

Caracterización genotípica y funcional de mutaciones en el dominio retrotranscriptasa del gen P del virus de la hepatitis B, en pacientes coinfectados con el virus de la inmunodeficiencia humana que reciben antirretrovirales.

Andrés Felipe Castro-Tobón^{1,2}, Tania Liseth Pérez-Cala¹,
Alonso Martínez¹, Henry Bautista-Amoroch^{1,2}

PRESENTACIÓN

Las muertes asociadas al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) por infección con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) disminuyeron desde la introducción de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA); sin embargo, las muertes por comorbilidades aún son elevadas. El virus de la hepatitis B (VHB) y el VIH comparten factores de riesgo y rutas de transmisión; haciendo la prevalencia de coinfección frecuente, con cerca del 7,4% de la población VIH conviviendo con VHB, convirtiendo al VHB en una de las principales causas de morbimortalidad en estos pacientes. Buscando disminuir las complicaciones hepáticas causadas por la hepatitis B crónica, se recomienda el uso de TARGA con actividad dual, con base en que ambos virus poseen polimerasas con actividad retrotranscriptasa (RT), donde el centro catalítico de estas comparte homología entre los dos virus y es el blanco de los inhibidores núcleos(t)idos de la transcriptasa reversa (INTR) usados en TARGA.

RESUMEN

Planteamiento del problema: el tratamiento recomendado para la coinfección VIH/VHB tiene como columna vertebral el uso de tenofovir, el cual presenta alta barrera genética al desarrollo de mutaciones de resistencia^(5,6). El uso de lamivudina, telbivudina y adefovir en TARGA no se aconseja porque genera re-

sistencia cruzada frente a otros INTR, complicando el manejo de la coinfección. En Colombia, por razones de costo-efectividad, lamivudina es el principal INTR utilizado contra el VIH, encontrándose en el 52% de los esquemas TARGA. En ocasiones, las fallas terapéuticas no se explican por mutaciones conocidas, planteando la existencia de otras sin identificar o caracterizar su función. Actualmente, el uso de la bioinformática en el modelado de proteínas y acoplamiento molecular es útil para aproximarse a la caracterización funcional de nuevas mutaciones, conduciendo a ensayos fenotípicos dirigidos hacia las mutaciones con mayor potencial de generar resistencia. En Colombia, se desconoce a la fecha el impacto de TARGA sobre la variabilidad genética del VHB en pacientes con VIH. Por esta razón, es importante determinar las mutaciones de resistencia que conllevan a la falla terapéutica en coinfectados, para comprender mejor la enfermedad y realizar un adecuado manejo clínico, con el objetivo de mejorar la calidad de vida del paciente y reducir costos al sistema de salud.

Objetivo general: caracterizar genotípica y funcionalmente mutaciones en el dominio retrotranscriptasa del VHB en coinfectados con VIH que reciben TARGA.

Metodología: estudio descriptivo transversal en 400 sueros obtenidos de pacientes con VIH en tratamiento con INTR en Santander; divididos en: grupo 1 = 200 muestras recolectadas entre 2009-2010 y grupo 2 = otras 200 recolectadas en 2020. Técnicas para concentrar las muestras como el uso de PEG 6000 o ultracentrifugación fueron evaluados, así como distintas metodologías de extracción de ácidos nucleicos como columnas de sílice, perlas magnéticas o fenol-cloroformo. La detección del VHB se realizó mediante PCR anidada casera de la región RT del gen P. Los fragmentos amplificados se secuenciaron para identificar mutaciones asociadas con resistencia al tratamiento, así como los genotipos y subgenotipos mediante análisis filogenético. Diferentes metodologías *in silico* de modelado de proteínas se utilizaron para construir un modelo del centro catalítico de la polimerasa del VHB.

Resultados preliminares: la región RT del VHB se secuenció en 7/200 muestras (3,5 %) del grupo 1 – pa-

¹ Universidad de Antioquia (UdeA), Facultad de Medicina, Grupo Bacterias & Cáncer, Medellín, Antioquia, Colombia.

² Universidad de Santander (UDES), Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Grupo de Investigación en Manejo Clínico - CINIUDES, Bucaramanga, Santander, Colombia.

Autor de correspondencia: Henry Bautista Amoroch; henrybau33@gmail.com

Financiación: Colciencias, convocatoria 777-2017, proyecto 129977757637.

cientes en TARGA que incluía lamivudina; de estas, 6/7 portaban mutaciones de resistencia a INTR. Tres muestras tenían el mismo patrón de mutación (rtL80I, rtL180M, rtM204V) y las otras tres, patrones de mutación únicos (rtL80I, rtL180M, M204V, M250R), (L180M, A194V, M204V) y (rtL80I, L180M, M204A, M250R). Las mutaciones encontradas han sido registradas como causa de resistencia cruzada a lamivudina, telbivudina y entecavir. Aunque 4/7 muestras (57,1 %) eran HBsAg (-), ninguna de las cepas aisladas del VHB presentó mutaciones de escape en el gen S y todas pertenecieron al genotipo F. Las muestras del grupo 2 se encuentran en proceso de extracción de ADN. La concentración de muestras de suero con PEG 6000, combinada con la extracción de ácidos nucleicos mediante columnas de sílice, proporciona el mejor rendimiento y pureza. Utilizando bioinformática y con base en la estructura cristalográfica de la RT del VIH se construyó un modelo por homología del sitio de unión a nucleótidos de la polimerasa del VHB. Con este modelo se evaluará, mediante acoplamiento molecular y/o dinámica molecular, el efecto de los patrones de mutación identificados con relación a la afinidad de los diferentes INTR usados en la terapia.

Conclusión preliminar: en el nororiente de Colombia (Bucaramanga), los pacientes VIH coinfectados con VHB presentan alta tasa de mutaciones en la región retrotranscriptasa del VHB, asociadas con resistencia a INTR usados en la terapia.

PALABRAS CLAVE

Coinfección, Virus De La Hepatitis B, Virus De Inmunodeficiencia Humana, Terapia Antirretroviral Altamente Activa, Resistencia A Medicamentos.

KEY WORDS

Coinfection; Human Immunodeficiency Virus; Hepatitis B Virus, Highly Active Antiretroviral Therapy, Drug Resistance

BIBLIOGRAFÍA

1. Fettig J, Swaminathan M, Murrill CS, Kaplan JE. Global epidemiology of HIV. *Infect Dis Clin North Am* [Internet]. 2014;28(3):323-37.
2. World Health Organization. Global hepatitis report, 2017. Global Hepatitis Programme [Internet]. WHO. 2017 [citado 7 de enero de 2020].
3. Singh KP, Crane M, Audsley J, Avihingsanon A, Sasadeusz J, Lewin SR. HIV-hepatitis B virus coinfection: Epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Aids* [Internet]. 2017;31(15):2035-52.
4. Sharon A, Chu CK. Understanding the molecular basis of HBV drug resistance by molecular modeling. *Antiviral Res* [Internet]. 2008;80(3):339-53.
5. Álvarez C, Martínez E. Guía de práctica clínica (GPC) basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH/Sida en adolescentes (con 13 años de edad o más) y adultos. *Minist Salud y Protección Soc.* 2014;46-7.
6. Ministerio de Salud y Protección Social. Guía de práctica clínica sobre diagnóstico y tratamiento de Hepatitis B Crónica. 2016;19.
7. CAC. Situación del VIH Sida en Colombia 2019. Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo. Colombia: Cuenta de Alto Costo; 2020. 1-160 p.
8. Kim KH, Kim ND, Seong BL. Discovery and development of anti-HBV agents and their resistance. *Molecules* [Internet]. 2010/08/31. 2010;15(9):5878-908.