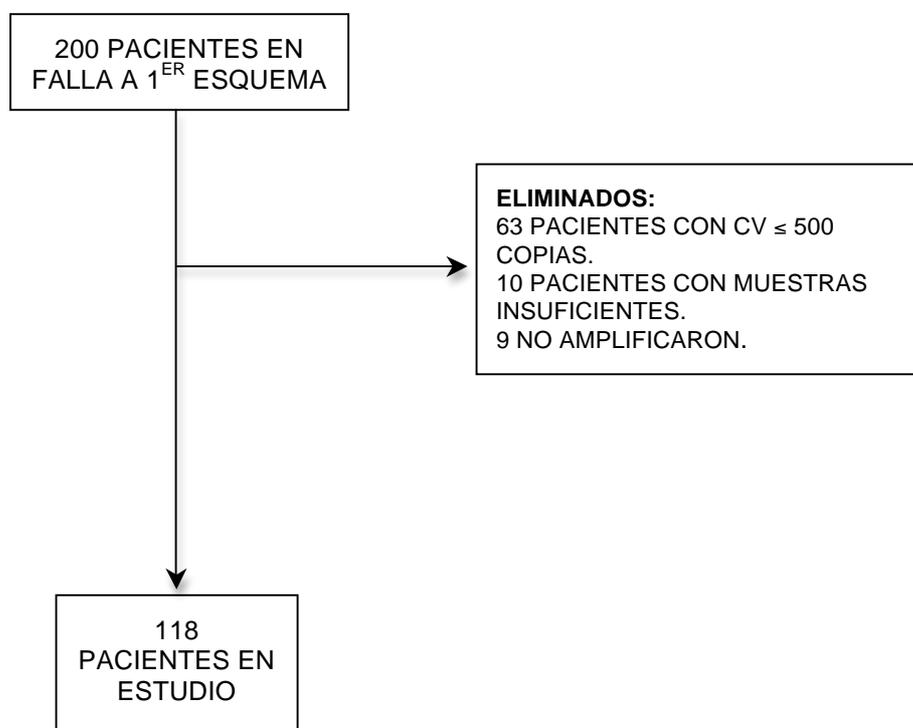


FIGURA 3: De los 200 pacientes identificados con falla a primer esquema de tratamiento antirretroviral, al final se incluyeron sólo 118.

TABLA 5: Combinaciones farmacológicas de antirretrovirales en 118 pacientes con genotipo de resistencia.

	ESQUEMA*	n (%)			
1	TDF+FTC+EFV	27 (22.88)	19	AZT+3TC+SQV+RTV	1 (0.85)
2	AZT+3TC+EFV	26 (22.03)	20	AZT+3TC+ABC+NFV	1 (0.85)
3	AZT+3TC+NFV	14 (11.86)	21	AZT+TDF+SQV+ATZ	1 (0.85)
4	AZT+3TC+NVP	4 (3.39)	22	3TC+ABC+NVP+IDV	1 (0.85)
5	AZT+3TC+ABC	4 (3.39)	23	3TC+ABC+EFV+LPV+RTV	1 (0.85)
6	3TC+D4T+EFV	3 (2.54)	24	3TC+ABC+LPV+RTV	1 (0.85)
7	AZT+3TC+IDV	3 (2.54)	25	AZT+DDC+IDV	1 (0.85)
8	AZT+3TC+LPV+RTV	3 (2.54)	26	3TC+D4T+LPV	1 (0.85)
9	AZT+3TC+IDV+RTV	2 (1.69)	27	AZT+SQV+LPV	1 (0.85)
10	AZT+3TC+SQV	2 (1.69)	28	TDF+FTC+NVP+ATZ	1 (0.85)
11	AZT+DDI+NVP	2 (1.69)	29	AZT+DDC	1 (0.85)
12	TDF+FTC+NVP	2 (1.69)	30	TDF+FTC+3TC+LPV	1 (0.85)
13	AZT+3TC+SQV+RTV	2 (1.69)	31	AZT+ABC+SQV+RTV	1 (0.85)
14	AZT+DDC+IDV+RTV	1 (0.85)	32	AZT+3TC+TDF+EFV	1 (0.85)
15	AZT+DDC+SQV	1 (0.85)	33	TDF+FTC+SQV+RTV	1 (0.85)
16	AZT+3TC+RTV	1 (0.85)	34	TDF+FTC+ATZ+RTV	1 (0.85)
17	AZT+DDI+IDV+RTV	1 (0.85)	35	3TC+D4T+NVP	1 (0.85)
18	AZT+DDC+EFV	1 (0.85)	36	AZT+DDI+IDV	1 (0.85)
			37	3TC+D4T+SQV+RTV	1 (0.85)

* AZT, Zidovudina; 3TC, Lamivudina; EFV, Efavirenz; NFV, Nelfinavir; NVP, Nevirapina; ABC, Abacavir; IDV, Indinavir; LPV, Lopinavir; RTV, Ritonavir; SQV, Saquinavir; DDI, Didanosina; TDF, Tenofovir; DDC, Zalcitabina; ATZ, Atazanavir; FTC, Emtricitabina; D4T, Estavudina.

TABLA 6: Combinaciones farmacológicas en 118 pacientes con genotipo de resistencia de acuerdo al inhibidor de la transcriptasa reversa análogo de nucleósido principalmente utilizado.

AZT	n (%)	TDF	n (%)	OTROS	n (%)
AZT+3TC+EFV	26 (33.77)	TDF+FTC+EFV	27 (77.14)	3TC+D4T+EFV	3 (33.33)
AZT+3TC+NFV	14 (18.18)	TDF+FTC+NVP	2 (5.71)	3TC+D4T+NVP	1 (11.11)
AZT+3TC+NVP	4 (5.19)	TDF+FTC+NVP+ATZ	1 (2.86)	3TC+D4T+LPV	1 (11.11)
AZT+3TC+ABC	4 (5.19)	TDF+FTC+3TC+LPV	1 (2.86)	3TC+D4T+SQV+RTV	1 (11.11)
AZT+3TC+IDV	3 (3.90)	TDF+AZT+3TC+EFV	1 (2.86)	3TC+ABC+NVP+IDV	1 (11.11)
AZT+3TC+LPV+RTV	3 (3.90)	TDF+FTC+SQV+RTV	1 (2.86)	3TC+ABC+LPV+RTV	1 (11.11)
AZT+3TC+IDV+RTV	2 (2.60)	TDF+FTC+ATZ+RTV	1 (2.86)	3TC+ABC+EFV+LPV+RTV	1 (11.11)
AZT+3TC+SQV+RTV	2 (2.60)	TDF+AZT+SQV+ATZ	1 (2.86)		
AZT+3TC+SQV	2 (2.60)	TOTAL	35 (29.66)	TOTAL	9 (7.63)
AZT+DDI+NVP	2 (2.60)				
AZT+3TC+ABC+NFV	1 (1.30)				
AZT+3TC+TDF+EFV	1 (1.30)				
AZT+DDC	1 (1.30)				
AZT+DDC+EFV	1 (1.30)				
AZT+DDC+IDV	1 (1.30)				
AZT+DDC+IDV+RTV	1 (1.30)				
AZT+DDC+SQV	1 (1.30)				
AZT+DDI+IDV+RTV	1 (1.30)				
AZT+DDC+SQV+RTV	1 (1.30)				
AZT+DDI+NVP	1 (1.30)				
AZT+TDF+SQV+ATZ	1 (1.30)				
AZT+SQV+LPV	1 (1.30)				
AZT+ABC+SQV+RTV	1 (1.30)				
AZT+DDI+IDV	1 (1.30)				
AZT+3TC+RTV	1 (1.30)				
TOTAL	77 (65.25)				

NOTA: Los esquemas con AZT se combinaron con inhibidores de la transcriptasa reversa no nucleósidos (ITRNN) en 35 (45.45%) casos y con inhibidores de la proteasa (IP) en 37 (48.05%) casos, y aquellos con TDF en 31 (88.57%) casos con ITRNN y 5 (11.43%) de casos con IP. AZT, Zidovudina; 3TC, Lamivudina; EFV, Efavirenz; NFV, Nelfinavir; NVP, Nevirapina; ABC, Abacavir; IDV, Indinavir; LPV, Lopinavir; RTV, Ritonavir; SQV, Saquinavir; DDI, Didanosina; TDF, Tenofovir; DDC, Zalcitabina; ATZ, Atazanavir; FTC, Emtricitabina; D4T, Estavudina.

MUTACIONES.

En la figura 4 se representan las principales mutaciones encontradas en las 118 muestras con genotipo de resistencia. La mediana de mutaciones (cualquier clase) fue de 2 con un rango de 0 a 11 (rango intercuartil 1 a 4). En 24 (20.34%) muestras no se encontraron mutaciones y 86 (73%) tuvieron alguna mutación a ITRANs.

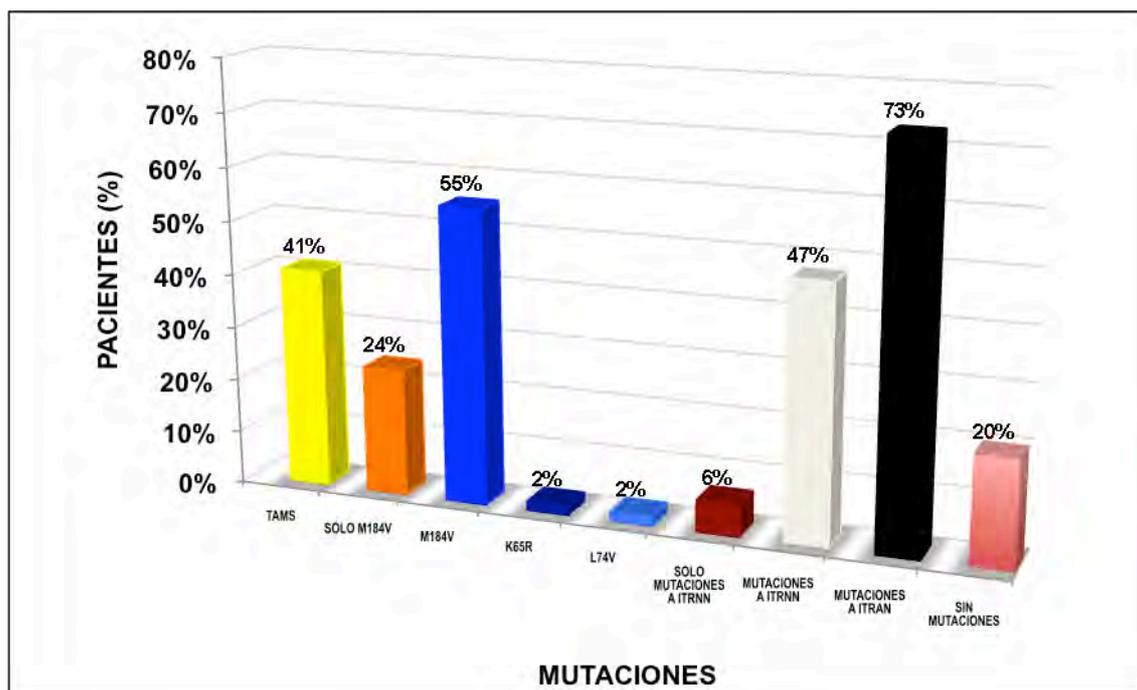


FIGURA 4: Frecuencias de los distintos tipos de mutaciones encontradas en 118 pacientes. ITRAN, inhibidor de la transcriptasa reversa análogo de nucleósido; ITRNN, inhibidor de la transcriptasa reversa no nucleósido; TAMs, mutaciones asociadas a análogos timidínicos.

RESISTENCIA A INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA REVERSA NO NUCLEÓSIDOS INCLUYENDO ETRAVIRINA.

De los 118 pacientes, 69 (58%) recibieron ITRNNs; de estos, el 80% tuvieron mutaciones a estos fármacos. La mediana de mutaciones fue de 2 con un rango de 0 a 4 (rango intercuartil 0 a 2). La mutación más frecuente fue K103N (61%), seguida de G190A (12%), L100I (11%) y Y181C (11%). Entre los pacientes con exposición a efavirenz (n=59), las mutaciones más comunes fueron K103N (46%), G190S (8%), K101E (7%), G190A (7%), P225H (7%) y L100I (7%). K103N fue mucho más frecuente en los sujetos que utilizaron efavirenz (n=27; 46%) que los que tuvieron nevirapina (n=2; 20%), aunque esta diferencia no fue significativa ($P=0.12$). Entre los que recibieron nevirapina (n=10) las mutaciones más comunes fueron Y181C (30%), K103N (20%) y G190A (20%). Y181C fue más frecuente en los que usaron nevirapina (30%) que en los que tuvieron efavirenz (3%) siendo esta observación significativa

($P=0.002$). Por Tibotec⁶² 2 pacientes tuvieron resistencia completa a etravirina, (1 recibió nevirapina y el otro efavirenz), a 13 pacientes se les detectó resistencia intermedia (4 recibieron nevirapina y 9 efavirenz), sin diferencia significativa ($P=0.33$), y el resto fueron susceptibles, de acuerdo a este sistema de puntuación.

MUTACIONES A ANÁLOGOS TIMIDÍNICOS (TAMs).

De los pacientes que desarrollaron TAMs ($n=48$), 12% tuvieron una, 25% dos y 63% tres o más. En este último grupo la diferencia entre los pacientes que recibieron análogos de timidina y aquellos que no, fue significativa ($P=0.042$). En los tres grupos, las TAMs fueron mayoritariamente seleccionadas por el uso de timidínicos específicamente AZT (98%) (tabla 7 y figura 5). Las mutaciones más frecuentes fueron D67N (54%), T215Y (39%), K70R (35%) y M41L (33%).

TABLA 7: Número de TAMs de acuerdo a si fueron seleccionados por la presencia o no de análogos de timidina. 70 pacientes sin TAMs, 6 pacientes con 1 TAM, 12 pacientes con 2 TAMs y 30 pacientes con 3 o más TAMs.

	CON TIMIDÍNICOS n (%)	SIN TIMIDÍNICOS n (%)	P (OR [95% CI])	TOTAL
SIN TAMs	43 (61.43%)	27 (38.57%)	-	70
1 TAM	4 (66.67%)	2 (33.33%)	1 (OR 0.9 [0.1-4.6])	6
2 TAMs	8 (66.67%)	4 (33.33%)	1 (OR 0.9 [0.28-3.15])	12
3 o MAS TAMs	25 (83.33%)	5 (16.67%)	0.042 (OR 3 [1-8.27])	30

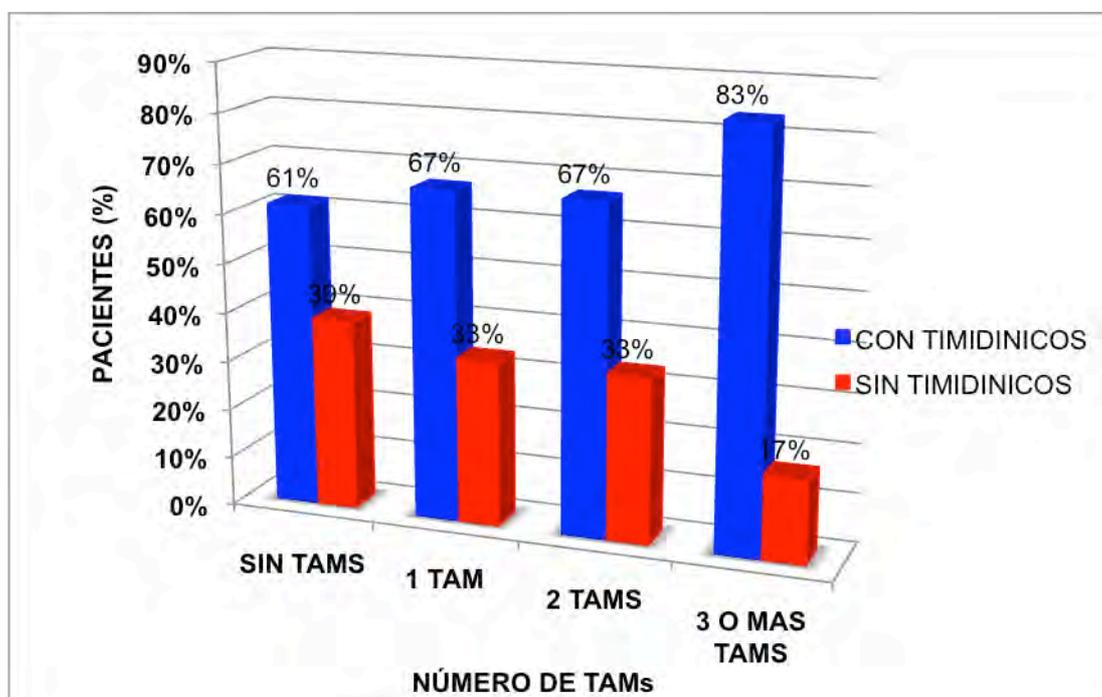


FIGURA 5: Número de TAMs de acuerdo a si fueron seleccionados por la presencia o no de análogos de timidina en 118 pacientes.

M184V.

Esta mutación, característicamente asociada al uso de 3TC y FTC, se identificó en 64 sujetos de 118 (54.24%), todos en relación al uso de estos medicamentos, siendo los casos mayormente seleccionados por el uso de 3TC en relación a FTC (60.9% vs. 39.1%), diferencia estadísticamente significativa ($P=0.03$) (Tabla 8).

TABLA 8: Frecuencia de M184V con respecto al análogo de citidina que la selecciona.

MUTACIÓN	LAMIVUDINA n (%)	EMTRICITABINA n (%)	P	TOTAL
SIN M184V	34 (62.9)	8 (15.4)		42
CON M184V	39 (60.9)	25 (39.1)	0.03	64

NOTA: 64 pacientes desarrollaron M184V todos recibieron ya sea 3TC o FTC. De los que no tuvieron M184V, 12 no recibieron ni 3TC o FTC.

En 27/64 sujetos (42.19%) M184V se identificó como única mutación y en el resto se encontró asociada a otras mutaciones. En ambos casos fueron seleccionadas con mayor frecuencia en sujetos que utilizaron lamivudina en comparación con los que usaron emtricitabina (52 vs. 48% y 67 vs. 32%, respectivamente), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($P=0.20$) (Tabla 9 y figura 6).

TABLA 9: Frecuencias de las formas de presentación de M184V con respecto al análogo de citidina que las seleccionó.

MUTACIÓN	LAMIVUDINA n (%)	EMTRICITABINA n (%)
SOLO M184V	14 (51.85)	13 (48.15)
M184V ASOC. A OTRAS MUTACIONES	25 (67.57)	12 (32.43)

NOTA: M184V se presentó asociada a otras mutaciones en 37(57.8%) pacientes y de forma solitaria en 27 (42.2%) de un total de 64 pacientes con M184V. $P=0.20$.

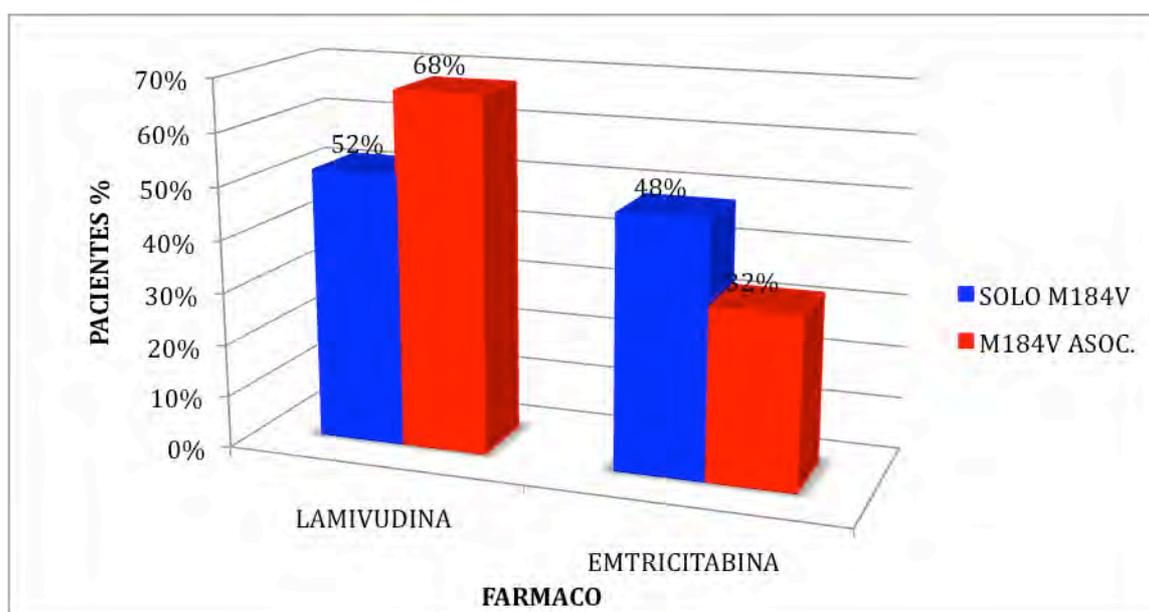


FIGURA 6: Frecuencias de las formas de presentación de M184V con respecto al inhibidor nucleósido de la transcriptasa reversa que las selecciona.

NOTA: Emtricitabina fue indicada siempre asociada a tenofovir y lamivudina únicamente con zidovudina, estavudina y/o abacavir, nunca con tenofovir.

K65R, TENOFOVIR Y GRADOS DE RESISTENCIA.

Las mutaciones K65R y L74V se encontraron cada una en 2 (1.7%) pacientes. K65R en ambos casos se presentó asociada al uso de tenofovir.

Finalmente, se evaluó la resistencia a tenofovir de acuerdo a parámetros establecidos por el algoritmo de Stanford y los datos de resistencia fenotípica asociados del mismo algoritmo.

En la tabla 10 se muestran las frecuencias de cada una de las categorías de susceptibilidad o resistencia definidas en el algoritmo de Stanford; 48 genotipos fueron candidatos a ser valorados por este procedimiento (por la presencia de las mutaciones necesarias) para catalogarlos como susceptibles o en grados diferentes de resistencia. Se encontró que el 29% fueron susceptibles y el tipo de resistencia más comúnmente encontrado fue el de resistencia intermedia que representó el 33.33%, ningún paciente se catalogó en el grupo de resistencia alta. Dado que el algoritmo de Stanford considera a la mutación M184V como una mutación que otorga hipersusceptibilidad a tenofovir y por tanto reduce el puntaje de severidad de resistencia realizamos una comparación de las puntuaciones obtenidas sin la incidencia de M184V y no hubo diferencias significativas ($P=0.53$).

TABLA 10: Distribución de frecuencias de acuerdo a las categorías de susceptibilidad o resistencia encontradas en 48 pacientes cuyo genotipo fue sometido a valoración por el algoritmo de la Universidad de Stanford. Se especifica la frecuencia de acuerdo al puntaje normal y también sin que éste sea influenciado por la hipersusceptibilidad a M184V. ($P=0.53$).

CATEGORÍA STANFORD*	CON M184V (PUNTAJE NORMAL STANFORD) n (%)	SIN M184V n (%)
SUSCEPTIBLE	14 (29.17)	9 (18.75)
POTENCIAL BAJA RESISTENCIA	5 (10.42)	4 (8.33)
RESISTENCIA BAJA	13 (27.08)	13 (27.08)
RESISTENCIA INTERMEDIA	16 (33.33)	22 (45.83)
RESISTENCIA ALTA	0 (00.00)	0 (00.00)

* Las categorías se definen así de acuerdo a su puntaje: susceptible: hasta 10 puntos, potencial baja resistencia: de 11 a 15 puntos, resistencia baja: de 16 a 30 puntos, resistencia intermedia: de 31 a 60 puntos y resistencia alta: > de 60 puntos.

De acuerdo al score genotípico de susceptibilidad propuesto por De Luca⁶¹, que simplifica la categorización de resistencia y en el que se engloban las 5 clases expresadas por el algoritmo de Stanford, fue 0.5 (que contiene a pacientes con baja e intermedia resistencia a tenofovir) la más frecuente (60.4%) de 48 genotipos (tabla 11).

TABLA 11: Distribución de frecuencias de acuerdo al score genotípico de susceptibilidad (GSS) otorgado a 48 pacientes cuyo genotipo fue sometido a valoración por el algoritmo de la Universidad de Stanford. Se especifica la frecuencia de acuerdo al puntaje normal y también sin que este sea influenciado por la hipersusceptibilidad a M184V. ($p=0.27$).

PUNTAJE*	CON M184V (PUNTAJE NORMAL STANFORD) n (%)	SIN M184V n (%)
1	19 (39.58)	13 (27.08)
0.5	29 (60.42)	35 (72.92)
0	0 (0.00)	0 (0.00)

* El puntaje 1 engloba a las categorías de susceptible y potencial baja resistencia; 0.5 a baja resistencia y resistencia intermedia, y 0 a alta resistencia.

También se evaluó la existencia de resistencia a tenofovir de acuerdo a combinaciones de TAMs u otras mutaciones a ITRANS, o la presencia de K65R utilizando los parámetros de correlación geno-fenotípica del algoritmo de Stanford para los patrones de mutaciones más frecuentes asociados con resistencia a tenofovir. De acuerdo a esta correlación, se identificaron a 12 pacientes que se distribuyeron en 4 de las combinaciones más frecuentes y con selección de K65R. De estos la vía más comúnmente asociada fue la combinación de M41L+L210W+T215Y en el 50% de los casos (Tabla 12).

TABLA 12: Distribución de la resistencia a tenofovir (N=12) encontrada de acuerdo a los patrones más comunes de mutaciones mayores asociadas a resistencia a tenofovir. Grado de resistencia definido de acuerdo a la Stanford Database (3 o más *fold change* se considera resistente).

MUTACIONES	n (%)	GRADO DE RESISTENCIA (FOLD CHANGE)
M41L + D67N + L210W + T215Y	2 (16.67)	5.5
M41L + L210W + T215Y	6 (50.00)	3.6
M41L + D67N + 69D + L210W + L215Y	1 (8.33)	5.7
M41L + D67N + K70R + T215F	1 (8.33)	4.9
K65R	2 (16.67)	2
TOTAL	12	

De las 3 formas de resistencia a tenofovir, que incluyen: (1) combinaciones de TAMs (2 vías) y (2) K65R, definidas por parámetros fenotípicos, se encontró a la vía de M41L+L210W+T215Y con o sin D67N como la más frecuentemente asociada a resistencia, con 9 casos, de éstos el 78% fue seleccionada por el uso de zidovudina, aunque 2 (22%) casos se presentaron relacionados al uso de tenofovir con emtricitabina y efavirenz.

La presencia de K65R se asoció al uso de tenofovir en los 2 casos en que se presentó (tabla 13).

TABLA 13: Distribución de la resistencia a tenofovir (N=12) encontrada de acuerdo a la combinación de TAMs o K65R y los diversos esquemas de antiretrovirales que las seleccionaron.

ESQUEMA *	D67N + K70R + T215F + M41L n (%)	M41L + L210W + T215Y ± D67N n (%)	K65R n (%)
AZT+ 3TC + NVP		1 (8.33)	
AZT + 3TC + RTV		1 (8.33)	
AZT+ 3TC + EFV	1 (8.33)	3 (25)	
AZT + 3TC + ABC + NFV		1 (8.33)	
AZT+3TC+LPV+RTV		1 (8.33)	
TDF + FTC + EFV		2 (16.67)	2 (16.67)
TOTAL	1 (8.33)	9 (75)	2 (16.67)

* AZT, Zidovudina; 3TC, Lamivudina; NVP, Nevirapina; RTV, Ritonavir; EFV, Efavirenz; ABC, Abacavir; NFV, Nelfinavir; LPV, Lopinavir; TDF, Tenofovir; FTC, Emtricitabina.

DISCUSIÓN.

El tratamiento antirretroviral combinado ofrece beneficios claros en cuanto a la calidad y esperanza de vida de las personas que viven con el VIH tanto así que ha cambiado la percepción que se tenía de esta enfermedad hacia una de características crónicas y controlables. Sin embargo el uso extendido de estos medicamentos también ha conllevado eventos no deseados como es la selección de virus que son capaces de evadir la presión farmacológica gracias a su capacidad de variación genética, originando en la práctica un aumento en la resistencia a estos fármacos.

En los últimos años hemos incrementado nuestro conocimiento de las causas de la generación de resistencias y tenemos disponibles ensayos para valorarla, tanto genotípicos como fenotípicos. Sin embargo la imposibilidad de eliminar la falta de apego de los pacientes y el monitoreo deficiente de la respuesta ha incrementado significativamente la resistencia a los antirretrovirales, mientras que el alto costo de los ensayos ha limitado su difusión sobre todo en países y regiones con recursos limitados. En especial los pacientes que fallan a su primer esquema, raramente son sometidos a un ensayo de resistencia, ya que se considera que las opciones de tratamiento son múltiples y por ello son pocos los datos que tenemos en países en desarrollo sobre resistencia en el primer esquema de tratamiento antirretroviral.

Este trabajo responde a la interrogante de cuáles son las mutaciones y patrones de resistencia genotípica a nucleósidos y no nucleósidos asociados con falla al primer tratamiento antirretroviral en una población de pacientes que

viven con el VIH, mostrando un panorama de dicho problema en dos centros de atención integral de personas que viven con el VIH en México, centros caracterizados por realizar un control extenso, periódico e interdisciplinario de estos pacientes, pero que a pesar de esto no escapan del problema que representa la resistencia farmacológica.

Se muestra también indirectamente la evolución a través del tiempo en la selección del primer esquema antirretroviral, dando como resultado que en la actualidad se utilicen esquemas de primera línea recomendados por consensos nacionales e internacionales, lo que probablemente muestra en estos centros una realidad en cuanto al tratamiento antirretroviral y particularmente la selección del primer esquema, muy semejante a la de los países del primer mundo, situación que difiere de la realidad del resto del país. A pesar que desde el año 1992 existen guías nacionales para el manejo del tratamiento antirretroviral y que además se actualizan periódicamente, se continúan prescribiendo (ahora menos que antes) combinaciones obsoletas que seguro se asocian a un aumento en los niveles de resistencia adquirida. Tal es así que Bertozzi señaló que hasta el 2001, sólo 3 de cada 10 combinaciones prescritas estaban aprobadas por las guías nacionales⁵⁵. Este hecho queda claramente plasmado en el elevado número de combinaciones encontradas en este estudio incluyendo algunas que se consideran claramente subóptimas. En la actualidad los criterios de selección tienden a ser más unificados incluso en países en desarrollo y por ello la combinación tenofovir/emtricitabina asociada a efavirenz es ahora una de las más utilizadas y recomendadas⁴. Sin embargo en países africanos esquemas como estavudina, lamivudina y efavirenz o nevirapina siguen siendo utilizados como esquemas de primera línea⁴⁷ condicionando la aparición de patrones de mutaciones genotípicas diferentes. A pesar de estas diferencias el presente trabajo ofrece datos que pueden ser usados incluso en dichos países, por lo que la información generada es de gran relevancia local y global.

En este estudio los esquemas de tratamiento antirretroviral utilizados mostraron una amplia posibilidad de combinaciones encabezadas, como ya se mencionó por la asociación de tenofovir, emtricitabina y efavirenz, seguida de la combinación de zidovudina, lamivudina y efavirenz; aunque de esa amplia gama de combinaciones posibles zidovudina fue utilizada con mayor frecuencia como inhibidor de la transcriptasa reversa análogo de nucleósido, seguida de lamivudina y tenofovir. Seguramente esto es reflejo del tipo de esquemas que se venían utilizando desde el año 2003 en donde predominaba el uso de zidovudina y lamivudina, pero que en la actualidad ha sido desplazado por la combinación de tenofovir y emtricitabina en el primer esquema de terapia antirretroviral.

De acuerdo a lo esperado las mutaciones a análogos de nucleósidos fueron las más comunes, siendo M184V la más frecuente, apareciendo como única mutación en casi la mitad de los casos. Esta mutación es importante por dos razones, porque genera una menor capacidad de replicación de los virus resistentes y porque puede ofrecer hipersusceptibilidad a los análogos timidínicos y también a tenofovir. Fue seleccionada más frecuentemente en los pacientes que utilizaron lamivudina con respecto a los que recibieron

emtricitabina de forma significativa ($P=0.03$). Sin embargo al comparar si hubo diferencia en cuanto a la frecuencia de selección de M184V como presentación única o asociada a otras mutaciones, ya sea por lamivudina o emtricitabina no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P=0.42$), aunque sí es evidente que existe una diferencia al comparar la frecuencia de M184V y su selección de acuerdo a si se utilizó emtricitabina o lamivudina (39% vs. 60%) cuando se presentaron mutaciones asociadas a M184V. La presencia de M184V con mayor frecuencia en caso de falla a lamivudina, probablemente sea debida a la baja barrera genética que ofrece su combinación con zidovudina comparada con la que le proporciona tenofovir al combinarse con emtricitabina. Las vidas medias más largas y similares de emtricitabina y tenofovir (11 y 18.5 horas vs. 0.5-3 y 5-7 horas de lamivudina y zidovudina respectivamente), y en consecuencia su dosificación simétrica⁴⁰, amparada en una favorable interacción entre estos fármacos que conlleva a un incremento significativo en los metabolitos intracelulares de ambas drogas comparados con los niveles vistos como compuestos individuales^{56,57}, promueven un perfil más favorable para evitar el desarrollo de resistencia. Esto se observó también en el estudio 934 donde significativamente menos sujetos que recibieron tenofovir, emtricitabina y efavirenz desarrollaron la mutación M184V en comparación a los que recibieron zidovudina, lamivudina y efavirenz (2 vs. 10 respectivamente, $P=0.021$)⁴⁰.

Las mutaciones asociadas a análogos timídnicos (TAMs) son consecuencia del uso de zidovudina y estavudina, y éstas son sin lugar a dudas las que más resistencia cruzada pueden conferir, pudiendo incluso dar resistencia a todos los análogos nucleósido y nucleótidos existentes. Las TAMs se presentaron mayoritariamente en presencia de zidovudina. Fueron 3 o más TAMs las que se identificaron con mayor frecuencia (62%) lo que podría explicarse por larga duración de la falla virológica y la consiguiente acumulación de las mismas, esto nos hace considerar que todavía existen deficiencias en la identificación de la falla virológica y por consiguiente esto origina la continuidad de dicha falla y por ende la acumulación de mas y mas mutaciones. Estos datos son similares a los encontrados en Malawi⁴⁷, donde el 56% de pacientes tuvieron 3 o más TAMs. De las TAMs la mutación detectada más frecuentemente en la mayoría de pacientes que desarrolló TAMs fue D67N (54%) lo que indicaría que existe una tendencia a que la mayoría desarrolló dentro de las TAMs la vía denominada 2, que es más favorable en cuanto a desarrollo de resistencia cruzada^{24,25}. Cabe destacar que la mitad de pacientes que recibió timídnicos no desarrolló ninguna TAMs, lo que claramente está relacionado a la detección temprana de la falla virológica. Aunque hubo un grupo de pacientes que sin recibir timidinicos desarrollaron TAMs, lo que nos hizo preguntarnos que tanto podría deberse esto a la presencia de resistencia transmitida.

La mayoría de pacientes fallaron como resultado de M184V y mutaciones a ITRNN. Muy pocos sujetos tuvieron únicamente mutaciones a ITRNN lo que sugiere que la resistencia a ITRNN no fue el evento inicial de falla en los esquemas que contenían EFV o NVP. Después de M184V, las mutaciones a ITRNN fueron las más frecuentes, siendo la más comúnmente encontrada K103N. Esta mutación fue la más frecuente entre los expuestos a efavirenz, a diferencia de los que recibieron nevirapina en donde las más repetidas fueron

Y181C y G190A ambas asociadas a reducción en la susceptibilidad a etravirina^{53,54}. Estas diferencias en cuanto a la mutación más frecuentemente seleccionada por ambos fármacos fue significativa, apoyando el hecho de que efavirenz promueve la selección de K103N y nevirapina la de Y181C, hecho ya descrito ampliamente en la literatura. Usando el puntaje obtenido por Tibotec de los diversos estudios de etravirina⁶² 2 pacientes tuvieron resistencia completa a etravirina, 1 seleccionado por el uso de nevirapina y el otro por efavirenz; 13 sujetos tuvieron resistencia intermedia (31% con NVP y 69% con EFV). No es infrecuente encontrar cepas con resistencia intermedia a etravirina (aproximadamente un 30% de pacientes) tras fracasos a ITRNN de primera generación con selección de mutaciones, mientras que sí es infrecuente la resistencia completa al fármaco (cerca del 5%)⁶³. Hay controversia acerca de si los fracasos a uno u otro fármaco seleccionan mayor resistencia a etravirina. En cualquier caso, lo más importante para evitar la selección de resistencia a etravirina es la retirada precoz de los ITRNN de primera generación en el contexto de falla virológica, así como evitar las interrupciones prolongadas de tratamientos con estos fármacos.

La mutación K65R es de gran relevancia ya que su presencia puede ocasionar resistencia cruzada a todos los análogos con excepción de los timidínicos. Sin embargo, al igual que M184V está asociada con una significativa disminución en la capacidad de replicación viral, la cual puede ser aditiva en presencia de M184V y también induce hipersusceptibilidad a zidovudina (sólo en uno de los casos hubo coincidencia con esta mutación). Su papel y magnitud en la resistencia a tenofovir no ha sido determinado por completo. K65R se presentó en 2 (1.2%) pacientes, asociada en todos los casos al uso de tenofovir, en uno de ellos ligado a TAMs (D67N). Esta baja frecuencia va acorde a los reportes que señalan una prevalencia de esta mutación que va del 0 al 4%^{35,50-51}, a propósito que en muchos países existe una disminución en el uso de análogos timidínicos y la introducción de regímenes co-formulados de tenofovir y emtricitabina, que en la actualidad son los agentes más utilizados como primer esquema de tratamiento antirretroviral en los 2 centros donde se llevó a cabo este estudio.

Se estableció la presencia de susceptibilidad y magnitud de la resistencia a tenofovir de acuerdo al algoritmo de Stanford, encontrando que la mayoría de los genotipos evidenciaban resistencia intermedia sin que hubiera diferencias al compararlos con los genotipos sometidos al algoritmo pero sin el efecto de hipersusceptibilidad causado por M184V ($P=0.53$). De la misma manera al distribuirlos de acuerdo a un puntaje de susceptibilidad que va de 0 a 1 descrito por De Luca y Grant^{48,61}, el puntaje más frecuente fue 0.5 sin diferencias con respecto a la tabla que no tomó en cuenta la incidencia de M184V ($P=0.27$). En ninguno de los dos casos se detectaron sujetos con resistencia alta a tenofovir. El impacto clínico de estos hallazgos ha sido pobremente descrito o aclarado. Grant⁴⁸ mostró que a pesar de encontrar resistencia a tenofovir, la terapia de rescate con este mismo fármaco tuvo efectividad virológica relevante.

Para tratar de esclarecer más ampliamente la resistencia a tenofovir, dos pacientes con expresión de K65R y 10 secuencias de igual número de

pacientes se distribuyeron en 4 de los patrones más frecuentes de mutaciones asociados a resistencia a tenofovir de acuerdo a la correlación geno-fenotípica del algoritmo de Stanford y catalogados como resistentes por los puntos de corte establecidos por *Phenosense*TM (diferencia [*fold change*] de 3 o más veces en relación al IC₅₀ del paciente). El patrón de mutaciones más frecuente fue el de 41L + 210W + 215Y (50%) el cual de acuerdo a la base de datos de Stanford es el segundo patrón de resistencia a ITRANs más prevalente relacionado a resistencia a tenofovir después de 41L + 67N + 210W + 215Y⁵⁸ que en este estudio fue el segundo más frecuente (16%). Ambas combinaciones de mutaciones provocan una falta de respuesta completa a tenofovir, mientras que K65R no ofrece correlación similar con un patrón de resistencia fenotípico. Las divergencias encontradas en la resistencia a tenofovir son de gran relevancia para la evaluación del uso de este medicamento, en especial considerando que por su alta barrera genética es probablemente el único antirretroviral que puede ser reciclado. Se sabe por ejemplo que en el grupo de ITRNN prácticamente no se han descrito discrepancias probablemente porque las mutaciones seleccionadas por estos suponen una resistencia inmediata. Por el contrario, los resultados más dispares se han descrito en ITRANs, especialmente ddl, d4T, ddC y ABC cuando el genotipo se interpreta en función de datos fenotípicos, probablemente por el empleo de puntos de corte biológicos no validados clínicamente o por defectos en los sistemas celulares empleados en los ensayos fenotípicos recombinantes. Así pues con frecuencia la resistencia no resulta sólo de una mutación concreta, sino de la interacción de un conjunto de mutaciones. Un estudio de Ravela reveló que sólo dos tercios de las interpretaciones realizadas mediante cuatro algoritmos diferentes mostraron una concordancia total. La mayor parte de las discordancias se detectó en el grupo de los ITRANs, ya que la resistencia a estos fármacos requiere de la acumulación de varias mutaciones. Sin embargo dicho estudio no analizó la capacidad de los algoritmos para predecir la respuesta clínica⁵⁹.

Finalmente es importante analizar las limitaciones de nuestro estudio, que parcialmente han sido ya documentadas. Quizá la mayor limitante de este estudio o más bien de sus resultados es el hecho de que se obtuvieron de una población atendida en dos centros de alta especialidad donde el control de estos pacientes es exhaustivo, periódico e interdisciplinario. Ello implica también una mayor vigilancia en cuanto a la probabilidad del desarrollo de resistencias, logrando detección temprana y oportuno tratamiento. Estas características no son comunes a todos los centros de atención del paciente que vive con VIH en México, lo que significa probablemente que la frecuencia, gravedad y surgimiento de la resistencia farmacológica sea más común en otras partes del país. Tampoco se hizo un análisis individualizado por esquemas específicos para de igual manera aislar mutaciones y patrones de éstas, asociados a estos regímenes, lo cual probablemente hubiese resultado en conclusiones más puntuales para esquemas específicos de tratamiento. Igualmente, faltó tener un seguimiento de la evolución de estos pacientes o, más que eso, conocer en qué momento determinado de su evolución bajo tratamiento ARV habían empezado a fallar.

En resumen, las mutaciones a ITRANS fueron las más frecuentes en los pacientes con falla al primer esquema de tratamiento ARV y dentro de éstas, M184V y las TAMs, cuya combinación en patrones específicos conlleva el desarrollo de resistencia a tenofovir, aunque en este trabajo dicho tipo de resistencia no fue tan frecuente. Las mutaciones a ITRNNs al parecer no fueron los eventos iniciales y su relación con la aparición de falla a ITRNNs de nueva generación no estuvo significativamente relacionada al uso de efavirenz o nevirapina.

CONCLUSIONES.

1. La falla al primer tratamiento antirretroviral fue detectada tempranamente, antes del desarrollo de múltiples mutaciones que se tradujeran en formas más severas de resistencia lo que conllevaría mayor dificultad en la oferta de alternativas secundarias de tratamiento.
2. Se encontró que un 20% de pacientes no tuvieron mutación alguna a pesar de tener cargas virales detectables. Esto sugiere que la falta de apego terapéutico sigue siendo un problema y que también es causa de falla virológica.
3. A pesar de la existencia de guías nacionales para el manejo de la terapia antirretroviral, se continúan usando múltiples combinaciones de medicamentos, algunas de estas subóptimas.
4. La mutación M184V fue la más frecuentemente encontrada, y en casi la mitad de los casos como única mutación sugiriendo una detección temprana. Fue más comúnmente seleccionada por lamivudina y en mayor grado cuando ésta se presentó asociada a otras mutaciones.
5. Las mutaciones a análogos de timidina se presentaron mayoritariamente asociadas al uso de zidovudina y en número de 3 o más.
6. La mayoría de pacientes que recibió inhibidores de la transcriptasa reversa no nucleósidos desarrollaron mutaciones a estos, siendo K103N la mutación más frecuentemente identificada. Un número menor de pacientes tuvo sólo mutaciones a ITRNNs, sugiriendo que la falla a este grupo de medicamentos no fue el evento inicial.
7. Hubo casos con resistencia a etravirina, lo que recuerda la importancia que tiene el evitar utilizar nevirapina en tratamientos de primera línea pues selecciona mutaciones que se han asociado mayormente a resistencia a este nuevo ITRNNs.
8. K65R se encontró en una muy baja frecuencia, similar a la prevalencia encontrada en países desarrollados, y su papel en la magnitud de la resistencia a tenofovir no está completamente definido.
9. La resistencia a tenofovir obtenida por el algoritmo de Stanford se catalogó como intermedia en la mayoría de los casos, aunque en la correlación fenotípica sí se presentaron casos con resistencia completa, la mayoría ligados al uso de análogos de timidina.

10. Finalmente, el conocimiento de patrones locales de resistencia es importante, pero sobre todo muy útil en lugares en donde las pruebas de resistencia no están ampliamente difundidas o no se tiene acceso a ellas.

RECOMENDACIONES.

Consideramos que los resultados obtenidos en este trabajo tienen importantes implicaciones en la práctica clínica en relación al tratamiento de los pacientes que viven con el VIH, y particularmente cuando se trata de tomar decisiones en el contexto de falla virológica al primer esquema de tratamiento ARV. Por ello se destacan algunas recomendaciones obtenidas de esta investigación.

Recomendamos como medida general establecer mecanismos de vigilancia exhaustiva en la búsqueda e identificación temprana de los factores relacionados con una mayor probabilidad de fracaso terapéutico y actuar sobre aquellos que sean modificables. De manera prioritaria, debe hacerse la identificación temprana de la falla virológica con el objeto de evitar la acumulación de mutaciones y, por ende, la disminución del número de opciones viables para construir esquemas de rescate.

1. Establecer mecanismos de control y vigilancia a nivel nacional sobre el cuerpo médico involucrado en el manejo clínico y farmacológico de las personas que viven con el VIH. Dichos mecanismos implican principalmente la homogenización de los criterios de inicio del tratamiento ARV (siendo imprescindible asegurar su máxima potencia antirretroviral), así como las conductas a seguir en el contexto de la existencia de falla virológica y la elección de tratamientos de rescate, todo aquello de acuerdo a guías nacionales e internacionales ya establecidas. Debe establecerse un estándar en la vigilancia para identificar de manera temprana falla al primer esquema de tratamiento.
2. Hacer hincapié de forma vehemente, en cada visita médica, en la importancia del apego terapéutico. Esto implica mantener una adecuada comunicación con los pacientes haciéndolos conocer detalladamente las implicaciones del tratamiento, incluyendo sus efectos secundarios, los cuales podrían alterar el adecuado apego a éste.
3. Idealmente se recomienda realizar estudios de resistencia genotípica o fenotípica antes de iniciar o de cambiar un tratamiento ARV. Sin embargo, en el contexto de países de escasos recursos en los cuales el alcance a tales pruebas dista mucho de ser universal, particularmente en el paciente con falla al primer esquema de tratamiento recomendamos indicar estas pruebas únicamente si existe falla a esquemas que incluyan ITRANs mas no tenofovir, aunque claro, cada caso debe de individualizarse.
4. Cuando existe falla al primer esquema de tratamiento antirretroviral, y particularmente en presencia de las mutaciones K65R, M184V o 2 TAMs como máximo, tenofovir y zidovudina podrían continuar siendo fármacos a tomar en cuenta como esquemas de rescate o de segunda línea, por su capacidad de ser reutilizables.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Sterne, JA; Hernan, MA; Ledergerber, B; et al. Long-term effectiveness of potent antiretroviral therapy in preventing AIDS and death: a prospective cohort study. *Lancet* 2005; 366: 378-384.
2. Shafer, RW; Smeaton, LM; Robbins, GK; et al. Comparison of four-drug regimens and pairs of sequential three-drug regimens as initial therapy for HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2003; 349: 2304-2315.
3. Gallant, JE; De Jesus, E; Arribas, JR; et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz versus zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; 354: 251-260.
4. The DHHS Panel on antiretroviral guidelines for Adults and Adolescents - A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. December 1, 2007.
5. Hammer, SM; Saag, MS; Schechter, M; et al. Treatment for adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA. *JAMA* 2008; 300: 555-570.
6. Chou, R; Fu, R; Huffman, LH; Korthius, PT. Initial highly active antiretroviral therapy with a protease inhibitor versus a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor: discrepancies between direct and indirect meta-analyses. *Lancet* 2006; 368: 1503-1515.
7. MacArthur, RD; Novak, RM; Peng, G; et al. A comparison of three highly active antiretroviral treatment strategies consisting of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, protease inhibitors, or both in the presence of nucleoside reverse transcriptase inhibitors as initial therapy (CPCRA 058 FIRST Study): a long-term randomized trial. *Lancet* 2006; 368: 2125-2135.
8. Berenguer, J; Gonzalez, J; Ribera, E; et al. Didanosine, lamivudine, and efavirenz versus zidovudine, lamivudine, and efavirenz for the initial treatment of HIV type 1 infection: final analysis (48 weeks) of a prospective, randomized, noninferiority clinical trial, GESIDA 3903. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 1083-1092.
9. Pozniak, AL; Gallant, JE; De Jesus, E; et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz versus fixed-dose zidovudine/lamivudine and efavirenz in naïve-naïve patients: virologic, immunologic, and morphologic changes--a 96-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 43: 535-540.
10. Bansi, L; Sabin, C; Gilson, R; et al. Virological response to initial antiretroviral regimens containing abacavir or tenofovir. *J Infect Dis* 2009; 200: 710-714.
11. Smith, K; Fine, D; Patel, P; et al. Efficacy and safety of abacavir/lamivudine compared to tenofovir/emtricitabine in combination with once-daily lopinavir/ritonavir through 48 weeks in the HEAT study. Presented at the 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 3-6, 2008, Boston, MA; abstract #774.

12. Sax, Paul E; Tierney, Camlin; Collier, Ann C; Fischl, Margaret A; Mollan, Katie; Peeples, Lynne; Godfrey, Catherine; Jahed, Nasreen C; Myers, Laurie; et al. Abacavir–Lamivudine versus Tenofovir–Emtricitabine for Initial HIV-1 Therapy. *N Engl J Med* 2009; 361: 2230-2240.
13. Sax, P; et al. Therapeutic options for treatment-experienced patients: a focus on resistance testing and optimizing background therapy. *AIDS Read* 2006; 16: 265-75.
14. Hogg, Robert S; Bangsberg, David R; Lima, Viviane D; Alexander, Chris; Bonner, Simon; Yip, Benita; Wood, Evan; Dong, WY; Montaner, Julio; Harrigan, P. Richard. Emergence of Drug Resistance Is Associated with an Increased Risk of Death among Patients First Starting HAART. *PLoS Med* 2006; 3(9): 1570-1578.
15. Little, SJ; Holte, S; Routy, JP; et al. Drug-drug resistance among patients recently infected with HIV. *N Engl J Med* 2002; 347(6): 385-394.
16. Bertagnolio, S; Soto-Ramirez, LE; Pilon, R; et al. HIV-1 drug resistance genotyping in treatment-naïve subjects using dried blood spots. *Antiviral Therapy* 2007; 12: 107-113.
17. Flores-Hernández, M; Zurita L; Rodríguez-Díaz, RA; et al. Resistance associated mutations and genetic diversity in HIV-infected patients from México. *Antiviral Therapy* 2006; 11 (Suppl): 127.
18. Kagan, R; Merigan, T; Winters, M; et al. Newer antiretroviral treatment regimens drive HIV-1 RT and PR mutational patterns in a national reference laboratory database. *Antivir Ther* 2006; 11: 113.
19. Zazzi, M; Corsi, P; Gonelli, A; et al. Evolution of the prevalence of HIV drug resistance patterns over 9 years of HAART and its relation with changes in the mailing treatment regimens: an analysis of a large Italian database. *Antivir Ther* 2006; 11: 137.
20. Valer, L; Martín-Carbonero, L; De Mendoza, C; et al. Predictors of selection of K65R: Tenofovir use and lack of thymidine analogue mutations. *AIDS* 2004; 18: 2094-2096.
21. De Mendoza, Carmen; Jiménez-Nacher, Inmaculada; Garrido, Carolina; Barreiro, Pablo; Poveda, Eva; Corral, Angélica; Zahonero, Natalia; González-Lahoz, Juan; Soriano, Vincent. HIV/AIDS Brief Report: Changing Patterns in HIV Reverse Transcriptase Resistance Mutations after Availability of Tenofovir. *Clin Infec Dis* 2008; 46: 1782-1785.
22. Margot, M; Lu, B; Cheng, A; Miller, M; and the Study 903 Team.: Resistance development over 144 weeks in treatment-naïve patients receiving tenofovir disoproxil fumarate or stavudine with lamivudine and efavirenz in the study 903. *HIV Med* 2006; 7: 442–450.
23. Meyer, PR; Matsuura, SE; Schinazi, RF; et al. Differential removal of thymidine nucleotide analogues from blocked DNA chains by human immunodeficiency virus reverse transcriptase in the presence of physiological concentrations of 2'-deoxynucleoside triphosphates. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3465-3472.
24. Yahi, N; Tamalet, C; Tourres, C; et al. Mutation patterns of the reverse transcriptase and protease genes in human immunodeficiency virus type 1-infected patients undergoing combination therapy: survey of 787 sequences. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 4099-4106.
25. Hanna, GJ; Johnson, VA; Kuritzkes, DR; et al. Patterns of resistance mutations selected by treatment of human immunodeficiency virus type 1

- infection with zidovudine, didanosine, and nevirapine. *J Infect Dis* 2000; 181: 904-911.
26. Kuritzkes, DR; Bassett, RL; Young, RK; et al. Rate of emergence of thymidine analogue resistance mutations in HIV-1 reverse transcriptase selected by stavudine or zidovudine-based regimens in treatment-naïve patients. *Antivir Ther* 2002; 7: S31.
 27. Whitcombe, JM; Paxinos, W; Huang, M; et al. The Presence of Nucleoside Analogue Mutations (NAMs) is highly Correlated with Reduced Susceptibility to all NRTIs. 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Seattle, WA, 24-28 February 2002. Abstract 569.
 28. Gallant, JE.: Antiretroviral drug resistance and resistance testing. *Top HIV Med* 2005; 13: 138.
 29. Walter, H; Schmidt, B; Werwein, M; et al. Prediction of abacavir resistance from genotypic data: impact of zidovudine and lamivudine resistance in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 89-94.
 30. Gallant, JE; Gerondelis, PZ; Wainberg, MA; et al. Nucleoside and nucleotide analogue reverse transcriptase inhibitors: a clinical review of antiretroviral resistance. *Antivir Ther* 2003; 8: 489.
 31. Whitcombe, JM; Paxinos, W; Huang, M; et al. The Presence of Nucleoside Analogue Mutations (NAMs) is highly Correlated with Reduced Susceptibility to all NRTIs. 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Seattle, WA, 24-28 February 2002. Abstract 569.
 32. Nicastrì, E; Sarmati, L; d'Ettorre, G; et al. Replication capacity, biological phenotype, and drug resistance of HIV strains isolated from patients failing antiretroviral therapy. *J Med Virol* 2003; 69: 1.
 33. Wainberg, MA; Miller, MD; Quan, Y; et al. In vitro selection and characterization of HIV-1 with reduced susceptibility to PMPA. *Antivir Ther* 1999; 4: 87.
 34. Sluis-Cremer, N; Sheen, CW; Zelina, S; et al. Molecular mechanism by which the K70E mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 48-53.
 35. Gallant, JE; Staszewski, S; Pozniak, AL; et al. Efficacy and safety of tenofovir DF vs. stavudine in combination therapy in antiretroviral naïve patients: a 3-year randomized trial. *JAMA* 2004; 292: 191-201.
 36. Gallant, JE; De Jesus, E; Arribas, JR; et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine and efavirenz for HIV. *N Engl J Med* 2006; 354: 251-260.
 37. Von, Wyl V; Yerly, S; Boni, J; et al. Factors associated with the emergence of K65R in patients with HIV-1 infection treated with combination antiretroviral therapy containing tenofovir. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1299-1309.
 38. Underwood, MR; Ross, LL; Irlbeck, DM; et al. Sensitivity of Phenotypic Susceptibility Analyses for Nonthymidine Nucleoside Analogues Conferred by K65R or M184V in Mixtures with Wild-Type HIV-1. *J Infect Dis* 2009; 199: 84-88.

39. Parikh, U; Barnas, D; Faruki, H; Mellors, J. Antagonism between the HIV-1 Reverse-Transcriptase Mutation K65R and Thymidine-Analogue Mutations at the Genomic Level. *J Infect Dis* 2006; 194: 651-660.
40. Nicolas, A; Margot, MA; Enejosa, J; Cheng, Andrew K; Miller, Michael D; McColl, Damian J and the Study 934 Team. Development of HIV-1 Drug Resistance Through 144 Weeks in Antiretroviral-Naïve Subjects on Emtricitabine, Tenofovir Disoproxil Fumarate, and Efavirenz Compared With Lamivudine/Zidovudine and Efavirenz in Study GS-01-934. *JAIDS* 2009; 52: 209-221.
41. Gulick R; Ribaudo, H for the AIDS Clinical Trials Group Study A5095 Team. Triple nucleoside regimens versus efavirenz containing regimens for the initial treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2004; 350: 1850–1861.
42. Marconi, VC; Sunpath, H; Lu, Z; Gordon, M; Koranteng-Apeageyi, K; Hampton, J; et al. South Africa Resistance Cohort Study Team. Prevalence of HIV-1 drug resistance after failure of a first highly active antiretroviral therapy regimen in KwaZulu Natal, South Africa. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1589–1597.
43. Sung, H; Jung, Y; Kang, M; Baie, I; Chang, H; Woo, J; Cho, Y. High frequency of drug resistance mutations in human immunodeficiency virus type-1 infected Korean patients treated with HAART. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23: 1223–1229.
44. Parikh, UM; Barnas, DC; Faruki, H; Mellors, JW. Antagonism between the HIV-1 reverse-transcriptase mutation K65R and thymidine-analogue mutations at the genomic level. *J Infect Dis* 2006; 194: 651–660.
45. Parikh, UM; Bacheler, L; Koontz, D; Mellors, JW. The K65R mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase exhibits bidirectional phenotypic antagonism with thymidine analog mutations. *J Virol* 2006; 80: 4971–4977.
46. Parikh, UM; Zelina, S; Sluis-Cremer, N; Mellors, JW. Molecular mechanisms of bidirectional antagonism between K65R and thymidine analog mutations in HIV-1 reverse transcriptase. *AIDS* 2007; 21: 1405–1414.
47. Hosseinipour, Mina C; Van Oosterhout, Joep J.G; Weigel, Ralf; Phiri, Sam; Kamwedo, Debbie; Parkin, Neil; Fiscus, Susan A; Nelson, Julie A. E; Eron, Joseph J; Kumwenda, Johnstone. The public health approach to identify antiretroviral therapy failure: high-level nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance among Malawians failing first-line antiretroviral therapy. *AIDS* 2009; 23: 1127-1134.
48. Grant, P; Taylor, J; Nevins, A; Calvez, V; Marcelin, AG; Wirden, M and Zolopa, AR. Antiviral Activity of Zidovudine and Tenofovir in the Presence of the K65R Mutation in Reverse Transcriptase: An international Cohort Analysis. AAC Accepts, published online ahead of print on 1 February 2010.
49. De Mendoza, C; Jimenez-Nacher, I; Garrido, C; Barreiro, P; Poveda, E; Corral, A; Zahonero, N; Gonzalez-Lahoz, J; Soriano, V. Changing patterns in HIV reverse transcriptase resistance mutations after availability of tenofovir. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 1782-1785.
50. De Mendoza, C; Jimenez-Nacher, I; Garrido, C; Barreiro, P; Poveda, E; Corral, A; Zahonero, N; Gonzalez-Lahoz, J; Soriano, V. Changing rates

- and patterns of drug resistance Response to Zidovudine and Tenofovir with K65R mutations in antiretroviral-experienced HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23: 879-885.
51. McColl, D.J; Chappey, C; Parkin, N.T; Miller, M.D. Prevalence, genotypic associations and phenotypic characterization of K65R, L74V and other HIV-1 RT resistance mutations in a commercial database. *Antivir Ther* 2008; 13: 189-197.
 52. Frankel, F.A; Invernizzi, C.F; Oliveira, M; Wainberg, M.A. Diminished efficiency of HIV-1 reverse transcriptase containing the K65R and M184V drug resistance mutations. *AIDS* 2007; 21: 665-675.
 53. Lazzarin, A; Campbell, T; Closet, B; et al. Efficacy and safety of TMC125 (travertine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-2: 24-week results from a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 39–48.
 54. Madruga, JV; Cahn, P; Grinsztejn, B; et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 29–38.
 55. Bautista-Arredondo, Sergio; Mane, Aditya; Bertozzi, Stefano M. Economic impact of antiretroviral therapy prescription decisions in the context of rapid scaling-up of access to treatment: lessons from Mexico. *AIDS* 2006; 20: 101-109.
 56. Maserati, Renato; De Silvestri, Annalisa; Uglietti, Alessia; Colao, Grazia; Di Biagio, Antonio; Bruzzone, Bianca; Di Pietro, Massimo; Re, Maria Carla; Tinelli, Carmine; Zazzi, Maurizio on behalf of the ARCA Collaborative Group. Concise Communication Emerging mutations at virological failure of HAART combinations containing tenofovir and lamivudine or emtricitabine. *AIDS* 2010; 24: 000-000.
 57. Borroto-Esoda, K; Vela, JE; Myrick, F; Ray, AS; Miller, MD. In Vitro evaluation of the anti-HIV activity and metabolic interactions of tenofovir and emtricitabine. *Antivir Ther* 2006; 11: 377–384.
 58. Stanford University, HIV drug resistance database (disponible en: www.hivdb.stanford.edu/pages/phenoSummary/Pheno.NRTI.Simple.html . actualizada el 27.01.2010).
 59. Ravela, J; Betts, BJ; Brun-Vézinet, F; Vandamme, AM; Descamps, D; Van Laethern, K; et al. HIV-1 Protease and reverse transcriptase mutation patterns responsible for discordances between genotypic drug resistance interpretation algorithms. *JAIDS* 2003; 33: 8-14.
 60. Liu, Tommy F; Shafer, Robert W. Surfing the web: invited article Web Resources for HIV Type 1 Genotypic-Resistance Test Interpretation. *Clin Infect Dis.* 2006; 42: 1608-1618.
 61. De Luca, Andrea; Cingolani, Antonella; Di Giambenedetto, Simona; Trotta, Maria Paola; Baldini, Francesco; Rizzo, Maria Gabriella; Bertoli, Ada; Liuzzi, Giuseppina; Narciso, Pasquale; Murri, Rita; Ammassari, Adriana; Perno, Carlo Federico; Antinori, Andrea. Variable Prediction of Antiretroviral Treatment Outcome by Different Systems for Interpreting Genotypic Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance. *JID*, 2003; 187: 1934-1943.
 62. Vingerhoets, J; Peeters, M; Azijn, H; et al. An update of the list of NNRTI mutations associated with decreased virologic response to etravirine

- (ETR): multivariate analyses on the pooled DUET-1 and DUET-2 clinical trial data. Program and abstracts of the XVII International HIV Drug Resistance Workshop; Sitges, Spain; June 10-14, 2008; Vol. Abstract 24.
63. 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: 909-913.
 64. Clavel, François; Hance, Allan J. Review article medical progress HIV Drug Resistance. *N Engl J Med* 2004; 350: 1023-1035.
 65. CENSIDA (Centro Nacional Para la Prevencion y el Control del VIH/SIDA) (www.censida.salud.gob.mx/interior/cifras.html).