

# QUADERNO

PROBLEMATICHE EMERGENTI DI GESTIONE CLINICA

IN HBV<sup>N° 2</sup>

## EPATITE CRONICA B:

TRATTAMENTO A  
LUNGO TERMINE  
E FARMACO-  
RESISTENZA



## Coordinamento Scientifico

**CARLO FEDERICO PERNO**

DIPARTIMENTO MEDICINA SPERIMENTALE E SCIENZE BIOMEDICHE,  
UNIVERSITÀ DI ROMA TOR VERGATA

**VALENTINA SVICHER**

DIPARTIMENTO MEDICINA SPERIMENTALE E SCIENZE BIOMEDICHE,  
UNIVERSITÀ DI ROMA TOR VERGATA

**MAURO VIGANÒ**

UNITÀ OPERATIVA DI EPATOLOGIA, OSPEDALE SAN GIUSEPPE,  
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

# Diagnosi e gestione della resistenza

A CURA DEL PROF CARLO FEDERICO PERNO  
E DELLA DR.SSA VALENTINA SVICHER

## Introduzione

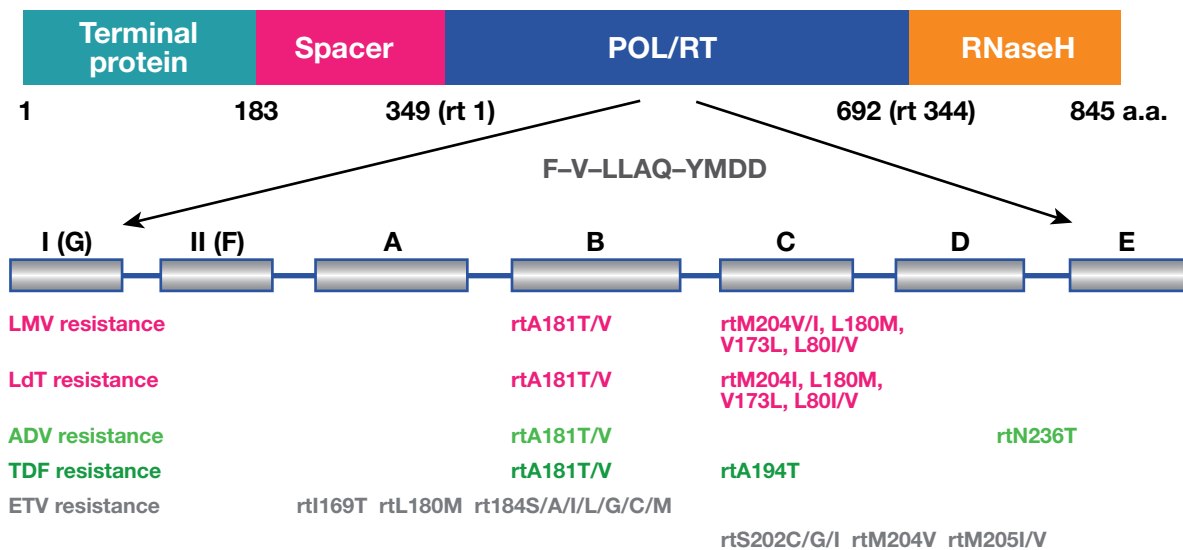
Nella storia dell'epidemia da HBV, l'introduzione della terapia antivirale ha sicuramente rappresentato un evento importante che ha consentito di ridurre considerevolmente la progressione dell'epatite cronica B verso eventi nefasti quali la cirrosi e l'epatocarcinoma. I farmaci antivirali, utilizzati attualmente per il trattamento dell'epatite cronica B, sono: lamivudina, adefovir, entecavir, telbivudina, tenofovir.

Questi farmaci inibiscono l'attività della trascrittasi inversa, enzima cruciale per la replicazione di HBV, e ad oggi l'unico bersaglio farmacologico per la cura dell'epatite cronica B. In particolare, bloccano l'allungamento della catena nascente di DNA e conseguentemente la produzione di nuove particelle virali.

LA FARMACO-RESISTENZA È CONFERITA DA SPECIFICHE MUTAZIONI DELLA TRASCRIPTASI INVERSA, UNICO BERSAGLIO FARMACOLOGICO PER LA CURA ANTI-HBV

MUTAZIONI DI RESISTENZA E LOCALIZZAZIONE SULLA TRASCRIPTASI INVERSA DI HBV

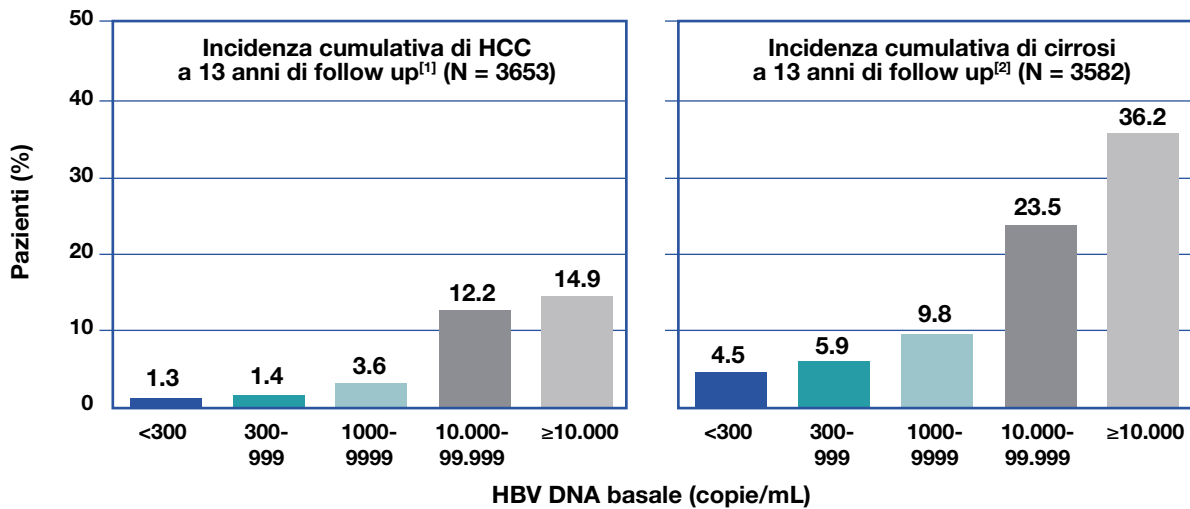
1



2

CORRELAZIONE TRA LIVELLI DI HBV DNA E RISCHIO DI CIRROSI ED EPATOCARCINOMA

REVEAL: follow up a lungo termine di pazienti HBsAg positivi non trattati in Taiwan



1. Chen CJ, et al. JAMA. 2006;295:65-73. 2. Illoeje UH, et al. Gastroenterology. 2006;130:678-686.

ELEVATI LIVELLI DI HBV DNA CORRELANO CON UNA MAGGIORE PROGRESSIONE VERSO CIRROSI ED EPATOCARCINOMA

Entecavir, oltre ad agire da terminatore di catena, è inoltre in grado di ridurre la capacità della trascrittasi di incorporare nucleotidi trifosfato. Questo duplice meccanismo di azione può spiegare l'elevata potenza di cui è dotato questo farmaco. L'efficacia di questi farmaci può essere compromessa in modo irrimediabile dall'insorgenza di ceppi farmaco-resistenti (1,2). La farmaco-resistenza denota la capacità del virus di replicare anche in presenza del farmaco ed è conferita da specifiche mutazioni che compaiono nella trascrittasi inversa del virus che è ad oggi l'unico bersaglio farmacologico per la cura dell'epatite B cronica (Figura 1). Grazie a queste mutazioni, la trascrittasi inversa non è più inibita dal farmaco e può procedere indisturbata nella sintesi del genoma virale.

Ciò consente la produzione di nuove particelle virali, evento che conduce ad un aumento della viremia e alla conseguente progressione dell'epatopatia. Numerosi studi hanno infatti dimostrato come elevati livelli di HBV DNA siano correlati in modo significativo ad un aumento dei fenomeni di necrosi infiammatoria e fibrosi epatica ed ad una maggiore progressione verso la cirrosi e l'epatocarcinoma (3,4) (Figura 2).

Variabilità genetica di HBV

La farmaco-resistenza insorge a causa dell'elevata variabilità genetica di HBV. Quest'ultimo, infatti, benché sia un virus a DNA, è dotato di una elevata variabilità genetica quasi paragonabile a quella di virus a RNA quali HIV e HCV, considerati gli archetipi di virus variabili per eccellenza. Ad oggi, sono state identificate ben 27 mutazioni conferenti resistenza ai farmaci anti-HBV (5). Tali mutazioni si accumulano gradualmente sotto pressione farmacologica, aumentando inoltre la probabilità di cross-resistenza.

Come affrontare questo problema in modo intelligente? Due i possibili approcci:

- attraverso metodiche diagnostiche all'avanguardia, come il test di resistenza genotipico, che consentano di individuare precocemente la presenza di ceppi virali farmaco-resistenti e di impostare una strategia terapeutica efficace e razionale. Il test di resistenza genotipico si configura quindi come uno strumento essenziale nella gestione del paziente con epatite B cronica;

- attraverso l'utilizzo di farmaci potenti (in prima istanza) e nuove strategie terapeutiche (quali anche la terapia di combinazione, ove ritenuto necessario), in grado di ridurre ai minimi termini la replicazione del virus e quindi azzerare la probabilità di sviluppo dei ceppi farmaco-resistenti.

Tali strategie sono le uniche armi veramente efficaci per arginare lo sviluppo di ceppi virali farmaco-resistenti, e per garantire il mantenimento a lungo termine del successo terapeutico.

Le recenti linee guida raccomandano l'uso di farmaci antivirali potenti e ad alta barriera genetica (vedi di seguito per maggiori dettagli sulla barriera genetica), quali entecavir e tenofovir, come migliore strategia terapeutica di prima linea (Figura 3). L'uso di questi antivirali ha consentito di contenere lo sviluppo della farmaco-resistenza. Ciò però non deve far abbassare la guardia nei confronti di questo problema, che continua e continuerà a persistere se il paziente non è monitorato accuratamente e non assume in modo congruo i farmaci.

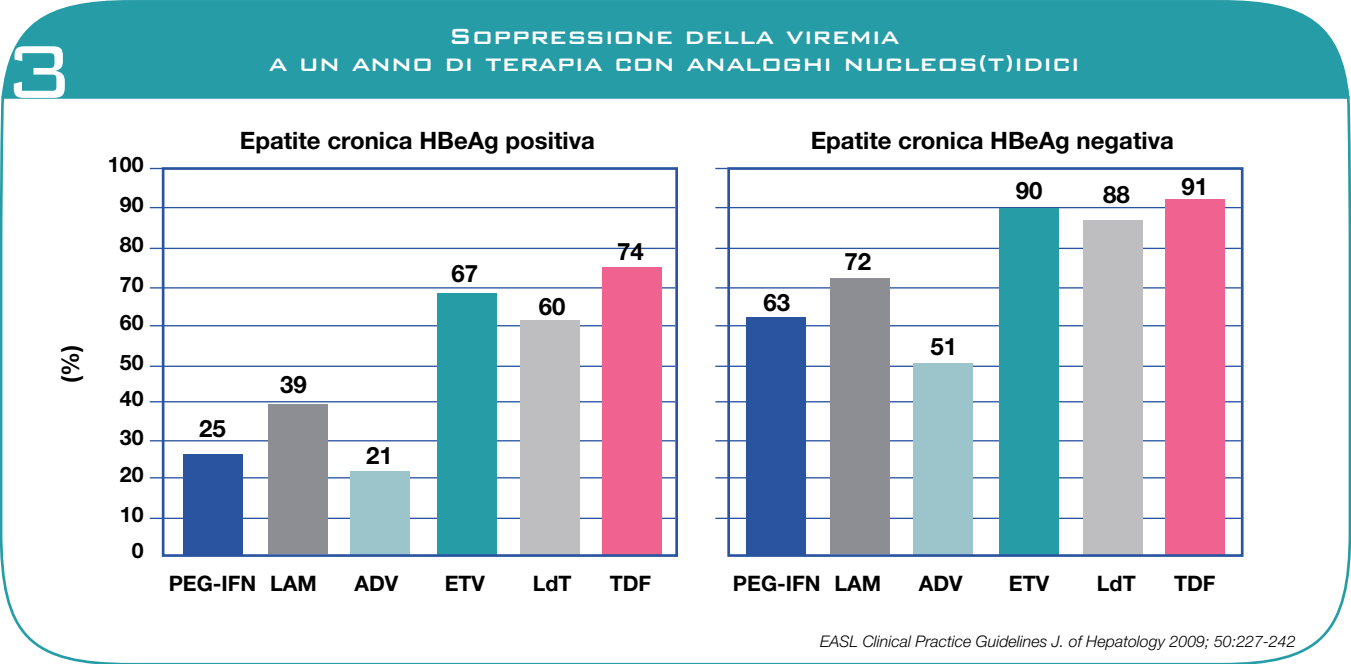
### Il ruolo del cccDNA

Il problema della resistenza in HBV è ulteriormente aggravato dalla presenza del cccDNA (circular covalently closed DNA). Quest'ultimo non può essere eradicato dalla terapia antivirale, in quanto permane stabile nelle cellule epatocitarie infettate, anche se non producenti e rappresenta, pertanto, un *reservoir* in cui possono essere archiviate tutte le mutazioni generate nel corso del trattamento.

Il ruolo del cccDNA nella farmaco-resistenza può essere facilmente compreso in base a studi pubblicati recentemente. In particolare, è stato riportato un caso clinico in cui si è osservata la persistenza di un ceppo virale resistente alla lamivudina per oltre un anno dopo l'interruzione di qualsiasi terapia antivirale. In un altro studio, si è invece osservata durante il trattamento con entecavir la ricomparsa di un ceppo virale resistente alla lamivudina, scomparso ormai da diversi anni dopo il cambiamento del regime antivirale da lamivudina ad adefovir.

La presenza del cccDNA, fonte da cui si generano ceppi farmaco-resistenti, può spiegare sia la persistenza che la ricomparsa del ceppo virale farmaco-resistente.

I FARMACI PIÙ POTENTI SONO IN GRADO DI AZZERARE LA PROBABILITÀ DI SVILUPPO DEI CEPPI FARMACO-RESISTENTI



4

POSSIBILI CONSEGUENZE DELLA FARMACO-RESISTENZA NELL'EPATITE CRONICA B

**Effetti**

<b>Virologici</b>	Riduzione dei tassi di sieroconversione di HBeAg <sup>1</sup> Breakthrough virologico e recidiva <sup>2</sup>
<b>Biochimici</b>	Breakthrough biochimico <sup>2</sup>
<b>Istologici</b>	Progressione della fibrosi <sup>2,3</sup>
<b>Clinici</b>	Flare epatitici e scompenso <sup>4,5</sup> Aumento della frequenza di recidiva post-trapianto epatico <sup>6</sup>
<b>Salute pubblica</b>	Sviluppo di ceppi HBV multi-resistenti Trasmissione di ceppi HBV farmaco-resistenti <sup>7</sup> Inefficacia della vaccinazione <sup>8</sup>

1. Leung NW, et al. *Hepatology* 2001;33:1527-1532. 2. Dienstag JL, et al. *Gastroenterology* 2003;124:105-117. 3. Liaw YF, et al. *N Engl J Med* 2004;351:1521-1531. 4. Yuen MF, et al. *J Hepatol* 2003;39:850-855. 5. Nafa S, et al. *Hepatology* 2000;32:1078-1088. 6. Mutimer D, et al. *Gut*. 2000;46:107-113. 7. Thibault V, et al. *AIDS* 2002;16:131-133. 8. Torresi J, et al. *Virology* 2002;293:305-313

**Resistenza agli anticorpi anti-HBs**

Infine, è necessario menzionare come la farmaco-resistenza di HBV possa influenzare anche l'immunogenicità e patogenicità del virus stesso. E' stato infatti ben dimostrato come alcuni ceppi di HBV resistenti ai farmaci antivirali siano al tempo stesso resistenti anche agli anticorpi, anche quelli indotti dal vaccino. Perché si verifica questo fenomeno?

Nel genoma di HBV, il gene codificante la trascrittasi inversa è sovrapposto al gene codificante l'antigene di superficie di HBV (HBsAg). Ciò vuol dire che la pressione esercitata dai farmaci è in grado di indurre mutazioni non solo nella trascrittasi inversa ma anche nell'HBsAg, ed in particolare, negli epitopi riconosciuti dagli anticorpi neutralizzanti. Alcune mutazioni (quali la M204V, L180M e V173L, *vedi di seguito per maggiori dettagli sulla mutazione*) possono pertanto rendere resistente il virus non solo ai farmaci ma anche agli stessi anticorpi indotti dal vaccino (6) (Figura 4). Un individuo vaccinato può essere quindi infettato da un ceppo virale farmaco-resistente. Ciò rappresenta un serio problema per la Sanità pubblica che impone programmi strategici atti al controllo della trasmissione di ceppi virali resistenti. E' ben noto come la pressione esercitata dal sistema immunitario cooperi con quella farmacologica per garantire la soppressione della viremia. La presenza di ceppi in grado di sfuggire la pressione del sistema immune può quindi rendere difficoltoso il raggiungimento del successo virologico.

Sempre a causa della sovrapposizione tra i geni codificanti la trascrittasi inversa e l'HBsAg, alcune muta-

ALCUNE MUTAZIONI POSSONO RENDERE IL VIRUS RESISTENTE NON SOLO AGLI ANALOGHI NUCLEOS(T)IDICI MA ANCHE AL VACCINO ANTI-HBV

zioni conferenti resistenza a lamivudina e adefovir (quali la A181T, *vedi di seguito per maggiori dettagli sulla mutazione*), possono determinare la produzione di una forma tronca dell'HBsAg che si accumula all'interno della cellula, inficiando la produzione di particelle virali (7). Ciò porta ad un abbassamento della viremia che può mascherare la presenza di ceppi farmaco-resistenti nel caso in cui il test di resistenza non venga utilizzato. Inoltre, un recente studio ha mostrato come in modelli animali l'accumulo intracellulare dell'HBsAg possa facilitare la progressione della epatite B cronica verso l'epatocarcinoma (8).

L'insieme di questi studi evidenzia come il fenomeno della resistenza in HBV debba essere sempre valutato per evitare forti ripercussioni sulla progressione dell'epatopatia.

## Bibliografia

1. Mommeja-Marin H, Mondou E, Blum MR, Rousseau F. *Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: analysis and review of the literature. Hepatology. 2003;37(6):1309-19.*
2. Di Marco V, Di Stefano R, Ferraro D, et al. *HBV-DNA suppression and disease course in HBV cirrhosis patients on long-term lamivudine therapy. Antivir Ther. 2005;10(3):431-9.*
3. Dienstag JL, Cianciara J, Karayalcin S, et al. *Durability of serologic response after lamivudine treatment of chronic hepatitis B. Hepatology. 2003 Apr;37(4):748-55.*
4. Liaw YF, Chien RN, Yeh CT. *No benefit to continue lamivudine therapy after emergence of YMDD mutations. Antivir Ther. 2004;9(2):257-62.*
5. Zoulim F, Locarnini S. *Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. Gastroenterology. 2009;137:1593-1608.*
6. Torresi J, Earnest-Silveira L, Civitico G, et al. *Restoration of replication phenotype of lamivudine-resistant hepatitis B virus mutants by compensatory changes in the "fingers" subdomain of the viral polymerase selected as a consequence of mutations in the overlapping S gene. Virology. 2002;299(1):88-99.*
7. Warner N, Locarnini S. *The antiviral drug selected hepatitis B virus rtA181T/sW172\* mutant has a dominant negative secretion defect and alters the typical profile of viral rebound. Hepatology 2008; 48:88-98.*
8. Lai MW, Huang SF, Hsu CW, et al. *Identification of nonsense mutations in hepatitis B virus S gene in patients with hepatocellular carcinoma developed after lamivudine therapy. Antivir Ther 2009;14:249-61.*



# Domande chiave sulla farmaco-resistenza

A CURA DEL PROF CARLO FEDERICO PERNO  
E DEL DR MAURO VIGANÒ

SOTTO PRESSIONE FARMACOLOGICA IL CEPPLO RESISTENTE POSSIEDE UN VANTAGGIO SELETTIVO SUL VIRUS WILD-TYPE, FINO A DIVENTARE PREDOMINANTE

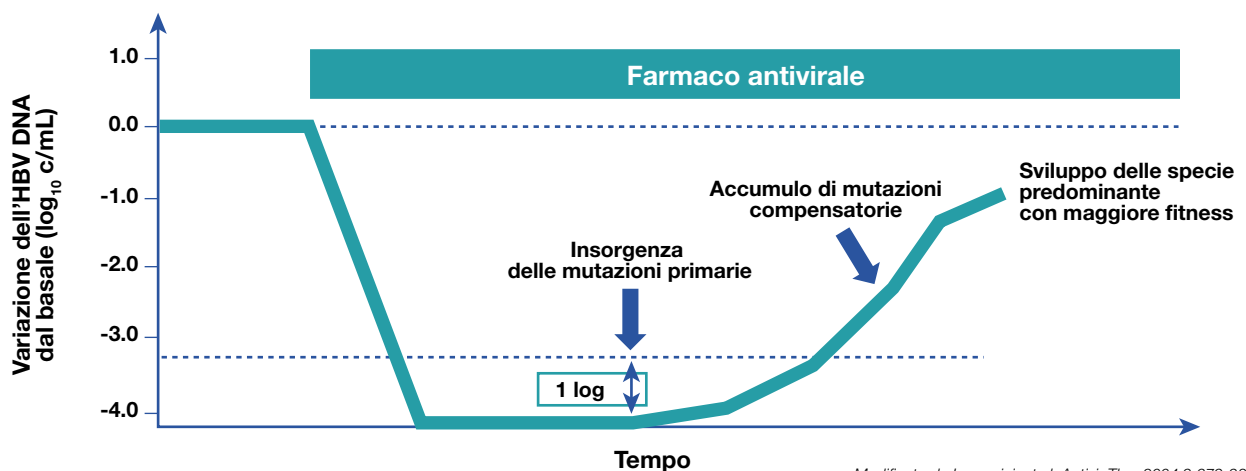
## 1) Come avviene l'evoluzione delle quasispecie virali durante il trattamento

I ceppi di HBV resistenti emergono come conseguenza della strategia di sopravvivenza del virus alla pressione selettiva esercitata dal trattamento (1,2) (Figura 1). Infatti, i ceppi mutati sono capaci di replicare in modo efficiente anche in presenza dei farmaci anti-HBV, avendo un vantaggio specifico selettivo a livello degli epatociti, per poi diffondersi in tutto il parenchima epatico e nel sangue periferico (3).

All'inizio della terapia, il virus *wild-type* è il ceppo predominante maggiormente circolante.

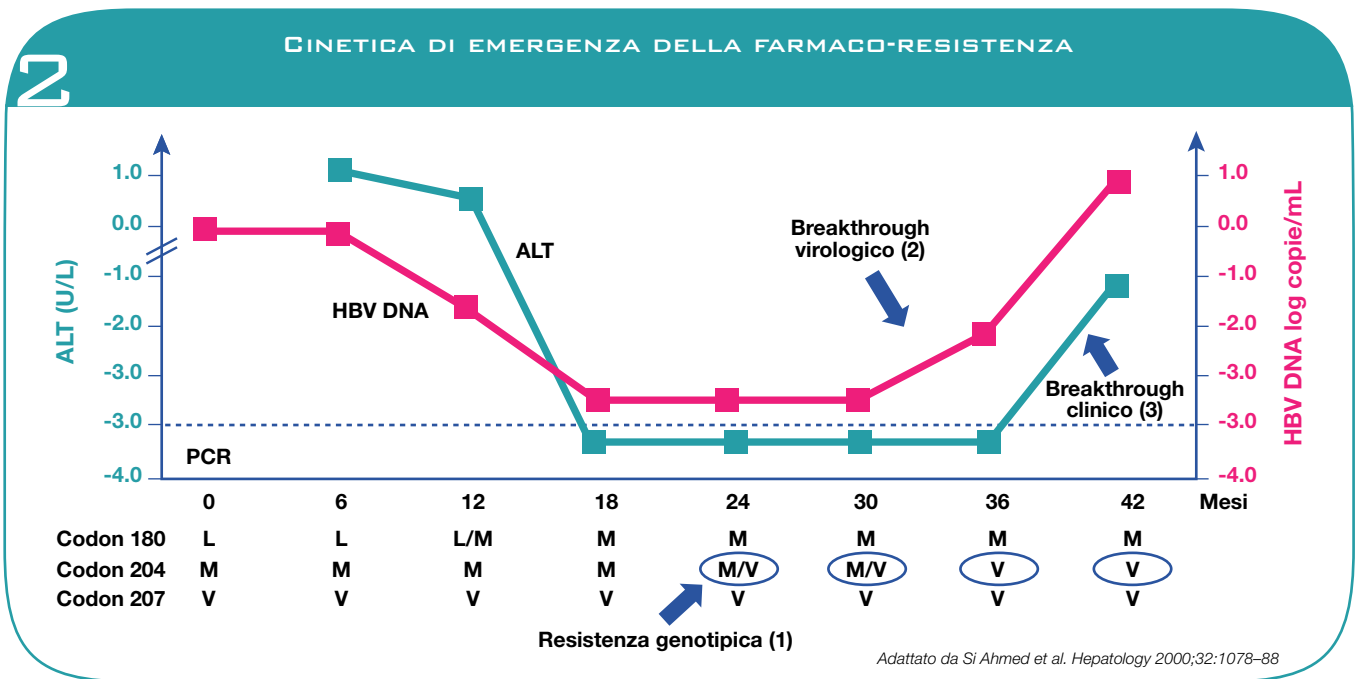
I ceppi farmaco-resistenti possono essere generati in corso di trattamento o pre-esistere prima del trattamento in quanto generati casualmente dalla trascrittasi

FARMACO-RESISTENZA E ANDAMENTO DELLA VIREMIA



Modificato da Locarnini et al. Antivir Ther 2004;9:679-93





inversa che, come menzionato precedentemente, introduce spontaneamente mutazioni nel genoma virale. In assenza di trattamento, questi ceppi permangono come specie minoritarie, non rilevabili con le tradizionali metodiche di sequenziamento, in quanto in assenza di trattamento non hanno alcun vantaggio replicativo. Sotto pressione farmacologica, il ceppo resistente possiede un vantaggio selettivo rispetto al virus *wild-type* e quindi prende il sopravvento divenendo ceppo predominante. La mantenuta replicazione virale sotto la pressione selettiva del farmaco può comportare l'accumulo di mutazioni aggiuntive che aumentano la capacità replicativa dei mutanti resistenti (*mutazioni di resistenza secondaria*) (4).

La sostituzione del virus *wild-type* nelle cellule del fegato ad opera del ceppo resistente mutato dominante è un processo lento. Studi in modelli animali hanno indicato

che i ceppi mutanti replicano prevalentemente nelle cellule non ancora infette (*spazio di replicazione*). La diffusione del ceppo resistente è pertanto dipendente dal numero di cellule non ancora infettate da HBV. Possono servire mesi al sistema immunitario per eliminare gli epatociti infettati dal virus *wild-type* e quindi creare un ampio spazio replicativo per i ceppi resistenti.

### Bibliografia

- Sheldon J, Rodès B, Zoulim F, et al. *Mutations affecting the replication capacity of the hepatitis B virus. J Vir Hepat* 2006;13:427-434.
- Doo E, Liang JT. *Molecular anatomy and pathophysiologic implications of drug resistance in hepatitis B virus infection. Gastroenterology* 2001;120:1000-1008.
- Brunelle MN, Jacquard AC, Pichoud C, et al. *Susceptibility to antivirals of a human HBV strain with mutations conferring resistance to both lamivudine and adefovir. Hepatology* 2005;41:1391-1398.
- Zoulim F and Locarnini S. *Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. Gastroenterology* 2009;137:1593-1608

**RESISTENZA GENOTIPICA, BREAKTHROUGH VIROLOGICO E BREAKTHROUGH CLINICO SONO LE FASI DELL'EMERGENZA DELLA FARMACO-RESISTENZA**

### 2) Qual è la cinetica di comparsa della farmaco-resistenza?

L'emergenza della farmaco-resistenza avviene in tre fasi successive (Figura 2).

La *resistenza genotipica* è definita come la presenza di ceppi circolanti di HBV con mutazioni specifiche a livello della trascrittasi inversa, bersaglio degli attuali farmaci anti-HBV. Proprio grazie a queste mutazioni, questi ceppi iniziano a replicare indisturbati nonostante la presenza del farmaco, determinando un progressivo aumento della viremia che culmina nella cosiddetta

fase del *breakthrough virologico*, definito come l'aumento di almeno un logaritmo (10 volte) di HBV DNA rispetto al nadir, in due osservazioni successive. I livelli sierici di HBV DNA e delle transaminasi (ALT) inizialmente tendono ad essere bassi, perché la maggior parte dei mutanti resistenti agli antivirali ha una *fitness* virale più bassa rispetto al virus *wild-type* (1-3). Con il tempo però si verifica l'accumulo delle mutazioni compensatorie che consentono di ripristinare la *fitness* virale. Ciò comporta un ulteriore aumento della carica virale che può accompagnarsi ad un concomitante aumento delle ALT: tale fase identifica il *breakthrough clinico* (fase III).

## Bibliografia

1. Locarnini S, Hatzakis A, Heathcote J, et al. *Management of antiviral resistance in patients with chronic hepatitis B. Antiviral Therapy* 2004;9:679-693.
2. Shaw T, Bartholomeusz A, Locarnini S. *HBV drug resistance: mechanisms, detection and interpretation. J Hepatol* 2006;44:593-606.
3. Lok AS, Zoulim F, Locarnini S, et al. *Antiviral drug-resistant HBV: Standardization of nomenclature and assays and recommendations for management. Hepatology* 2007;46:254-265.

### 3) Quali sono le mutazioni che conferiscono resistenza ai diversi farmaci impiegati?

Di seguito le principali mutazioni ad oggi note per compromettere l'efficacia dei diversi farmaci anti-HBV.

#### Resistenza a lamivudina e telbivudina

Le principali mutazioni che conferiscono resistenza a questi due farmaci sono la M204I e la M204V. Queste sono localizzate nel dominio C della trascrittasi inversa ed in particolare nel sito attivo dell'enzima, definito dai seguenti aminoacidi: tirosina-metionina-aspartato-aspartato (YMDD) (1-3). La sostituzione della metionina (M) con valina o isoleucina (V o I) altera la conformazione del sito stesso, riducendo la capacità della polimerasi virale di incorporare il farmaco. Proprio perché localizzate nel sito catalitico dell'enzima, queste muta-

zioni riducono la capacità replicativa del virus, che viene successivamente ripristinata grazie all'accumulo delle mutazioni cosiddette compensatorie quali: la rL180M, rL80V/I, rI169T, rV173L, rT184S/G, rS202I ed rQ215S (4-7).

Mantenere il paziente in fallimento virologico determina pertanto l'accumulo delle mutazioni compensatorie e quindi la selezione di un ceppo resistente altamente replicante, con conseguente e ingravescente danno epatico.

#### Resistenza ad entecavir

Un ruolo chiave nello sviluppo della resistenza ad entecavir è svolto dalle mutazioni M204V+L180M. Infatti, queste mutazioni inficiano solo parzialmente l'efficacia di entecavir, ma al tempo stesso sono in grado di favorire la comparsa di ulteriori mutazioni in posizione 169, 184, 202 e 250. La co-presenza delle mutazioni M204V+L180M, con una mutazione in posizione 184, 202 o 250 conferisce un elevato livello di resistenza ad entecavir compromettendone irreparabilmente l'uso (7,8).

#### Resistenza ad adefovir e tenofovir

L'unica mutazione associata direttamente a resistenza a tenofovir è la A194T (9,10); il suo ruolo deve essere ancora definito nella pratica clinica.

Di contro, abbiamo evidenze sostanziali riguardo la resistenza ad adefovir, mediata principalmente dalle mutazioni primarie N236T e A181T/V (8,11,12). Queste mutazioni sono in grado di compromettere (almeno in parte) anche l'efficacia di tenofovir. Le mutazioni rA181T/V conferiscono inoltre una diminuita suscettibilità a lamivudina e telbivudina (12,13). Altre mutazioni contribuiscono ad aumentare il livello di resistenza ad adefovir tra cui la V84M, S85A, V214A, Q215S, P237H, V207I.

L'effetto combinato di tali mutazioni su tenofovir è ancora da definire, dato il tempo breve di trattamento con il farmaco, e la necessità di studiare un numero congruo di pazienti al fine di trarre conclusioni clinicamente utili.

## Bibliografia

1. Yeh CT, Chien RN, Chu CM, et al. *Clearance of the original hepatitis B virus YMDD-motif mutants with emergence of distinct lamivudine-resistant mutants during prolonged lamivudine therapy. Hepatology* 2000;31:1318-1326.
2. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, et al. *Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. Hepatology* 2001;33:751-757.
3. Stuyver L, Van Geyt C, De Gendt S, et al. *Line probe assay for monitoring drug resistance in hepatitis B virus-infected patients during antiviral therapy. J Clin Microbiol* 2000;38:702-707.
4. Ogata N, Fujii K, Takigawa S, et al. *Novel patterns of amino acid mutations in the hepatitis B virus polymerase in association with resistance to lamivu-*

LA SCARSA DISPONIBILITÀ DI DATI SU TENOFOVIR NON PERMETTE DI DEFINIRNE CHIARAMENTE I TASSI DI RESISTENZA

- dine therapy in Japanese patients with chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1999;59:270–276.
5. Delaney WEt, Yang H, Westland CE, et al. *The hepatitis B virus polymerase mutation rtV173L is selected during lamivudine therapy and enhances viral replication in vitro.* *J Virol* 2003;77: 11833–11841.
6. Shaw T, Bartholomeusz A, Locamini S. *HBV drug resistance: mechanisms, detection and interpretation.* *J Hepatol* 2006;44: 593–606.
7. Tenney DJ, Levine SM, Rose RE, et al. *Clinical emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to lamivudine.* *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:3498–3507.
8. Villet S, Ollivet A, Pichoud C, et al. *Stepwise process for the development of entecavir resistance in a chronic hepatitis B virus infected patient.* *J Hepatol* 2007;46:531–538.
9. Sheldon J, Camino N, Rodes B, et al. *Selection of hepatitis B virus polymerase mutations in HIV-coinfected patients treated with tenofovir.* *Antivir Ther* 2005;10:727–734.4)
10. Amini-Bavil-Olyae S, Herbers U, Sheldon J, et al. *The rtA194T polymerase mutation impacts viral replication and susceptibility to tenofovir in hepatitis B e antigen-positive and hepatitis B e antigen-negative hepatitis B virus strains.* *Hepatology.* 2009;49(4):1158–65.
11. Villet S, Pichoud C, Billioud G, et al. *Impact of hepatitis B virus rtA181V/T mutants on hepatitis B treatment failure.* *J Hepatol* 2008;48:747–755.
12. Villeneuve JP, Durantel D, Durantel S, et al. *Selection of a hepatitis B virus strain resistant to adefovir in a liver transplantation patient.* *J Hepatol* 2003;39:1085–1089.
13. Brunelle MN, Jacquard AC, Pichoud C, et al. *Susceptibility to antivirals of a human HBV strain with mutations conferring resistance to both lamivudine and adefovir.* *Hepatology* 2005; 41:1391–1398.

#### 4) Che cosa si intende per cross-resistenza?

Una mutazione conferisce cross-resistenza quando riduce la sensibilità del virus a più farmaci antivirali (**Figura 3**). Per esempio, le mutazioni M204I/V±rtL180M

UNA MUTAZIONE CONFERISCE CROSS-RESISTENZA QUANDO RIDUCE LA SENSIBILITÀ DI HBV A PIÙ FARMACI ANTIVIRALI

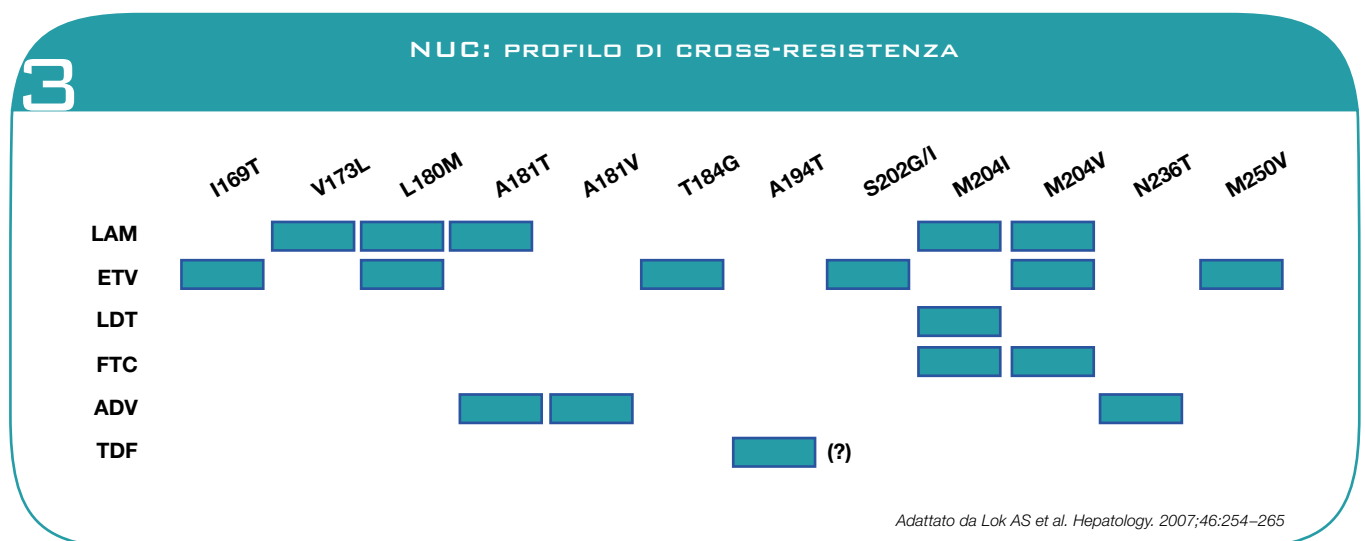
conferiscono un elevato livello di resistenza alla lamivudina e telbivudina, mentre le mutazioni M204V±rtL180M conferiscono un livello intermedio di resistenza ad entecavir. In modo analogo, le mutazioni A181T/V conferiscono resistenza elevata ad adefovir e lamivudina, e compromettono parzialmente l'efficacia di tenofovir.

#### Bibliografia

1. Zoulim F, Locarnini S. *Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues.* *Gastroenterology* 2009;137:1593-1608

#### 5) Che cosa si intende per multi-resistenza?

Un ceppo virale è definito multi-resistente quando ha accumulato nel corso dei diversi trattamenti antivirali differenti mutazioni conferenti resistenza a più farmaci. La presenza di un ceppo multi-resistente è spesso il frutto di monoterapie sequenziali fallimentari, o dell'impiego di strategie terapeutiche di *add-on* non eseguite al momento della fase di resistenza genotipica. Ciò sottolinea la necessità di test genotipici in pazienti



con fallimento terapeutico per determinare il profilo di resistenza e scegliere la terapia su misura per il ceppo virale maggiore circolante nel paziente.

### Bibliografia

1. Zoulim F, Locarnini S. *Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. Gastroenterology 2009;137:1593-1608*

### 6) Che cos'è la barriera genetica alla resistenza?

Con il termine *barriera genetica* si intende il numero di mutazioni necessarie per conferire resistenza piena ad un dato farmaco (1). Lamivudina, adefovir e telbivudina sono farmaci a bassa barriera genetica in quanto è sufficiente una singola mutazione per comprometterne l'efficacia. Entecavir è al contrario un farmaco ad alta barriera genetica in quanto sono necessarie tre mutazioni per ridurne drasticamente l'attività (Figura 4). Non abbiamo evidenze riguardo la reale barriera genetica di tenofovir, dato l'ancor relativamente breve periodo di osservazione.

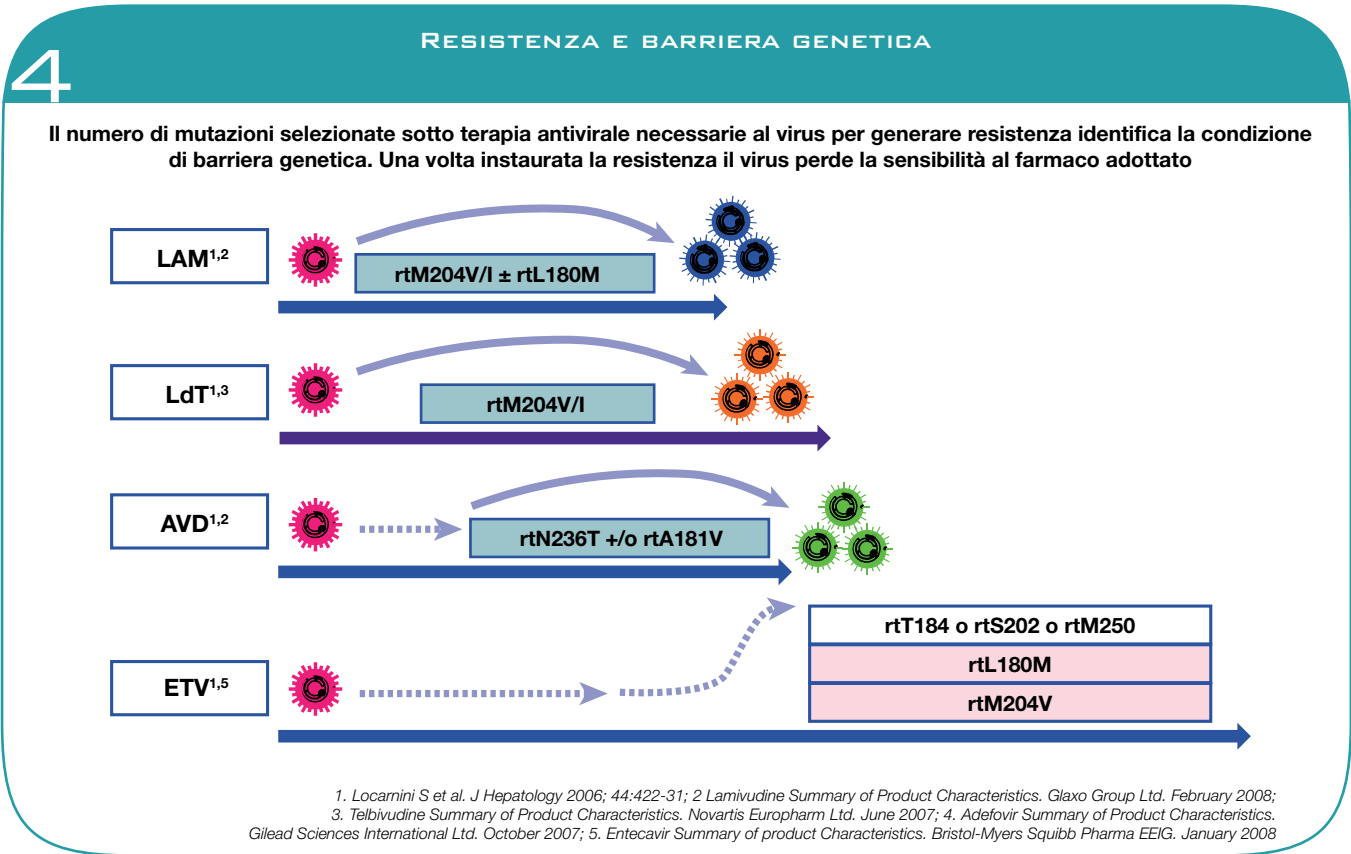
### Bibliografia

1. Lok AS, Zoulim F, Locarnini S, et al. *Antiviral drug-resistant HBV: standardization of nomenclature and assays and recommendations for management. Hepatology 2007;46:254-265.*

ENTECAVIR È UN FARMACO AD ALTA BARRIERA GENETICA: SONO NECESSARIE TRE MUTAZIONI PER RIDURNE DRASTICAMENTE L'ATTIVITÀ ANTIVIRALE

### 7) Quali sono i fattori che predispongono al fallimento terapeutico?

Il mancato raggiungimento del successo terapeutico può essere dovuto a diversi fattori quali: scarsa compliance del paziente, un pregresso trattamento con farmaci o regimi terapeutici non ottimali, trasmissione primaria di farmaco-resistenza, e l'esposizione a trattamenti inadeguati per le proprietà stesse dei farmaci o



per varianti genetiche individuali.

Per i farmaci di prima generazione quali lamivudina e adefovir, i fattori associati ad un aumentato rischio di sviluppo di resistenza comprendono gli elevati livelli basali di HBV DNA e di ALT, una viremia residua  $>10^3$  copie/ml al sesto mese di terapia, l'elevato BMI e trattamenti precedenti con inadeguata soppressione virologica (1-8).

Anche la trasmissione diretta di mutanti farmaco-resistenti in soggetti *naive* al trattamento antivirale è probabile che predisponga alla più rapida insorgenza di resistenza una volta iniziato il trattamento.

A tal proposito, recenti studi hanno evidenziato tramite l'uso di metodiche di sequenziamento all'avanguardia, la presenza di ceppi resistenti minoritari in pazienti *drug-naive*. Questi ceppi potrebbero compromettere la risposta virologica del trattamento in prima linea (9,10).

## Bibliografia

1. Doo E, Liang JT. *Molecular anatomy and pathophysiologic implications of drug resistance in hepatitis B virus infection. Gastroenterology* 2001;120:1000-1008.
2. Lai CL, Dienstag J, Schiff E, et al. *Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. Clin Infect Dis* 2003;36:687-696.
3. Yuen MF, Sablon E, Hui CK, et al. *Factors associated with hepatitis B virus DNA breakthrough in patients receiving prolonged lamivudine therapy. Hepatology* 2001;34:785-791.
4. Nafa S, Ahmed S, Tavan D, et al. *Early detection of viral resistance by determination of hepatitis B virus polymerase mutations in patients treated by lamivudine for chronic hepatitis B. Hepatology* 2000;32:1078-1088.
5. Lai CL, Dienstag J, Schiff E, et al. *Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. Clin Infect Dis* 2003;36:687-696.
6. Zoulim F, Poynard T, Degos F, et al. *A prospective study of the evolution of lamivudine resistance mutations in patients with chronic hepatitis B treated with lamivudine. J Viral Hepat* 2006; 13:278-288.
7. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. *Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. Gastroenterology* 2006;131: 1743-1751.
8. Lai CL, Gane E, Liaw YF, et al. *Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. N Engl J Med* 2007;357: 2576-2588.
9. Solmone M, Vincenti D, Prosperi MC, et al. *Use of massively parallel ultradeep pyrosequencing to characterize the genetic diversity of hepatitis B virus in drug-resistant and drug-naive patients and to detect minor variants in reverse transcriptase and hepatitis B S antigen. J Virol* 2009 Feb;83(4):1718-26.
10. Margeridon-Thermet S, Shulman NS, et al. *Ultra-deep pyrosequencing of hepatitis B virus quasispecies from nucleoside and nucleotide reverse-transcriptase inhibitor (NRTI)-treated patients and NRTI-naive patients. J Infect Dis*. 2009 May 1;199(9):1275-85.

## 8) Quali sono i tassi di comparsa di resistenza con i diversi farmaci utilizzati?

La resistenza alla lamivudina insorge generalmente dopo i primi 6 mesi di terapia ed aumenta progressivamente nel corso del trattamento, arrivando al 24% entro il primo anno e fino al 70% dopo 5 anni di trattamento (1-5). Proprio per gli elevati tassi di resistenza, l'EMA (Agenzia europea per il farmaco) ha disposto che il trattamento con lamivudina sia considerato esclusivamente quando non disponibili i farmaci antivirali ad alta potenza ed alta barriera genetica. Il tasso di insorgenza di resistenza a telbivudina è inferiore a quella della lamivudina, ma è ancora sostanziale, la resistenza genotipica si verifica nel 4,4% e nel 21% dei pazienti HBeAg-positivi, e nel 2,7% e 8,6% dei pazienti HBeAg-negativi, rispettivamente dopo il 1° e 2° anno di trattamento (6,7).

La percentuale di pazienti con resistenza ad adefovir è del 2% dopo 2 anni di terapia, ma aumenta fino al 30% dopo 5 anni di trattamento (8,9). I dati più recenti con l'uso di tenofovir in pazienti non pretrattati non riportano sviluppo di resistenza a 144 settimane dall'inizio del trattamento; va però segnalato che alla 72° settimana, la maggior parte dei pazienti viremici è stato trattato con l'aggiunta di emtricitabina a tenofovir (10-12).

Tassi molto bassi (1,2%) di resistenza genotipica sono stati riportati in pazienti *naive* ai farmaci anti-HBV dopo 6 anni di terapia con entecavir (13) (Figura 5). Entecavir si configura pertanto come un farmaco a barriera genetica molto elevata nei pazienti *drug-naive*.

In pazienti pretrattati e falliti a lamivudina, i tassi cumulativi di resistenza genotipica raggiungono il 60% a 6 anni di trattamento (14).

Ciò è dovuto al fatto che le mutazioni conferenti resistenza alla lamivudina favoriscono l'insorgenza di altre mutazioni (in posizione 184, 202 e 250) che riducono

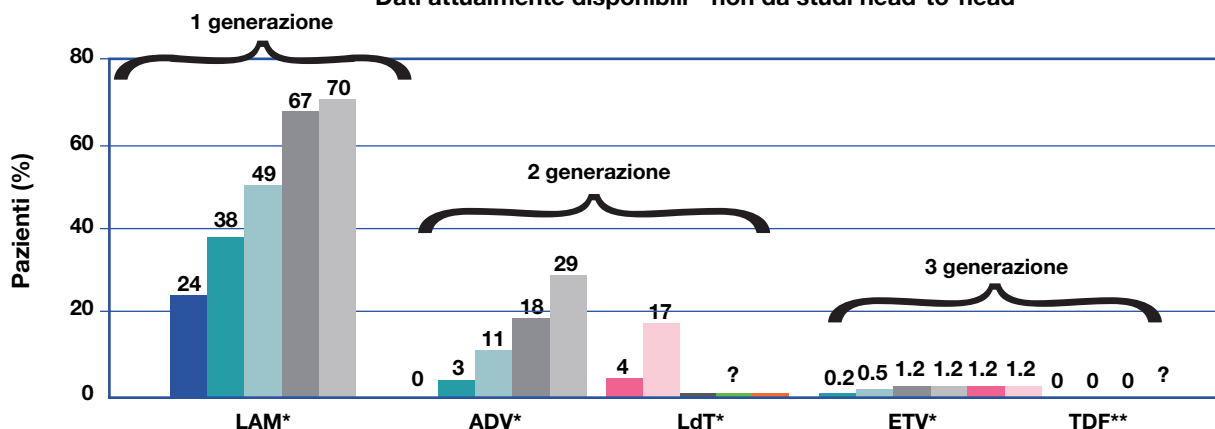
LA CRESCITA ESPONENZIALE DI VIRUS MUTATI E DELLA VIREMIA DETERMINA LA PERDITA DEI BENEFICI ACCUMULATI IN CORSO DI TRATTAMENTO



5

INCIDENZA DI RESISTENZA IN PAZIENTI NAIVE

Dati attualmente disponibili - non da studi head-to-head



\*1-5 anni di monitoraggio dello sviluppo di resistenza  
 \*\*1-3 anni di monitoraggio dello sviluppo di resistenza

Adattato da EASL HBV Guidelines, J Hepatol 2009

enormemente la sensibilità di HBV al farmaco. In questi casi, l'uso di entecavir in pazienti che hanno sviluppato mutazioni di resistenza a lamivudina non è indicato, così come non è indicato l'uso di tenofovir in pazienti che hanno sviluppato resistenza ad adefovir.

Bibliografia

1. Locarnini S, Hatzakis A, Heathcote J, et al. Management of antiviral resistance in patients with chronic hepatitis B. *Antiviral Ther* 2004;9:679-693.
2. Liaw YF, Leung NW, Chang TT, et al. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000;119:172-180.
3. Leung NW, Lai CL, Chang TT, et al. Extended lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B enhances hepatitis B e antigen seroconversion rates: results after 3 years of therapy. *Hepatology* 2001;33:1527-1532
4. Di Marco V, Marzano A, Lampertico P, et al. Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine. *Hepatology* 2004;40:883-891.
5. Lok A, Lai CL, Leung N, et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003;125:1714-1722
6. Lai CL, Gane E, Liaw YF, et al. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2007;357:2576-2588.
7. Liaw YF, Gane E, Leung N, et al. 2-Year GLOBE trial results: telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2009;136:486-495.
8. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology* 2006;131: 1743-1751.
9. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. Long-term efficacy and safety of adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2008;48:750-758.
10. Marcellin P, Buti M, Krastev Z, et al. Three Years of Tenofovir Disoproxil Fumarate (TDF) Treatment in HBeAg-Negative Patients with Chronic Hepati-

tis B (Study 102). 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2009). Boston. October 30-November 1, 2009. Abstract 481

11. Heathcote J, Gane EJ, De Man RA, et al. Three Years of Tenofovir Disoproxil (TDF) Treatment in HBeAg-Positive Patients (HBeAg+) with Chronic Hepatitis B (Study 103), Preliminary Analysis. 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2009). Boston. October 30-November 1, 2009. Abstract 483
12. Snow-Lampart A, Chappell B, Curtis M. Resistance Surveillance for up to 144 Weeks in HBeAg+ and HBeAg- Hepatitis B Patients Treated with Tenofovir DF Showed No Relationship between Virologic Breakthrough and Emergence of Genotypic Changes in HBV Polymerase. 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2009). Boston. October 30-November 1, 2009. Abstract 480
13. Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside naive patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology* 2009;49:1503-1514.
14. Tenney DJ, Pokornowski KA, Rose RE, et al. Entecavir maintains a high genetic barrier to HBV resistance through 6 years in naive patients. *J Hepatol* 2009;50:S10. Abstract 20

IL TRATTAMENTO A LUNGO TERMINE CON ENTECAVIR IN PAZIENTI NAIVE SI ASSOCIA A TASSI MOLTO BASSI DI RESISTENZA GENOTIPICA

## 9) Quali sono le conseguenze cliniche della farmaco-resistenza?

Inizialmente, quando la viremia è contenuta come nella fase di resistenza genotipica, il danno epatico è marginale. La crescita esponenziale dei virus mutati e della viremia determina un progressivo ed inesorabile aumento dei valori delle ALT (1,2). La resistenza, legata soprattutto all'uso di farmaci poco potenti e a bassa barriera genetica (quali lamivudina o adefovir) rappresenta un problema clinico e virologico importante in quanto determina la perdita di tutti quei benefici accumulati in corso di trattamento: riduce la possibilità di ottenere la *clearance* e la sieroconversione dell'HBeAg e dell'HBsAg, determina riacutizzazioni epatiche che, nei soggetti con fibrosi avanzata possono portare a scompenso e morte, condiziona il peggioramento istologico della malattia epatica fino alla comparsa di cirrosi e dell'epatocarcinoma (3-7). L'effetto negativo della comparsa di farmaco-resistenza è stato dimostrato per la prima volta in modo inequivocabile da Liaw e coll. nei pazienti con fibrosi avanzata in uno studio di confronto tra lamivudina e placebo (7). I pazienti trattati con lamivudina che hanno ottenuto e mantenuto la soppressione virologica presentavano un rischio significativamente più basso di progressione della malattia epatica sia rispetto ai trattati con placebo che ai pazienti che sviluppavano lamivudina-resistenza.

E' altresì noto che la soppressione virologica mantenuta nel tempo permette di ottenere il miglioramento istologico e la regressione della fibrosi e della cirrosi (8-9) (Figura 6).

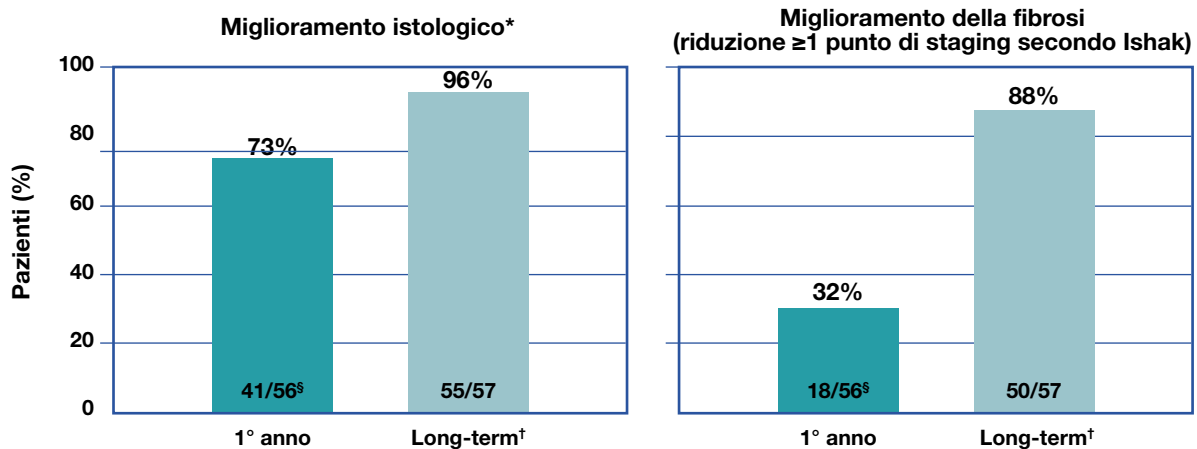
LA SOPPRESSIONE VIROLOGICA MANTENUTA NEL TEMPO CORRELA CON IL MIGLIORAMENTO ISTOLOGICO E LA REGRESSIONE DELLA FIBROSI

## Bibliografia

1. Lok AS, Lai CL, Leung N, et al. *Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology* 2003;125:1714-1722.
2. Papatheodoridis G, Dimou E, Laras A, et al. *Course of virologic breakthroughs under long-term lamivudine in HBeAg-negative precore mutant HBV. Hepatology* 2002;36:219-226.
3. Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV, Dimou E, et al. *Efficacy of long term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. Hepatology* 2000;32:847-851.
4. Di Marco V, Marzano A, Lampertico P, et al. *Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine. Hepatology* 2004;40:883-891.
5. Rizzetto M, Tassopoulos NC, Goldin RD, et al. *Extended lamivudine treatment in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. J Hepatol* 2005;42:173-179.
6. Andreone P, Gramenzi A, Cursaro C, et al. *High risk of hepatocellular carcinoma in anti-HBe positive liver cirrhosis patients developing la-*

6

### MIGLIORAMENTO ISTOLOGICO DURANTE TRATTAMENTO CON ENTECAVIR



\* Riduzione ≥2 punti, rispetto al basale, del grading secondo Knodell in assenza di peggioramento dello staging

§ Un paziente con biopsia inadeguata alla settimana 48. † Tempo mediano della biopsia "long-term": 280 settimane (range: 144-316)

Liaw Y-F, et al. 59th AASLD meeting, Oct 31-Nov 4, 2008, San Francisco USA. Poster 894. *Hepatology* 2008;48:706A



*mivudine resistance. J Viral Hepat* 2004;11:439-442.

7. Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, et al. *Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. NEJM* 2004;351:1521-1531.

8. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. *Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. Gastroenterology* 2006;131(6):1743-51.

9. Liaw J, Chang T, Wu S, et al. *Long-term entecavir therapy results in reversal of fibrosis/cirrhosis and continued histological improvement in patients with HBeAg(+) and (-) chronic hepatitis B: results from studies ETV-022, -027 and -901. Hepatology* 2008;48:706A.

## 10) Quali sono le definizioni della risposta durante il trattamento con analoghi nucleos(t)idici?

Tutti i pazienti sottoposti a terapia con analoghi nucleos(t)idici (NUC) dovrebbero essere strettamente monitorati per la valutazione della risposta virologica e l'eventuale comparsa di breakthrough virologico durante il trattamento (1). L'HBV DNA deve essere controllato ogni 3 mesi durante il trattamento (2), per distinguere tra non risposta primaria, risposta virologica parziale e breakthrough virologico. In accordo con le Linee Guida EASL (3), si definisce:

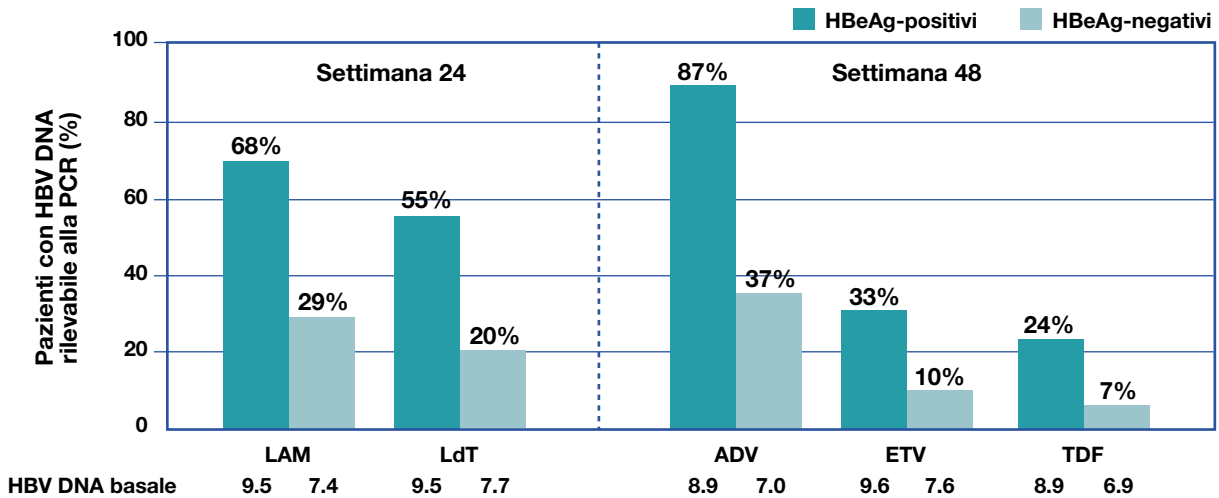
■ **Non risposta primaria:** il mancato ottenimento di una riduzione di almeno 1 log<sub>10</sub> copie/mL (1 log<sub>10</sub> IU/mL) della carica virale dopo 12 settimane di terapia. Ciò può essere dovuto a un problema di *compliance* o al fatto che il farmaco non esercita la sua attività virale in un dato paziente. Con l'uso di farmaci antivirali più potenti, questo fenomeno sembra essere meno frequente, con entecavir è riportato in meno dell'1% dei pazienti (4). Quando si identifica una non risposta primaria il trattamento antivirale dovrebbe essere modificato per prevenire la progressione della malattia e il successivo rischio di insorgenza di mutanti farmaco-resistenti.

UNA RISPOSTA VIROLOGICA PARZIALE PUÒ PORTARE A MODIFICHE DI TRATTAMENTO PER MASSIMIZZARE LA SOPPRESSIONE VIRALE

- **Risposta virologica parziale (PVR):** è la riduzione di HBV DNA di più di un logaritmo, ma con viremia ancora dosabile mediante tecnica PCR, durante terapia continuativa. Una PVR identifica l'elevata probabilità di sviluppare resistenza e richiede pertanto la pronta modifica della terapia in corso. La valutazione deve essere effettuata alla 24<sup>°</sup> settimana di trattamento per farmaci moderatamente potenti o con bassa barriera genetica (lamivudina o telbivudina) e alla 48<sup>°</sup> settimana di trattamento per farmaci molto potenti o con alta barriera genetica e basso tasso di emergenza di mutazioni (entecavir, adefovir, tenofovir) (Figure 7, 8).
- **Resistenza genotipica:** è la presenza di ceppi virali recanti specifiche mutazioni a livello del gene della polimerasi identificabili con tecniche di biologia molecolare, come INNOLIPA e sequenziamento diretto. La resistenza genotipica si verifica senza incremento né della carica virale né delle ALT. Va segnalato che il test INNOLIPA ha caratteristiche di seconda scelta rispetto al sequenziamento effettuato presso laboratori di qualità, a causa della possibile aspecificità dei risultati del test (*rischio di falsi positivi*), e della mancanza di elaborazione di tutte le possibili mutazioni presenti al momento dello sviluppo di resistenza (*rischio di falsi negativi*). La sequenza diretta inoltre garantisce la possibilità di riconoscere eventuali mutazioni nel gene HBsAg, utili anche per capire la potenziale evoluzione della malattia in caso di sviluppo di *escape-mutants*. In sostanza, il sequenziamento diretto rappresenta la metodica di scelta, che andrà lentamente a soppiantare le metodiche basate sul riconoscimento di mutazioni preordinate (come l'INNOLIPA), esattamente così come è già avvenuto circa 10 anni fa nel caso dello studio delle resistenze ad HIV.
- **Resistenza virologica:** è l'aumento di almeno un log dell'HBV DNA rispetto al nadir, confermato in due prelievi successivi a distanza di un mese in un paziente aderente alla terapia. La maggior causa di comparsa di resistenza virologica ai NUC risiede in prima istanza nella carica virale molto alta all'inizio della terapia (tipica di molti pazienti HBeAg-positivi), e, a seguire, nella scarsa aderenza al trattamento. Questi due fattori, insieme o anche separati, possono favorire la selezione di varianti virali farmaco-resistenti. La conferma della farmaco-resistenza si basa sulla dimostrazione delle specifiche mutazioni. A seconda del profilo di mutazione selezionato dal farmaco, l'aumento della carica virale può essere lento, rendendo difficile la diagnosi del breakthrough. Solitamente il breakthrough virologico fa seguito alla resistenza genotipica.

RISPOSTA VIROLOGICA PARZIALE  
AGLI ANALOGHI NUCLEOS(T)IDICI

7



Adattato da Lampertico P, J Hepatology 2009

■ **Resistenza clinica:** è la fase successiva alla resistenza virologica, qualora non vengano adottate terapie di *rescue*, ed è caratterizzata anche dall'incremento dei livelli delle ALT.

Nei pazienti in terapia con NUC che presentano non risposta primaria e risposta virologica parziale è raccomandata l'esecuzione di test di resistenza genotipica per guidare le scelte terapeutiche successive.

Bibliografia

1. Lok AS, Zoulim F, Locarnini S, et al. *Antiviral drug-resistant HBV: stan-*

*dardization of nomenclature and assays and recommendations for management. Hepatology 2007;46:254-265.*

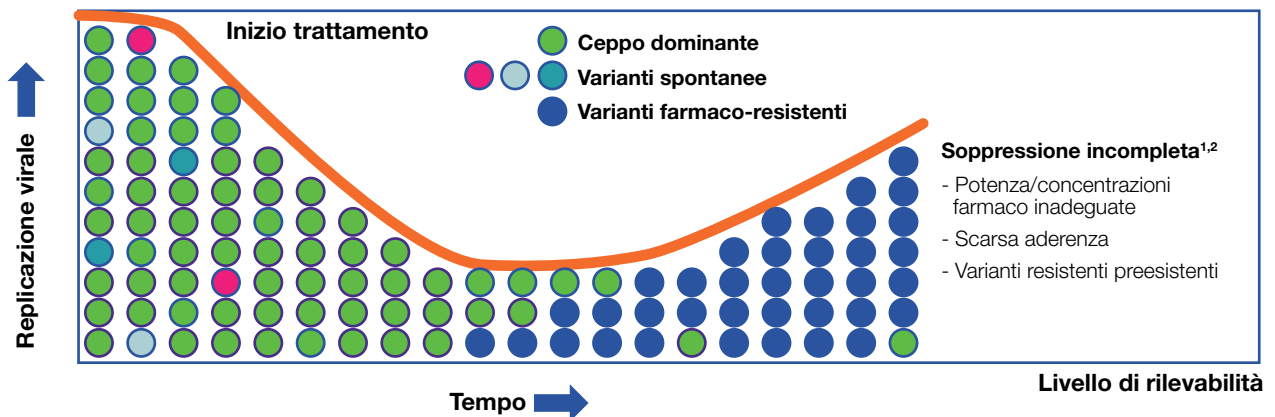
2. Locarnini S, Hatzakis A, Heathcote J, et al. *Management of antiviral resistance in patients with chronic hepatitis B. Antivir Ther 2004;9:679-693.*

3. European Association For The Study Of The Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. J Hepatol 2009;50:227-42.*

4. Lampertico P, Viganò M, Facchetti F, *Entecavir for NUC-naïve chronic hepatitis B patients in clinical practice: long-term effectiveness from a large multicenter cohort study in 376 patients. 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD 2009). Boston. October 30-November 1, 2009. Abstract 220.*

SOPPRESSIONE INCOMPLETA DELLA REPLICAZIONE VIRALE

8



1. Fung SK & Lok ASF. *Antivir Ther 2004; 9:1013-1026*  
 2. Locarnini S, et al. *Antivir Ther 2004; 9:679-693*

L'ELEVATO TASSO DI RISPOSTA VIROLOGICA CON ENTECAVIR SI MANTIENE NEL TEMPO ANCHE IN CONDIZIONI DI PRATICA CLINICA

### 11) Come incide la risposta virologica parziale sullo sviluppo della resistenza?

La risposta alla 24° settimana di terapia è risultata essere un fattore predittivo di resistenza nei pazienti trattati con telbivudina o lamivudina (1,2). I tassi più elevati di resistenza a 2 anni si osservavano tra coloro i quali avevano una carica virale alla settimana 24° >1000 copie/mL (circa 200 UI/mL) rispetto ai pazienti con una minore carica virale allo stesso tempo. Anche con adefovir la carica virale residua alla 48° settimana di trattamento può essere usata per prevedere la resistenza ad adefovir; coloro i quali avevano livelli di HBV DNA superiore a 1000 copie/mL dopo 48 settimane di terapia avevano un rischio più elevato di sviluppare resistenza

ad adefovir a 5 anni (3). Pertanto, il persistere della bassa viremia o di una stabilità della stessa dovrebbe portare a modifiche del trattamento per massimizzare la soppressione virale e ridurre al minimo il rischio di resistenza (4).

Con entecavir e tenofovir, il tasso di risposta virologica è molto più elevato ed inoltre aumenta negli anni successivi di trattamento e, nel caso di entecavir, è stato confermato anche in condizioni di pratica clinica quotidiana (5) (Figura 9). Pertanto le modalità di adattamento della terapia dipendono dalla cinetica di riduzione della carica virale, soprattutto nei pazienti che al basale hanno una carica virale molto elevata, in cui potrebbero essere necessarie ulteriori settimane di terapia per raggiungere la negativizzazione della viremia.

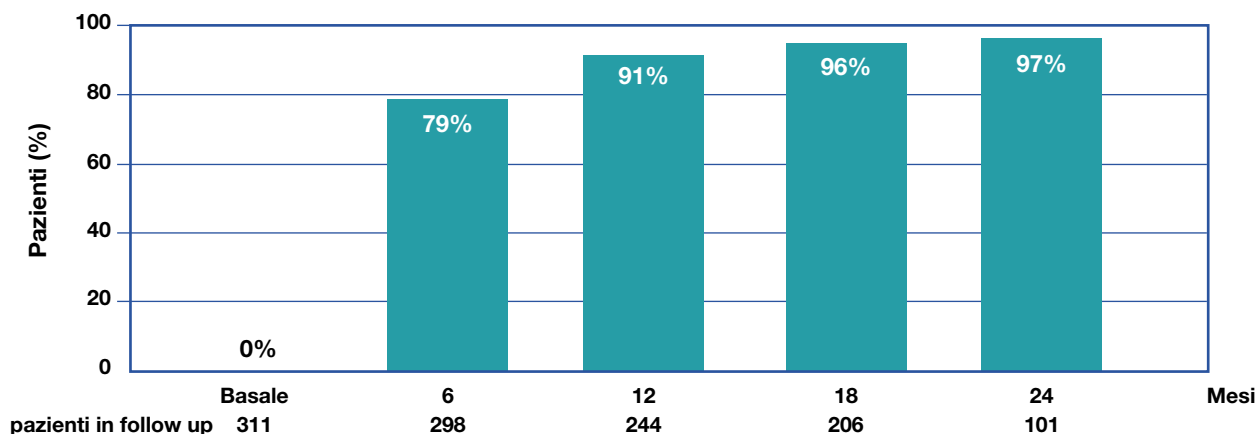
### Bibliografia

1. Lai CL, Gane E, Liaw YF, et al. *Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. N Engl J Med 2007;357:2576–2588.*
2. Liaw YF, Gane E, Leung N, et al. *2-Year GLOBE trial results: telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B. Gastroenterology 2009;136:486–495.*
3. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. *Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. Gastroenterology 2006;131: 1743–1751.*
4. Keeffe EB, Zeuzem S, Koff RS, et al. *Report of an international workshop: roadmap for management of patients receiving oral therapy for chronic hepatitis B. Clin Gastroenterol Hepatol 2007;5:890–897.*
5. Lampertico P, Viganò M, Facchetti F, et al. *Effectiveness of entecavir for NUC naïve, HBeAg negative chronic hepatitis B patients in clinical practice: a 2 years multicenter cohort study in 311 patients. EASL 2010*

PAZIENTI HBeAg NEGATIVI: EFFICACIA DI ENTECAVIR NELLA PRATICA CLINICA. STUDIO MULTICENTRICO DI COORTE (PZ=311)

9

#### Risposta virologica nei 2 anni di studio (HBV DNA <12 IU/mL)



2 (0.6%) pazienti hanno avuto una non risposta primaria alla settimana 12

Lampertico P et al. EASL 2010

## 12) Come viene effettuata la diagnosi di resistenza?

La misurazione periodica della carica virale con metodiche sufficientemente sensibili (limite di sensibilità 12-15 UI/ml) in grado di cogliere minimi incrementi della viremia è indispensabile per identificare precocemente la comparsa di farmaco-resistenza. Infatti, quasi tutti i casi di resistenza ai NUC possono essere inizialmente identificati dall'aumento sostenuto della carica virale che si verifica pur continuando la terapia antivirale. Il riscontro di positività dell'HBV DNA dopo un'iniziale

clearance, in un soggetto aderente alla terapia, o un incremento della viremia di almeno un logaritmo rispetto al nadir deve pertanto rappresentare un campanello d'allarme per verificare tramite test di resistenza genotipica la presenza di ceppi virali farmaco-resistenti (Figura 10). La comunità scientifica è concorde sull'impostare il nuovo regime terapeutico sulla base delle mutazioni riscontrate tramite test genotipico. Questo test si configura pertanto uno strumento essenziale per la gestione del paziente con epatite B cronica in fallimento terapeutico.

## Bibliografia

1. Zoulim F and Locarnini S. Hepatitis B virus resistance to nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterology* 2009;137:1593-1608

LA MISURAZIONE PERIODICA DELL'HBV DNA E L'USO DEL TEST DI RESISTENZA GENOTIPICO SONO INDISPENSABILI PER IDENTIFICARE LO SVILUPPO DI RESISTENZA

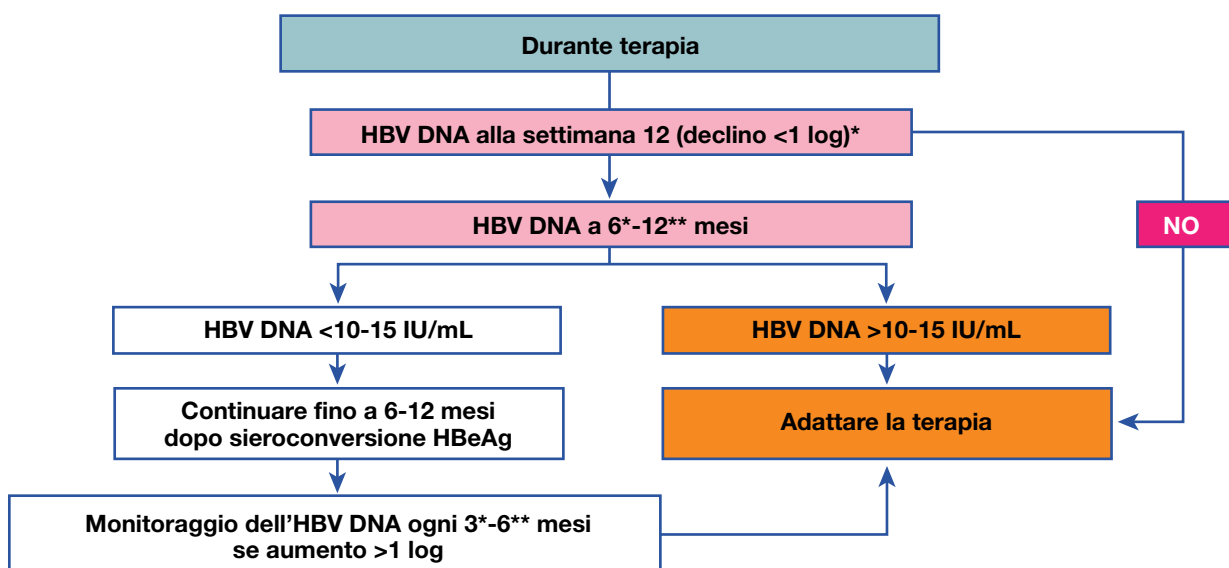
## 13) E' possibile evitare la comparsa della resistenza ai NUC?

L'insorgenza della farmaco-resistenza può essere evitata attraverso la soppressione rapida e duratura della carica virale. Tale paradigma può essere raggiunto solo attraverso l'uso di farmaci potenti e ad alta barriera genetica, e attraverso l'uso di test diagnostici quali il test di resistenza che possono guidare il clinico nella selezione dei farmaci attivi.

La selezione dei pazienti da trattare con i NUC implica un'attenta valutazione di ogni singolo paziente, in ter-

10

### ALGORITMO DI TRATTAMENTO CON NUC DURANTE TERAPIA



\* Bassa barriera genetica (LAM, TBV)

\*\* Elevata barriera genetica (ETV, TDF)

mini di età, gravità della malattia epatica, farmaci concomitanti e morbilità, nonché durata prevista della terapia, carica virale al basale.

Bisogna inoltre evitare trattamenti non necessari (pazienti con transaminasi normali, alta viremia e assenza di segni istologici di malattia), educare il paziente alla *compliance*, effettuare il controllo periodico della viremia per monitorare la risposta e modificare prontamente la terapia qualora questa non sia ottimale evitando di lasciar proseguire il virus verso la resistenza clinica conclamata.

UNA BUONA ADERENZA AL TRATTAMENTO, GARANTENDO IL MANTENIMENTO DELLA SOPPRESSIONE VIRALE, PREVIENE LO SVILUPPO DI MUTAZIONI DI RESISTENZA

### Bibliografia

1. European Association for the Study of the Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B. J Hepatol* 2009;50:227-42.

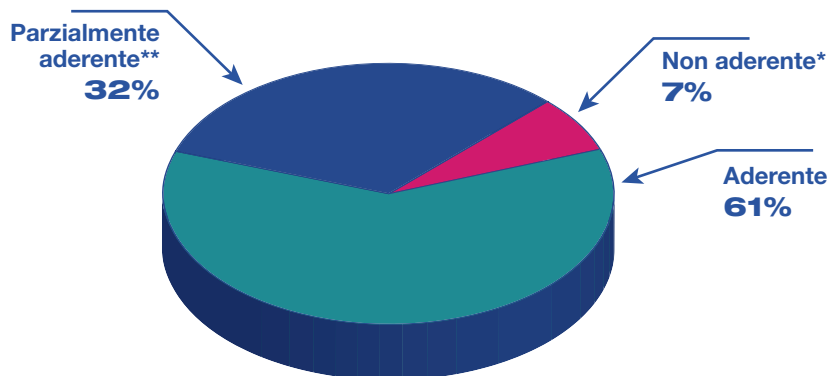
### 14) Quanto influisce la compliance/aderenza del paziente sul mantenimento della soppressione virologica?

L'aderenza al trattamento è fondamentale per il raggiungimento del successo terapeutico con analoghi nucleos(t)idici; un ruolo ampiamente recepito della linee guida che individuano nella scarsa aderenza la causa di breakthrough virologico alla terapia e di successiva selezione di ceppi farmaco-resistenti. Per questo motivo, accanto all'utilizzo di farmaci potenti ad elevata barriera genetica, raccomandano di rinforzare la *compliance* del paziente (1,2).

E' stato stabilito che un'aderenza al trattamento superiore al 90%, favorita anche dall'impiego di farmaci ben tollerati, assicura un'adeguata esposizione ai NUC, garantisce la rapida e duratura soppressione virale, previene lo sviluppo di mutazioni e di resistenza e quindi non pregiudica l'impiego di eventuali successive linee di terapia. Recentemente uno studio francese ha valutato l'aderenza agli analoghi nucleos(t)idici in condizioni di pratica clinica reale.

### 1 1 ADERENZA ALLA TERAPIA PER L'EPATITE CRONICA B CON ANALOGHI NUCLEOS(T)IDICI

- Studio di coorte monocentrico 190 pazienti trattati da almeno 3 mesi con NUC e seguiti per un periodo di follow up mediano di 58 mesi
- Questionario autosomministrato per la valutazione dell'aderenza
- 39% dei pazienti non aderenti



\*Aderenza <80%  
\*\*Aderenza 80-99%

Il 39% della coorte di 190 pazienti trattati è risultato non aderente al trattamento.

La non aderenza si associava a una riduzione dell'80% delle probabilità di soppressione virale; la non aderenza, livelli elevati di HBV DNA al basale e il mancato *switch* a farmaci antivirali più potenti erano i fattori associati al persistere di una carica virale >12 UI/mL (3,4) (Figura 11).

## Bibliografia

1. European Association for the Study of the Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B*. *J Hepatol* 2009;50:227-42.
2. Lok AS, McMahon BJ. *Chronic hepatitis B: update 2009*. *Hepatology* 2007;45(2):507-39 *Hepatology* 2009;50(3):661-2.
3. Sogni P, et al. *Adherence to anti-HBV analogues in clinical practice is associated with virological efficacy and depends on the duration of treatments and the physician's experience*. *EASL 2010*.
4. Sogni P, et al. *Self-report (sr) and visual analogue scale (VAS) for adherence to analogues in HBV treated patients: prospective evaluation in a mono-centric cohort study*. *Hepatology* 2009;50-S4:501A.

## 15) Come gestire la comparsa di resistenza agli analoghi?

In caso di resistenza o di risposta virologica parziale ai NUC, è possibile aggiungere precocemente un secondo farmaco con diverso profilo di farmaco-resistenza, oppure sostituire il farmaco fallito con un altro privo di cross-resistenza. Il secondo farmaco deve essere scelto sulla base dei profili di resistenza evidenziati dal test genotipico, e deve essere aggiunto durante la fase di resistenza genotipica. Ciò è di fondamentale importanza per garantire il successo della terapia di *rescue*.

L'aggiunta del secondo farmaco nella fase della resistenza genotipica offre migliori possibilità di ottenere rapidamente una permanente soppressione della replicazione, poiché i ceppi virali mutati non hanno ancora le mutazioni compensatorie, e di evitare i *flare* epatitici che nei pazienti cirrotici possono indurre lo scompenso epatico. Al contrario, l'aggiunta del farmaco al momento della resistenza clinica ha elevate probabilità di limitarsi ad una risposta virologica parziale (1,2).

## Bibliografia

1. European Association For The Study Of The Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B*. *J Hepatol* 2009;50:227-42.
2. Locarnini S and Omata M. *Molecular virology of hepatitis B virus and the development of antiviral drug resistance*. *Liv Int* 2006;26:11-22.

L'AGGIUNTA PRECOCE DI UN SECONDO FARMACO NELLA FASE DI RESISTENZA GENOTIPICA CONSENTE DI OTTENERE UNA SOPPRESSIONE VIRALE A LUNGO TERMINE

## 16) Come scegliere il farmaco per la *rescue*?

Nel contesto di un terapia di salvataggio, il farmaco da inserire nel regime terapeutico deve essere scelto sulla base dei profili di resistenza/cross-resistenza evidenziato dal test genotipico.

In particolare, le linee guida indicano le seguenti opzioni terapeutiche, sempre tenendo presente che esse sono legate all'impostazione di scelte effettuate spesso senza disponibilità di test di resistenza:

- Fallimento a LAM: aggiunta TDF (aggiungere ADV se TDF non disponibile);
- Fallimento ad ADV: si consiglia di passare ad entecavir, o a TDF se disponibile (sempre che non sussistano mutazioni conferenti gradi anche intermedi di cross-resistenza a tenofovir);
- Fallimento a ETV: si consiglia di aggiungere TDF;
- Fallimento a TDF: la resistenza primaria a TDF non è stata finora confermata.

Si raccomanda la genotipizzazione e fenotipizzazione per determinare il profilo di resistenza crociata.

ETV, LdT, LAM o emtricitabina potrebbero essere aggiunti in funzione del profilo di resistenza.

Nella pratica clinica, l'uso del farmaco di *rescue* andrebbe *sempre* scelto sulla base di un test di resistenza adeguatamente eseguito e interpretato, evitando, ovunque possibile, scelte empiriche legate a criteri generali che potrebbero non applicarsi al singolo e specifico paziente.

## Bibliografia

1. European Association for the Study of the Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B*. *J Hepatol* 2009;50:227-42.



## 17) La terapia di combinazione, quale futuro?

Ad oggi non esiste alcuna evidenza che la terapia di combinazione, nei pazienti *naïve* al trattamento, abbia un'efficacia superiore rispetto alla monoterapia con farmaci potenti e con alta barriera alla resistenza. Sebbene siano in corso studi per valutare i potenziali benefici della combinazione, in termini di efficacia e di riduzione del rischio di resistenza, in questo momento le attuali linee guida non raccomandano la terapia di combinazione in prima linea (1). In pazienti *drug-naïve*, le linee guida raccomandano di utilizzare monoterapie con farmaci potenti ad alta barriera genetica quali entecavir o tenofovir. Lo studio che ha valutato l'efficacia della combinazione lamivudina+adefovir versus lamivudina in monoterapia per 2 anni nei pazienti HBeAg-positivi ha fornito risultati simili in termini di risposta virologica, sierologica e biochimica, ma tassi di lamivudino-resistenza significativamente più bassi nel gruppo trattato con la combinazione lamivudina+adefovir (2).

In analogia con gli studi nei pazienti HIV, la combinazione *de novo* potrebbe rappresentare un approccio alternativo per i pazienti altamente viremici, o con complicazioni gravi quali la cirrosi, per aumentare l'efficacia antivirale e ridurre il rischio di resistenza.

NON CI SONO EVIDENZE CHE LA TERAPIA DI COMBINAZIONE SIA SUPERIORE ALLA MONOTERAPIA CON FARMACI POTENTI E AD ALTA BARRIERA GENETICA

### Bibliografia

1. European Association for the Study of the Liver. *EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B*. *J Hepatol* 2009;50:227-42.
2. Sung JJ, Lai JY, Zeuzem S, et al. *Lamivudine compared with lamivudine and adefovir dipivoxil for the treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B*. *J Hepatol* 2008;48:728-735.





Depositato c/o Agenzia Italiana del Farmaco in data 19/10/2010

cod. L2642

Con il contributo educativo di



**Bristol-Myers Squibb**