

**FACTORES PRONOSTICOS AL DESARROLLO DE MUTACIONES
RELACIONADAS CON RESISTENCIA ANTIRETROVIRAL SECUNDARIA
EN PACIENTES COLOMBIANOS VIVIENDO CON VIH**

Jorge Augusto Montes Ramírez, Otto Alberto Sussmann Peña

Universidad del Rosario – Facultad de Medicina

**Universidad del Rosario - Escuela de Medicina y ciencias de la salud
Facultad de Medicina**

Asistencia Científica de alta complejidad (ACAC)

Investigación de Postgrado

Investigador Principal: Jorge Augusto Montes Ramírez

Asesor temático: Otto Alberto Sussmann Peña

Asesor metodológico y estadístico: Oscar Mauricio Pérez Fernández

La Universidad del Rosario no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia

Agradezco a Alexandra Cheque su colaboración en el estudio, a los trabajadores de Asistencia Científica de Alta complejidad (ACAC) y principalmente a los pacientes que aportaron sus datos

Este trabajo está dedicado a las personas que padecen y deben soportar la condición de estar infectados por el Virus de inmunodeficiencia humana adquirida, y seguir adelante en su vida.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen (español-ingles)	7
Introducción.....	8
Problema a tratar/justificación.....	8
Marco Teórico.....	10
Mutaciones relacionadas con resistencia ARV.....	17
Objetivos del estudio.....	18
Formulación de Hipótesis.....	18
Metodología del estudio.....	18
Resultados.....	20
Discusión.....	28
Conclusiones.....	29
Bibliografía.....	30

RESUMEN

Las mutaciones secundarias de resistencia al manejo antiretroviral es una realidad, y determina el éxito o fracaso del manejo del VIH. En Colombia, los casos de resistencia asociadas a mutaciones han aumentado. Para determinar esta condición en nuestra población, se realiza un estudio de tipo casos y controles, en pacientes VIH manejados en una IPS especializada en manejo y seguimiento de la enfermedad. Toman 71 pacientes con fracaso terapéutico por resistencia antiretroviral, y se documentaron las mutaciones confirmadas con Genotipo, pacientes que han manejado los diferentes esquemas antirretrovirales, y se comparan con pacientes controles que no desarrollaron resistencia a pesar de haber recibido un manejo antiretroviral similar e iniciado al mismo tiempo. Se busca evidenciar factores predictivos para controlar presencia de estas mutaciones a futuro. El estudio encontró que en ambos grupos, no existen diferencias significativas en cuanto a género, preferencia sexual, uso de psicoactivos, nivel social y las etapas de la enfermedad clasificadas según CDC. Observando que los pacientes con resistencia al tratamiento, eran más jóvenes que los controles (OR: 0,891; $p > 0,001$), y con una menor carga viral al momento del diagnóstico. La adecuada adherencia al tratamiento, se mostró como un factor protector al desarrollo de resistencia (OR: 0,030, $p < 0,000$). Se evidencia que existe mayor riesgo de generación de mutaciones en pacientes jóvenes. Respecto a los tipos de mutaciones evidenciadas por genotipos, se describen múltiples mutaciones, observando mutaciones para inhibidores de la transcriptasa reversa nucleosidos (33 mutaciones) y no nucleosidos (32 mutaciones), principalmente M184V en INTR (81%) y K103N en INNTR (40%), mutaciones para inhibidores de proteasa (57 mutaciones), principalmente L24I (40%); esta prevalencia de mutaciones son similares a estudios realizados y descritos en la literatura médica (1)

ABSTRACT

The secondary resistance mutations to antiretroviral management is a reality, and determines the success or failure of management of HIV. In Colombia, cases associated resistance mutations have increased. To determine this condition in our population, a study of case-control is performed in HIV patients managed in a specialized management and disease monitoring IPS. They take 71 patients with antiretroviral treatment failure for resistance, and mutations confirmed by genotype, patients who have handled different antiretroviral schemes were documented and compared with control patients who did not develop resistance despite having received a similar antiretroviral management and initiated the same time. It seeks to demonstrate predictive factors for controlling presence of these mutations in the future. The study found that in both groups, no significant differences in gender, sexual preference, use of psychoactive, social levels and stages of the disease classified according to CDC. Noting that patients with resistance to treatment, were younger than controls (OR: 0.891; $p > 0.001$) and with a lower viral load at diagnosis. Proper adherence to treatment, showed himself a protector to the development of resistance (OR: 0.030, $p < 0.000$) factor. It is evident that there is a greater risk of generating mutations in young patients. Regarding the types of mutations evidenced by genotypes, multiple mutations are described, having mutations to nucleoside inhibitors of reverse transcriptase (33 mutations) and non-nucleoside (32 mutations) in INTR M184V mainly (81%) and K103N in NNRTIs (40 %), protease inhibitors mutations (57 mutations), L24I mainly (40%); This prevalence of mutations are similar to studies conducted and described in the literature (1)

INTRODUCCION

El problema actual en los pacientes viviendo con el Virus de Inmunodeficiencia humana (34 millones de personas a nivel mundial), es el surgimiento de la resistencia a los antiretrovirales, y se están presentando tanto en los pacientes que nunca han sido tratados (resistencia primaria) como en pacientes expuestos previamente a los esquemas ARV (resistencia secundaria). El problema para suprimir completamente la replicación viral podría permitir el desarrollo de cambios genotípicos en el VIH. A nivel mundial su prevalencia crece, con datos que muestran en Europa y Norteamérica reportando índices de resistencia primaria entre 3% y 29%.(2) En estas regiones, se ha recomendado realizar genotipo antes de iniciar el tratamiento ARV para evaluar la resistencia a los pacientes *naive*. La mayoría de los países de Europa y Norteamérica, recomiendan por guías realizar pruebas de resistencia previo al inicio del manejo antiretroviral (2). En Latinoamérica se ha descrito la prevalencia de resistencia en pacientes *naive*, con resultados que muestran cifras variables. De acuerdo a esto, se documenta resistencia en el Caribe 3.9%, México 3.9%, Brasil 9.4%, región andina 10.5% y cono sur 4.9% (3). Hay varios factores que contribuyen a la aparición de resistencia por causas como: variabilidad genética, latencia y reactivación, adaptación a puertas de entrada, infección de reservorios, junto a una inadecuada supresión viral (adherencia, farmacocinética) y uso de monoterapia y biterapia previos se asocian con la aparición de la resistencia a cada una de las clases de medicamentos antiretrovirales, en especial las tres principales clases de antirretrovirales disponibles (INTR, INNTR, IP) (1). El surgimiento de resistencia a los antiretrovirales ha comprometido la respuesta clínica y virológica. La distribución geográfica de la resistencia se presenta como resultado de la transmisión de virus resistente. Los índices de resistencia primaria son importantes en Estados Unidos y Europa, probablemente debido a que han tenido acceso por más tiempo a los ARV y se ha encontrado que las mutaciones más frecuentes son M184V - T215, mutaciones asociadas a Timidínicos (TAM's) para Inhibidores de transcriptasa reversa, adicionalmente se encuentra descripción de las mutaciones K103N y Y181C para los Inhibidores No Nucleosidos de Transcriptasa Reversa (INNTR), y para el grupo de Inhibidores de Proteasas-IP (4). En Latinoamérica, los estudios realizados en este contexto, son heterogéneos, motivo por el cual es difícil el análisis sistemático de la frecuencia de resistencia primaria. En Colombia, la resistencia secundaria antirretrovirales solo ha sido estudiada de forma descriptiva y observaciones de resistencia secundaria, los cuales han evidenciado frecuencias de resistencia a los INNTR del 45,6% con la K103N, en los ITRN con la M184V (35%) y los IP con la L63P (33,85%) , M36I (7,8%), V77I (14,17%) y A61T (8,61%); el 80% de estos pacientes tuvieron resistencia múltiple (5), sin embargo no han sido valorados, las posibles causas desencadenantes en nuestro país. El objetivo de este estudio es identificar factores pronósticos que pueden contribuir al desarrollo de estas mutaciones en pacientes que toman antirretrovirales, es decir resistencia secundaria, por lo cual es necesario identificar estos factores para lograr una intervención temprana.

Problema de estudio

Falla del tratamiento antiretroviral en los pacientes viviendo con VIH, debido a la presencia de resistencia al manejo antiretroviral en pacientes que han recibido medicamentos antiretrovirales previamente

Justificación o relevancia del proyecto:

Dado el aumento progresivo de mutaciones asociadas a la resistencia al manejo antiretroviral, es necesario tener la posibilidad de identificar factores que pueden estar relacionados con el desarrollo de resistencia secundaria al tratamiento antiretroviral, y poder intervenir de forma temprana en aquellos pacientes susceptibles de desarrollar mutaciones que generen resistencia antiretroviral.

- **Conveniencia:** El estudio conviene a la población con VIH que recibe tratamiento antiretroviral, y sirve para identificar elementos pronósticos que desencadenaran resistencia al futuro.
- **Relevancia Social:** El estudio será muy beneficioso, dado que hay una importante cantidad de pacientes con VIH y que reciben tratamiento antirretroviral (60% de 34 millones (6)), por lo cual este estudio será útil y práctico para la población viviendo con VIH y que reciben manejo antiretroviral (Colombia presenta 150.000 de infectados, 60% están en tratamiento ARV)
- **Valor teórico:** El estudio servirá para conocer y dar algunas ideas para quienes manejan esta enfermedad en nuestra población en Bogotá y Colombia, ya que a nivel nacional no hay descripción de los factores predictivos que puedan ser intervenidos tempranamente, y no desarrollar mutaciones que se asocian a resistencia del virus al manejo antiretroviral.

Revisión por comité de ética

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética para Investigación de la Universidad del Rosario y la entidad Asistencia Científica de alta complejidad (ACAC), donde se realizó el estudio.

Palabras Claves

HIV, resistencia primaria a drogas antirretrovirales, falla virológica, resistencia secundaria.

MARCO TEORICO

La resistencia a los antirretrovirales (ARV), así como la resistencia a antibióticos, es una respuesta natural de los microorganismos, ante la agresión que representa la presencia de un medicamento el cual ejerce una presión selectiva derivando en la presencia de virus con mutaciones que confieren al virus una ventaja al ser seleccionado por el medicamento y permitir su supervivencia. Este fenómeno es la causa principal de falla virológica a la terapia ARV, y se ha visto su relación con la pobre adherencia o baja potencia del régimen ARV utilizado. Así mismo, el uso de regímenes subóptimos a causa de limitaciones económicas o suplencia irregular de los medicamentos,

La implicación de aparición de resistencia a ARV puede ser considerada desde 2 perspectivas: A nivel individual, su mayor y obvia consecuencia es la respuesta inadecuada a la terapia instaurada y posiblemente a terapias siguientes, y la segunda perspectiva, causadas por la potencial transmisión de virus resistentes entre personas, lo cual se ha convertido en un problema de salud pública (7)

Desde la introducción de Zidovudina en 1985, el primer reporte de resistencia en aislamientos clínicos se presentó en 1989. Desde esa época y permanentemente hay reporte de resistencia a todos los ARV, incluyendo los más novedosos. Estudios recientes muestran que la resistencia al tratamiento ARV se incrementa con la duración de la terapia y puede haber aumentado en 30-35% en los últimos 6 años. (2)

Se debe considerar la prevalencia de resistencia ARV en pacientes no expuestos previamente a la terapia ARV, a la luz de varios estudios realizados en Norteamérica (2), Europa, África sub-sahariana y algunos países suramericanos (Brasil - Perú y Argentina), los cuales documentaron esta prevalencia en periodos de tiempo comprendidos entre 1996 a 2004 cuyos resultados mostraron prevalencias variables de resistencia que oscilaban entre 3% hasta 26% de acuerdo al país donde fue realizado, tiempo de evaluación y número de pacientes evaluados. (3)

El virus resistente puede ser transmitido, ya que se encuentra en secreciones genitales en el 70% de los pacientes que lo portan, sin embargo se ha reconocido que la tasa de transmisión de la enfermedad, es más baja en estos genotipos, que la causada por un virus salvaje (sin resistencia), y se calcula que puede ser aproximadamente un 20% de lo esperado (7).

Es necesario conocer los mecanismos que pueden llevar a que el virus presente resistencia a cada tipo de esquema ARV. Existen muchos factores asociados a resistencia dentro de los cuales, los más importantes son: Alta tasa de renovación del VIH (<2 Horas), alta tasa de error de la transcriptasa reversa, la tasa de replicación y producción diaria del virus, y manejo parcial con supresión incompleta de la carga viral, asociados a adherencia inadecuada, falta de potencia del fármaco, mala absorción, aspectos fármaco-cinéticos e interacciones medicamentosas. Así mismo de deben tener en cuenta la diferente barrera genética entre los fármacos involucrados en un régimen terapéutico, diferente magnitud en el grado de resistencia conferida por una o varias mutaciones y el estado de la enfermedad del individuo (infección reciente vs infección crónica) (7)

De forma específica, en la resistencia a los análogos nucleosidos y nucleótidos de la TR, se conocen 2 mecanismos responsables de la formación de mutaciones resistentes: Perdida de afinidad en la incorporación del análogo y el fenómeno de Excisión. El primer mecanismo se refiere a la unión disminuida del trifosfato análogo nucleosido o nucleótido, comparada con los dideoxidonucleotidotrifosfatos naturales. Es causada por mutaciones que permiten que la transcriptasa reversa reconozca diferencias entre los inhibidores y los dideoxidonucleotidos, entonces la incorporación de los inhibidores se bloquea a favor de estos últimos. En este grupo se incluyen mutaciones como K65R, M184V, Q151M. En el fenómeno de *Excisión*, en el cual hay eliminación del nucleosido durante el proceso de síntesis de la cadena de ADN, conocido como pirofosforilisis, es el utilizado por las mutaciones asociadas a timidina (TAMs). Esto promueve la aparición de resistencia con la retirada del nucleosido del extremo 3 de la cadena ADN sintetizada. Este proceso es mediado por ATP o pirofosfato. La fosforilisis causa resistencia cruzada entre los inhibidores nucleosidos de TR (AZT d4T ddI 3TC); la eficacia de este proceso puede verse disminuida por la presencia de otras mutaciones como la M184V. Dentro del grupo conocido como TAMs, se incluyen M41L, D67N, K70R, L1210W, T215F y K219Q (4)

Respecto a la resistencia a los análogos no nucleosidos de TR, se tiene en cuenta que estos son compuestos con gran afinidad por el dominio hidrofóbico cercano al centro catalítico de la enzima, provocando un cambio conformacional que impide la polimerización del ADN, y el mecanismo de resistencia en estos ARV (nevirapina, efavirenz, delavirdina) se debe a la pérdida de estas interacciones hidrofóbicas que estabilizan la unión del no análogo con la enzima. Una sola mutación a este nivel puede causar altos grados de resistencia a uno o más de estos fármacos, sin que se afecte la actividad enzimática de forma significativa. Las mutaciones asociadas a los no análogos se encuentran en 3 regiones principales: entre codones 98-108, 179-190 y 225-236 (7)

En la resistencia al grupo de inhibidores de la proteasa, se debe recordar que la proteasa es una enzima que participa en el procesamiento de los precursores poli proteicos gag y gag-pol de las proteínas estructurales y funcionales esenciales para producir el virus maduro. Esta enzima del VIH tiene una gran plasticidad, lo que permite mutar en muchas posiciones sin perder completamente su actividad enzimática. Los IP son moléculas sintéticas que se unen al centro activo de la enzima y compiten con los sustratos naturales. El patrón de mutaciones de los IP se puede clasificar según su localización respecto al centro catalítico en 2 tipos. Las llamadas mutaciones primarias se localizan muy cercanas al centro catalítico, y son específicas del fármaco, y cuando aparecen es necesario un aumento de la dosis del medicamento para poder competir con el sustrato natural. En contraste, las mutaciones que aparecen de forma secundaria o compensatoria se encuentran más alejadas del centro catalítico, y a pesar que por sí solas tienen poca trascendencia en cuanto a resistencias, la acumulación de varias de ellas junto a las primarias, generan variantes víricas altamente resistentes, con una recuperación de su capacidad replicativa. Estas últimas crean las resistencias cruzadas con todos los IP. Adicionalmente se han descrito mutaciones específicas a cada uno de los IP, al igual que un gran número de mutaciones secundarias que incrementan la resistencia a los mismos.(8)

Respecto a la resistencia asociada los ARV inhibidores de fusión, cabe recordar que el VIH entra en la célula diana mediante una serie de interacciones entre las glucoproteínas de la envoltura viral (gp120-gp41), y unos receptores específicos localizados en la superficie de la membrana de las células diana. Este proceso permite la unión y fusión de las membranas celular y viral, y permite la invasión del genoma viral en la célula. La proteína gp41 del virus está formada por las regiones HR1 y HR2 de características hidrofóbicas que permiten la unión del virus a la superficie celular, realizando un proceso llamado gp41 zipping (cremallera) para permitir la fusión. Las alteraciones de esta cadena de procesos se manifiestan en resistencia a los medicamentos Inhibidores de fusión (9)

Al hablar de resistencia a los Antiretrovirales (ARV), es necesario conocer algunos conceptos previamente:

- ***Resistencia Fenotípica y Genotípica***
- ***Fenotipo Virtual***
- ***Resistencia Primaria y secundaria***
- ***Barrera Genética***
- ***Cociente Inhibitorio***
- ***Resistencia cruzada e Hipersusceptibilidad***

La resistencia del Virus de Inmunodeficiencia humana (VIH) a los ARV se define como la replicación viral activa en presencia de niveles terapéuticos de uno o varios medicamentos antiretrovirales.

Resistencia Genotípica: Se refiere a las mutaciones que ocurren en la secuencia del gen blanco de los ARV (Transcriptasa reversa o Proteasa), y que se asocian a mayor capacidad de replicación viral en presencia de uno o más medicamentos ARV (9)

Resistencia Fenotípica: Se refiere a la pérdida de susceptibilidad a un medicamento ARV, en la concentración inhibitoria 50% o 90% (CI₅₀ o CI₉₀, o concentración necesaria para inhibir al 50 o 90% de las cepas probadas), respecto a una cepa no resistente y que se expresa como el aumento de dicha concentración de referencia (9)

Fenotipo Virtual: Resultado de resistencia fenotípica que es generado mediante datos estadísticos de múltiples estudios de correlación entre resistencia genotípica y fenotípica. Como su nombre lo indica, no es un estudio real, es una inferencia estadística (10)

Resistencia Primaria: Es la resistencia a ARV antes de iniciar el tratamiento y que puede ser debida a Polimorfismos (variación natural del virus) que es poco significativa, o debida al resultado de transmisión de cepas resistentes. La resistencia primaria en el caso de transmisión de cepas, lo que se traduce en un control viral resistentes, puede comprometer el éxito del tratamiento y generar la posibilidad de resistencia a otros medicamentos ARV, además de aumentar significativamente los costos del tratamiento de individuos afectados (10)

Resistencia Secundaria: Es la resistencia a ARV presente, después de falla a tratamiento y relacionada con la presión selectiva de los medicamentos en su uso cuando la supresión virológica es incompleta (10)

Para poder entender el fenómeno de resistencia antiretroviral, se debe tener en cuenta que la resistencia a ARV es originada por la gran replicación viral existente con cerca de 10 Billones de viriones producidos al día, en presencia de una enzima transcriptasa reversa defectuosa que comete un error de copia del genoma viral del VIH cada vez que hace una nueva copia. Esto origina mutaciones al azar, algunas con características fenotípicas bien determinadas, lo que se traduce en la presencia de variantes virales diferentes llamadas *cuasiespecies*. No todas las cuasiespecies son igualmente predominantes en un individuo, ya que existen algunas mayoritarias y otras minoritarias. La determinación de esta predominancia, depende de presiones selectivas de tipo Darwiniano, una de las cuales es la presencia de medicamentos ARV. (4)

Se calcula que cada día se genera al azar al menos una cepa con una mutación asociada a resistencia ARV, aunque estas mutaciones al azar, en ausencia de presión selectiva del medicamento, producen un efecto muy limitado en resistencia aparte de disminuir considerablemente la capacidad de replicación de estas variantes en comparación a las no resistentes. (4)

Antes del inicio de un tratamiento, las cepas predominantes en un individuo son las susceptibles, aunque existen algunas con resistencia baja presentes, pero con menos capacidad de replicación. Esto explica que se pueda detectar mutaciones asociadas a resistencia incluso antes del uso de cualquier ARV en ese paciente o antes de la existencia o uso clínico de dicho medicamento, sin embargo es importante considerar que la resistencia generada por estas mutaciones, tiene poca relevancia desde el punto de vista clínico. Al utilizar un tratamiento que no suprima el 100% de la replicación viral, comenzaran a predominar las cepas resistentes pero de baja capacidad replicativa, lo que se traduce en control viral parcial (Carga Viral baja pero no indetectable), e incremento de células CD4. Si persiste esta situación, es decir, la supresión viral incompleta, se acumularan cada vez más mutaciones y los virus tendrán la propiedad de replicarse mejor y recuperar su capacidad replicativa previa con lo que se origina la *falla Virológica*, la cual se manifestara inicialmente con una elevación limitada de la carga viral, y que se hará progresiva impactando finalmente en un decremento de las células CD4 (4)

Cuanto más se mantenga el efecto de presión selectiva y replicación viral residual, es decir, la falla al tratamiento sin cambiarlo, se acumularan más mutaciones, y existirán más posibilidades de resistencia cruzada y menor será la respuesta a otros medicamentos ARV. Esta circunstancia, sugiere un cambio temprano del tratamiento ARV en pacientes con falla virológica, y que debe ser adaptada de tal manera que serán necesarias una o más mutaciones.

Las mutaciones seleccionadas específicamente por cada medicamento, se les llaman mutaciones primarias, las cuales están presentes al momento del rebote de carga viral, si este está relacionado con el medicamento al que esta mutación se asocia. Las mutaciones secundarias en general son compensatorias a las primarias, pero son las responsables de aumentar la capacidad replicativa y la resistencia cruzada. Esta denominación de primarias y secundarias es muy evidente en el caso los Inhibidores de Proteasas, pero son más difícil de identificar en los inhibidores de Transcriptasa reversa. Adicionalmente existen mutaciones compensatorias que se pueden encontrar fuera de los genes blanco (p ej. *gag*) (8)

Barrera Genética: Hace referencia a la facilidad y rapidez con que el VIH en un individuo tratado desarrolla resistencia a un medicamento ARV. Este concepto implica el número de mutaciones que son necesarias para producir resistencia a un medicamento y la rapidez con que estas se producen, y tienen clara relación con las concentraciones que cada medicamento logra en sangre, con la concentración mínima inhibitoria del virus tratado, y con los cambios de la concentración inhibitoria que cada mutación produce en dicho virus (7)

Cada medicamento tiene una diferente barrera genética. Medicamentos como Lamivudina (3TC) tienen una baja barrera genética y desarrollan gran resistencia con una sola mutación, y la resistencia la desarrollan rápidamente (6 semanas cuando se utiliza en monoterapia). En este grupo de baja barrera genética, adicionalmente se encuentran los No-nucleosidos de la Transcriptasa reversa, debido a que a pesar de alcanzar altas concentraciones séricas, hay gran compromiso por el cambio de la concentración inhibitoria que solo una mutación puede desarrollar, para causar una resistencia significativa, y la desventaja de producir resistencias cruzadas a todos los demás miembros de este grupo de medicamentos (7)

Los inhibidores de proteasas (IP) generalmente tienen una elevada barrera genética. Por ejemplo, el VIH desarrolla resistencia significativa a Indinavir con la acumulación de tres o más mutaciones que deben ocurrir en la misma partícula viral. Cuando a un IP, se le asocia ritonavir, logrando el efecto farmacológico conocido como “*reforzamiento*”, se consigue elevar las concentraciones sanguíneas del IP, de tal manera que son necesarias más mutaciones para producir una resistencia antirretroviral significativa (7)

Cociente Inhibitorio: Ejemplifica la relación entre la concentración inhibitoria, las concentraciones del medicamento en sangre y la barrera genética. De forma específica, este cociente es la relación entre la concentración sanguínea mínima de un medicamento en administración continua y la CI_{50} (del 50% de los aislados) de al menos 3 cepas susceptibles. Si el cociente es elevado, más alta será la barrera genética, y se irá disminuyendo en su valor cuando aparecen cepas resistentes con una CI_{50} más elevada. Esta fórmula es un parámetro que se aplica útilmente entre los IP, pero su valor es limitado para otros ARV como los Inhibidores no nucleosidos de TR (INNTR) (7)

Resistencia Cruzada e Hipersusceptibilidad: La resistencia cruzada se refiere a la resistencia que se genera a otros medicamentos después del uso de un primero y cuando este falla en presencia de un apego adecuado. La magnitud de resistencia cruzada es diferente entre los grupos de ARV, y se asocia a la presencia de mutaciones comunes así como al desarrollo de multiresistencia.

De acuerdo a esto, se han observado 2 fenómenos en relación a la resistencia de inhibidores a análogos nucleosidos de TR. El primero de ellos es la multiresistencia entre los INTR, que está relacionada con la presencia de mutaciones específicas como *Q151M* y la inserción en la posición 69. Cuando estas mutaciones se unen a otras como *A62V*, *K65R*, *V75I*, *F77L* y *F116Y*, se produce resistencia múltiple a todos los miembros de este grupo de medicamentos por lo que su uso se ve limitado de forma importante. El segundo fenómeno, es la aparición de las denominadas *TAM*, *NAM* o *ZAM* (mutaciones asociadas a análogos timidínicos, a nucleosidos o a Zidovudina). En este contexto se destacan todas las mutaciones primarias a Zidovudina (AZT) y otras como *44D*, *69D*, *75M* y *118I*, cuyo efecto es acumulativo y causan resistencia cruzada especialmente entre AZT y Estavudina (d4T), y también entre otros nucleosidos. Por ejemplo si se encuentran más de 2 mutaciones TAMs sumadas a la mutación *T215F/Y*, se genera resistencia a Abacavir (ABV), y más de 3 TAMs generan resistencia a todos los dideoxynucleotidos, y más de 2 TAMs asociadas con la mutación *M41L* y/o *L210w*, se genera resistencia al Tenofovir (TNF). Para evitar y limitar la aparición de estas mutaciones TAMs, es necesario NO permitir fallas virológicas en el tratamiento durante tiempo Prolongado.(7) (4)

La resistencia cruzada en Inhibidores no nucleosidos de TR (INNTR), se desarrolla rápidamente en vista de una baja barrera genética, pero más importante implica el desarrollo de mutaciones comunes a los miembros de este grupo de ARV (*Efavirenz*, *Nevirapina*), por lo cual el fenómeno de resistencia cruzada es frecuente y evita en la mayor parte de los casos secuenciar medicamentos de este grupo.

En los Inhibidores de Proteasas (IP), existen en general mutaciones primarias particulares para cada uno de ellos, con algunas excepciones como aquellas en las posiciones 82 y 84, sin embargo, es relevante destacar que un número importante de mutaciones secundarias son comunes, lo cual se ha asociado al desarrollo de resistencia fenotípica cruzada. En medicamentos IP de uso frecuente como *Lopinavir/r (Kaletra)*, se requiere la acumulación de 6 a 8 mutaciones para desarrollar resistencia relevante, y este fenómeno “protector” se debe a la elevada barrera genética y alto cociente inhibitorio de este medicamento (11)

Hipersusceptibilidad, se refiere a la presencia de ciertas mutaciones asociadas a resistencia a un medicamento, se relaciona con una mayor susceptibilidad a otro. En el caso de Saquinavir, la presencia de la mutación V82F, N88S para Amprenavir, que se relacionan con aumento de susceptibilidad a los no nucleosidos, y la más común, es la resistencia asociada a mutación M184V en Lamivudina la cual mantiene la susceptibilidad e incluso la aumenta a la Zidovudina. (11)

Una vez ya conocidos los mecanismos, es pertinente conocer las pruebas con las cuales se documentan la aparición de mutaciones responsables de resistencia ARV:

- **Genotipificación**

Los estudios de genotipificación detectan mutaciones de resistencia a las drogas, que están presentes en el genoma viral. Algunos estudios de genotipificación incluyen la secuencia completa de los genes de la Transcriptasa reversa y la proteasa. Otros estudios muestran la presencia de mutaciones específicas que conocidamente pueden conferir resistencia a los medicamentos.

Los estudios de genotipificación se pueden obtener en 3-4 días de la toma de muestra. Su interpretación requiere el análisis de un rango de mutaciones que confiere resistencia específica a ARV, y también la posible resistencia cruzada a otros medicamentos.

Uno de los inconvenientes de esta prueba, es que detecta la resistencia en una población y solo si la mutación está presente en 20% o más de los individuos de esta con lo cual se puede dejar de detectar algunas mutaciones importantes y determinantes para la disminución de sensibilidad del tratamiento en particular. El reto mayor de la prueba es la interpretación de los resultados, ya que existen muchas vías por las cuales mutaciones asociadas a resistencia puedan influenciar otras. Hay mutaciones que generan resistencia a un medicamento que pueden restaurar la sensibilidad a otro o conferir susceptibilidad a otras drogas. Existe una gran heterogeneidad contrarrestar efectos. El alto número de mutaciones y los diferentes tipos de interacción entre ellas pueden hacer predicciones de resistencia fenotípica o respuesta clínica a la terapia.

Las mutaciones son informadas en una forma de **letra-numero-letra**, los cuales significan: **letra** (aminoácido salvaje al codón designado), **numero** (posición del codón), y **letra** (el aminoácido sustituido en la mutación) (7)

- **Fenotipificación**

Los estudios de fenotipificación determinan la capacidad del virus de proliferar en diferentes concentraciones de los ARV. Esta prueba es de mayor complejidad y costo, y los resultados son más tardíos. El nivel de susceptibilidad al medicamento, está basado en el cultivo de aislamientos virales en la presencia de diferentes concentraciones del ARV. Este nivel, es expresado por la concentración del medicamento que es capaz de inhibir el 50% de la población viral (CI₅₀). La resistencia a un medicamento es expresada como un incremento substancial de la CI₅₀ de un aislamiento viral respecto a una cepa de laboratorio estándar. Los ensayos fenotípicos tienen por objetivo el cálculo de la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀ del virus), que es la concentración de la molécula antiviral que produce el 50% de reducción del efecto observado. Existe una gran heterogeneidad en los valores de la CI₅₀ frente a los distintos fármacos y entre distintas cepas de VIH-1. Los grados de susceptibilidad o sensibilidad de un virus a un antiviral inhibidor de la TR, se establecen convencionalmente así: cuando su CI₅₀, es < 10 veces la resistencia de grado medio y con valores superiores a 100 veces de alta resistencia. En el caso de los IP, los valores de resistencia se encuentran habitualmente entre < 10 y 30-40 veces la CI₅₀, y excepcionalmente son > 75 veces (7)

Al comparar beneficios o desventajas de utilizar alguna de las 2 técnicas, es importante tener en cuenta lo siguiente:

Genotipificación

Ventajas

- Relativamente simples en su realización
- Fácilmente disponible
- Pueden detectar mutaciones primarias/secundarias previamente a la aparición de resistencias fenotípicas
- Permiten la detección de mutaciones que indican que previamente la población viral era resistente a determinados fármacos
- Más rápidos y económicos que los métodos fenotípicos

Desventajas

- No detectan poblaciones virales minoritarias
- Miden indirectamente las resistencias fenotípicas
- Difícil interpretación que requiere del conocimiento de los determinantes genéticos de las resistencias
- Se desconoce el efecto de determinadas combinaciones de mutaciones sobre el fenotipo
- No estandarizados ni validados clínicamente

Fenotipificación

Ventajas

- Miden directamente la sensibilidad de un fármaco
- Proporcionan resultados sobre las resistencias cruzadas
- Fácil Interpretación

Desventajas

- No detecta poblaciones virales minoritarias
- Requieren apropiados cut-off clínicos
- Elevado coste económico
- Laboriosos en cuanto a su realización
- Requieren un mínimo de 14 días para obtener resultados
- Realización en un limitado número de laboratorios
- No todos están estandarizados ni validados clínicamente

Las diferencias que pueden surgir entre los 2 métodos de evaluación de resistencias, se deben a circunstancias genotípicas (5% ocurren de los genes asociados resistentes a ARV), Mutaciones transicionales, Mutación antagónicas, TAMs (hay resistencias significativas a ddI, d4T, TDF, que se encuentran por debajo del umbral de detección en los test fenotípicos), Mutaciones atípicas y otros patrones complejos de mutaciones (4)

Para comprender la resistencia antirretroviral, se deben tener algunos conceptos básicos de la interpretación de genotipos y seguir las recomendaciones expuestas para esto:

Antes de solicitar una prueba se debe estar seguro de la toma adecuada del medicamento ARV, y evaluar su adherencia

- 1) No realizar pruebas de genotipos, si la carga viral es < 1000 copias/ml
- 2) No suspender la medicación que está recibiendo el paciente, dado que pueden “desaparecer” las mutaciones, o tomar prueba dentro de las 2 a 4 semanas posterior a su suspensión del tratamiento
- 3) Si el paciente tiene genotipos previos, se deben reunir, y recordar que la resistencia es irreversible.
- 4) Debe interpretarse con la participación de un experto en VIH y/o enfermedades infecciosas.
- 5) No es recomendable ordenar pruebas de genotipificación en pacientes con problemas activos de incumplimiento, intolerancia o inconsistencia en la toma de medicamentos.
- 6) Siempre confirmar fracaso virológico antes de ordenar una prueba de genotipificación (7)

Hay indicaciones para la realización de estudios de resistencia en forma específica y consensuada, y se recomiendan realizar en las siguientes situaciones:

- Inicio del Tratamiento

En EE.UU. se han encontrado mutaciones de resistencia primaria pre-exposición entre 6% a 19%, y en forma global se ha encontrado que aproximadamente el 15% de las infecciones nuevas se relacionan con transmisión de cepas resistentes, encontrándose así mismo que es más frecuente en forma reciente, la transmisión de cepas con alta resistencia o con resistencia múltiple. De esta forma, un ensayo de resistencia durante la infección primaria puede ayudar a decidir a cual esquema ARV debiera comenzarse, aun cuando esta maniobra no se realice años después. (Indicación no aceptada por Ministerio de Salud para incluir en la guía colombiana de manejo de VIH) (6)

- Infección Crónica:

Aun cuando el paso del tiempo algunas de las mutaciones transmitidas en el momento de la adquisición de la enfermedad pudieran desaparecer, dependiendo si eran o no población única, cuando se estudia la prevalencia de resistencia antes del inicio del tratamiento ARV, un ensayo de resistencia puede ser de gran utilidad dependiendo de las posibilidades de costearlas y de la prevalencia encontrada en estudios epidemiológicos de vigilancia. En general, se recomienda que cuando la prevalencia de resistencia transmitida sea $> 5\%$ se deberían realizar estos ensayos de resistencia antes de iniciar un nuevo tratamiento (4)

- Embarazo y Profilaxis postexposición

En ambos casos un ensayo de resistencia en la madre y en la posible fuente de infección es de gran utilidad para optimizar el tratamiento en la madre, el neonato y el individuo expuesto. El ensayo en el recién nacido equivale al de infección primaria, y es de especial interés considerando que no todas las variantes virales (incluyendo resistentes) son transmitidas de manera uniforme de madre a hijo (7)

- Cambio del tratamiento durante falla

La indicación de determinar esquema de tratamiento ante falla virológica, es la indicación más clara de los ensayos de resistencia. Debe mencionarse expresamente su realización durante el tratamiento en falla y no después de suspenderlo. Probablemente el ensayo genotípico sea de mayor utilidad en una falla al primer esquema ARV, y uno fenotípico ante falla múltiple. En casos especiales no es necesario el uso de pruebas de resistencia cuando existen suficientes opciones para el cambio de todo el esquema. Esto es recomendable en especial cuando la falla es temprana, es decir se ha detectado oportunamente y cambiado de la misma manera el esquema (4) Se han estudiado algunas estrategias básicas para tratar de prevenir la aparición de resistencia (12)

Potencia del Tratamiento

- Elegir los agentes más potentes disponibles
- Usar dosis máximas toleradas
- Usar terapia combinada

Maximizar las Barreras genéticas de la Resistencia

- Elegir agentes que requieren mutaciones múltiples
- Usar agentes en combinación (Inh Proteasas potenciados con Ritonavir)

Tolerabilidad y conveniencia

- Fomentar la adherencia a largo plazo

MUTACIONES MÁS IMPORTANTES RELACIONADAS CON RESISTENCIA CONTRA LOS ANTIRETROVIRALES (4)

INHIBIDORES NUCLEOSIDOS/NUCLEOTIDOS DE TRANSCRIPTASA REVERSA	M41L, D67N/G, K70R/E, L210W, T215F/Y, R219E/Q/N, E44D, V1118I, L74V, M184V/I, T69, Q151M, V75T/M/A, Y115F, 65R
INHIBIDORES NO NUCLEOSIDOS/NUCLEOTIDOS DE TRANSCRIPTASA REVERSA	V90I, A98G, L100I, K101E/H/P, K103N/S/R, I06M/A, V108I, E138A/G/K, V179D/E/F/M/T, Y181C/I/V, Y188L/C/H, G190S/A/E/Q, P225H, F227L, M230L, P236L, K238T/N, Y318F
INHIBIDORES DE PROTEASAS	L10I/V/F/R/V, V11I, I13V, K20R/I/M/T/V, L23I, L24I/F, D30N, V32I, L33F/I/V, E35G, M36I/V/L, K43T, M46I/L/V, I47A/V, G48V/M, I50V/L, F53L, I54V/M/L/T, Q58E, L63A/C/E/H/P/Q/R/S/T/V/I, H69K, A71/V/T/I, G73S/C/T/A, T74P, L76V, V77I, V82A/T/F/S/I/G/L, N83D, I84V/A/C, N88S/D, L89V, L90M, I93L/M
INHIBIDORES DE FUSION	36D/S, 37V, 38A/M/E, 39K, 40H, 42T, 43D
INHIBIDORES DE INTEGRASA	148H/K/R, 155H

Objetivos

- **Generales:** Describir la población de los programas de atención de VIH/SIDA en términos de variables demográficas, estadificación de la infección y resistencia ARV secundaria.
- **Específicos:** Identificar en nuestra población, factores pronósticos que permitan determinar de forma temprana, que tipo de pacientes podrían desarrollar mutaciones asociadas a resistencia a la Terapia Antirretroviral Altamente Efectiva.

Hipotesis

“La resistencia a los antiretrovirales por generación de mutaciones, se producen por elementos multifactoriales del paciente, y no solo por su exposición al tratamiento”

METODOLOGIA

Se trata de una evaluación analítica/observacional. No se realizaron actividades de intervención en sus tratamientos durante el estudio.

Población:

La población de los casos se determinó en base a los pacientes atendidos en la IPS Asistencia Científica de Alta Complejidad (ACAC), quienes presentaron resistencia al tratamiento, y requirieron la realización de genotipo, durante el periodo de tiempo entre Junio de 2008 a diciembre de 2013.

La población de los pacientes controles se extrajo del grupo de pacientes que no presentaron resistencia, durante el periodo de tiempo evaluado, y que al igual que los pacientes casos, habían iniciado el mismo tratamiento ARV en una fecha similar.

Dado que el objetivo del estudio es establecer resistencias secundarias, estos pacientes que no han mostrado signos de falla terapéutica o clínica, no requirieron la realización de genotipo

Criterios de Inclusión

- **Pacientes caso:** Pacientes adultos con diagnóstico de VIH/SIDA que asisten a los programas de atención de VIH/SIDA y que durante su evolución clínica, hayan desarrollado falla terapéutica o clínica, que requirieron ser evaluados con una genotipificación por resistencia secundaria.
- **Pacientes control:** Pacientes adultos con diagnóstico de VIH/SIDA que asisten a los programas de atención de VIH/SIDA, que recibe el mismo esquema antiretroviral y el tiempo iniciado al

paciente caso, y quien durante su evolución clínica, no hayan presentado falla virológica o clínica secundarias por el desarrollo de resistencia a los antiretrovirales utilizados en su tratamiento. Dado que es un paciente sin resistencia **no** son evaluados con una genotipificación por resistencia secundaria

Criterios de Exclusión

- **Pacientes caso:** Pacientes con estudios genotípicos cuyo resultado fue no tipificable o incompletamente tipificable para la determinación de mutaciones de resistencia relevantes. Datos incompletos en la historia clínica. Pacientes resistentes sin genotipos
- **Pacientes control:** Pacientes que a pesar de cumplir con los criterios de inclusión, no tienen una historia clínica completa, o sin estudios que hayan evidenciado la evolución de la respuesta virológica y celular al tratamiento antiretroviral a lo largo de su enfermedad

Recolección de datos:

Previo autorización de la institución, se realizó recolección de los datos a partir de la revisión de historias clínicas de los pacientes incluidos en el grupo evaluado (pacientes casos y pacientes controles)

El tamaño final de la muestra fue de 71 pacientes genotipificados que cumplieron todos los criterios de inclusión con sus respectivos controles, los cuales no habían requerido estudios de genotipos por ausencia de resistencia ARV, a pesar de haber iniciado su terapia ARV al tiempo similar y su esquema inicial fuera el mismo de los pacientes casos.

Variables en estudio:

➤ Variables demográficas

Edad en Años (Continua), Sexo (Discreta/Dicotómica), Vía de transmisión de la infección (Usuario de Drogas/UD, Hombres-Sexo-Hombres/HSH, heterosexual, Bisexual, Vertical, transfusión sanguínea, mixtos, otros), Preferencia sexual (Discreta), Usuario de psicoactivos estimulantes (Dicotómica), Tipo de droga Utilizada (Discreta), Nivel de educación (Discreta), Procedencia (Discreta), Ocupación (Discreta), Estrato Socio/Económico (Continua)

➤ Variables a estudiar

Clasificación CDC de Atlanta de 1993 y 2008.

CD4 y Carga viral al momento del diagnóstico. CD4 y Carga viral al momento del genotipo (promedio, mediana, rango). Tiempo del diagnóstico en años. Tiempo de inicio de antiretrovirales en años, Esquema antirretroviral al momento de la toma de genotipo. Mutaciones encontradas por grupo ITRN, ITRNN, IP.

Las variables dependientes del estudio relacionaron mediante análisis bivariado con las características generales sociodemográficas, antecedentes y marcadores clínicos relacionados con el VIH

Análisis univariado:

Las variables cuantitativas se analizaron con medias o medianas y sus respectivas medidas de dispersión y las categóricas se analizaron mediante frecuencias y porcentajes.

Las variables con distribución normal (según prueba de Kolmogorov –Smirnov) se analizaron por medio de medias y su respectiva desviación estándar (DS), los variables que no cumplieron con los criterios de normalidad se analizaron por medio de medianas y rangos intercuartiles (RIQ).

Análisis bivariado:

El desenlace final identificado, fue la presencia de resistencia a ARV, por lo que se buscó la relación con las variables independientes mediante la prueba de chi cuadrado o el test exacto de Fisher para variables independientes categóricas. Las variables cuantitativas continuas paramétricas se evaluaron por medio de la prueba t de Student y los no paramétricos mediante la U de Mann – Whitney. Un valor de $p < 0.05$, fue considerado significativo, sin embargo en el análisis de regresión logística se incluyeron las variables con $p < 0,2$.

Por último se realizó un análisis de regresión logística binaria incluyendo las variables biológicamente plausibles o aquellas con significancia estadística ($p < 0,200$) o posibles fuentes de confusión. Se adecuaron los modelos con mediante la prueba de bondad de ajuste de Hosmer – Lemeshow. La prueba de R^2 de Nagelkerke se utilizó para evaluar el porcentaje de varianza explicado por el modelo.

El paquete estadístico para las ciencias sociales (SPSS v 19, Chicago IL), fue utilizado para los análisis estadísticos.

RESULTADOS

Análisis univariado.

La mayoría de pacientes incluidos en el análisis fueron hombres, con un promedio de edad de 49 años, la mayoría eran heterosexuales o HSH y con nivel social medio. Se observó que la gran mayoría, al diagnóstico tenían un estadio avanzado de la enfermedad por CDC, y el de inicio de ARV respecto al Diagnóstico fue de 8 años aproximadamente.

Análisis bivariado y multivariado.

Se encontró que en ambos grupos no existieron diferencias significativas en cuanto a la proporción de hombres y mujeres, la preferencia sexual, el uso de psicoactivos, el nivel social y el estadio de la enfermedad por CDC. Se observó que los pacientes con resistencia al tratamiento eran significativamente más jóvenes que los controles, así como también una menor mediana de carga viral al diagnóstico en los casos de resistencia (aunque los rangos intercuartílicos se superponen) y adicionalmente se observó una menor y estadísticamente significativa menor proporción de pacientes adherentes en los casos de resistencia, comparado con los controles sin adherencia al tratamiento (Tabla 2).

Una vez realizado el ajuste en el modelo de regresión logística multivariada, incluyendo las variables significativamente diferentes y biológicamente plausibles, se determinó que las variables independientemente relacionadas con el desenlace fueron la edad y la adherencia al tratamiento, interpretándose de la siguiente manera: cada año de aumento en edad es significativamente protector para el desarrollo de resistencia a ARV (ORA: 0,891; $p > 0,001$). En cuanto a la adherencia al tratamiento, también se mostró como un factor fuertemente protector para el desarrollo de resistencia a ARV (ORA: 0,030, $p < 0,001$).

El modelo anterior explica aproximadamente el 59,6% del riesgo de resistencia a ARV (R cuadrado de Nagelkerke de 0,596).

Tabla 1. Variables analizadas de toda la población en estudio

CARACTERISTICA	
<i>Género, n (%)</i>	
<i>Masculino</i>	118 (83,7)
<i>Femenino</i>	
<i>Edad</i>	49,03 (12,96)
<i>Vía de transmisión, n (%)</i>	
<i>Sexual</i>	138 (97,9)
<i>Vertical</i>	3 (2,1)
<i>Preferencia sexual, n (%)</i>	
<i>Heterosexual</i>	74 (52,5)
<i>Bisexual</i>	21 (14,9)
<i>HSH</i>	46 (32,6)
<i>Usuario de psicoactivos, n (%)</i>	
	46 (32,6)
<i>Nivel educativo, n (%)</i>	
<i>Primaria</i>	30 (21,3)
<i>Bachillerato</i>	57 (40,4)
<i>Técnico</i>	17 (12,1)
<i>Universitario</i>	37 (26,2)
<i>Nivel social, n (%)</i>	
<i>Bajo</i>	17 (12,1)
<i>Medio</i>	125 (87,9)
<i>Adherencia al tratamiento, n (%)</i>	
	92 (65,2)
<i>Estadio CDC 2008, n (%)</i>	
<i>1</i>	13 (9,2)
<i>2</i>	38 (27)
<i>3</i>	90 (63,8)
<i>CD 4 al diagnóstico, mediana (RIQ)</i>	
	199 (95 – 300)
<i>Carga viral al diagnóstico, mediana (RIQ)</i>	
	50000 (9500 – 118500)
<i>Años de diagnóstico, mediana (RIQ)</i>	
	9 (5-13)
<i>Años desde el Dx hasta el inicio de tratamiento ARV, mediana (RIQ)</i>	
	8 (3-11,5)

Tabla 2. Análisis bivariado

CARACTERISTICAS	Casos resistencia a ARV (n=71)	Controles sin resistencia a ARV (n=71)	OR	IC 95%	p valor
Género, n (%)					
Masculino	58 (81,7)	60 (85,7)	1,345	0,547 – 3,308	0,649
Vía de transmisión, n (%)					
Sexual	68 (95,8)	70 (100)	NA	NA	NA
Vertical	3 (4,2)	0	NA	NA	NA
Preferencia sexual, n (%)					
Heterosexual	39 (54,9)	35 (50)	1,219	0,629 – 2,362	0,614
Bisexual	8 (11,3)	13 (18,6)	0,557	0,215 – 1,441	0,246
HSH	24 (33,8)	22 (31,4)	1,114	0,551 – 2,254	0,858
Usuario de psicoactivos, n (%)	19 (26,8)	27 (38,6)	0,582	0,285 – 1,187	0,153
Nivel social, n (%)					
Bajo	11 (15,5)	6 (8,6)	1,956	0,681 – 5,618	0,301
Medio	60 (84,5)	64 (91,4)	0,511	0,178 – 1,469	0,301
Adherencia al tratamiento, n (%)	29 (40,8)	63 (91,3)	0,066	0,025 – 0,172	0,001
Estadio CDC 2008, n (%)					
1	5 (7)	8 (11,4)	0,587	0,182 – 1,891	0,399
2	19 (26,8)	19 (27,1)	0,981	0,466 – 2,064	1,000
3	47 (66,2)	43 (61,4)	1,230	0,618 – 2,447	0,601

Tabla 3. Análisis de Resistencia

<i>CARACTERISTICAS</i>		<i>Casos resistencia a ARV</i> (n=71)	<i>Controles sin resistencia a ARV</i> (n=71)	<i>p valor</i>
Edad, media DE		42,77 (10,66)	55,37 (12,02)	0,001 ^a
CD4 al diagnóstico, mediana (RIQ)		199 (87,5 – 334,5)	200 (125 – 290)	0,856
Carga viral al diagnóstico mediana (RIQ)		22000 (5350 – 102382)	60000 (20000-120000)	0,025
Años al diagnóstico mediana (RIQ)		9 (5-13)	9 (4-14)	0,473
<i>Años de Dx al inicio de tratamiento ARV mediana (RIQ)</i>		8 (3-11,5)	8 (3-11)	0,919

^bdiferencia de medias con prueba de U Mann-Whitney

Tabla 4. Análisis multivariado Variables relacionadas con el desenlace de resistencia

Variable	ORA	IC 95%	P
Edad	0,891	0,848 – 0,937	0,001
Adherencia al tratamiento	0,030	0,007 – 0,134	0,001

ORA: Odds ratio ajustada (variables incluidas en el modelo: edad, sexo, preferencia sexual, uso de psicoactivos, niveles de CD 4 al diagnóstico, Carga viral al diagnóstico, años al diagnóstico y años a inicio de ARV)

R cuadrado de Nagelkerke: 0,596

Tabla 5. Mutaciones que inducen resistencia a INTR

INTR		
MUTACIONES	Pacientes	Porcentaje %
M184V	58	81%
T215C	31	43%
M41L	21	29%
L74V	18	25%
T215Y	14	19%
V118I	10	14%
D67N	8	11%
L210W	7	9%
Y115F	7	9%
A62V	5	7%
K70R	4	5.00%
T69N	4	5%
T215F	4	5%
V75I	4	5%
K219E	3	4%
K219Q	3	4%
K219E	2	3%

INTR		
MUTACIONES	Pacientes	Porcentaje%
P225H	2	3%
M14V	2	3%
Q151M	2	3%
K219A	2	3%
K219N	2	3%
L74I	1	2%
M184I	1	2%
T215S	1	2%
Y215Y	1	2%
F116Y	1	2%
V75A	1	2%
V75M	1	2%
T69D	1	2%
T215Y	1	2%
M215V	1	2%
K219R	1	2%

INTR: Inhib. Nucleosidos de Trans. Reversa

Tabla 6. Mutaciones que inducen resistencia a INNTR

INNTR		
<i>MUTACIONES</i>	Pacientes	Porcentaje %
K103N	29	40%
Y188L	5	7%
V108I	4	6%
G190A	4	6%
Y181C	4	6%
L100I	4	6%
P225H	3	4%
K101E	3	4%
G109S	3	4%
V179E	3	4%
K101P	2	3%
V108I	2	3%
V106I	2	3%
E138A	2	3%
K103S	2	3%
N108I	1	1%
V106M	1	1%
A98G	1	1%
V90I	1	1%

INNTR		
<i>MUTACIONES</i>	Pacientes	Porcentaje%
Y181V	1	1%
V179D	1	1%
V106A	1	1%
V106M	1	1%
F227L	1	1%
T215S	1	1%
Y215Y	1	1%
F116Y	1	1%
V75A	1	1%
V75M	1	1%
T69D	1	1%
T215Y	1	1%
M215V	1	1%
K219R	1	1%

INNTR: Inhib. No nucleosidos de Trans. Reversa

Tabla 7. Mutaciones que inducen resistencia a IP

IP			IP		
MUTACIONES	Pacientes	Porcentaje %	MUTACIONES	Pacientes	Porcentaje%
L24I	29	40%	M46I	2	3%
L10I	12	17%	G73S	2	3%
M36I	12	17%	I62V	2	3%
I54V	10	14%	N88S	2	3%
L33I	10	14%	I54L	2	3%
A71V	9	12%	N88D	2	3%
M46I	9	12%	A71V	2	3%
L90M	8	11%	F53L	2	3%
L10F	6	8%	A71I	2	3%
V32I	6	8%	L10F	1	1%
A71T	6	8%	K20T	1	1%
L10V	5	7%	I15V	1	1%
M46L	4	6%	M46V	1	1%
Q58E	4	6%	Y69N	1	1%
M61I	4	6%	D60E	1	1%
I84V	4	6%	F77L	1	1%
E44D	4	6%	L63P	1	1%
K20R	4	6%	I47A	1	1%
I47V	3	4%	L46V	1	1%
L33F	3	4%	I93L	1	1%
V82A	3	4%	V82T	1	1%
I47V	3	4%	I54M	1	1%
I13V	3	4%	G73C	1	1%
V82A	3	4%	V82S	1	1%
L33V	2	3%	G73A	1	1%
I13V	2	3%	L76V	1	1%
D30N	2	3%	I50V	1	1%
G73T	2	3%	K20I	1	1%

IP: Inhib. de Proteasas

DISCUSION

La prevalencia de resistencia genotípica primaria del VIH-1 contra al menos un compuesto antirretroviral es común, entre el 12 % y el 25 % en Estados Unidos (3) y se considera es mayor en pacientes recientemente infectados que en pacientes infectados crónicamente (infección mayor de 6 meses)(13). Sin embargo, aún existe poca información acerca de la prevalencia de resistencia primaria en pacientes con VIH crónicamente infectados y quienes no han estado expuestos a previo tratamiento antirretroviral. Esta resistencia, la cual está mediada por mutaciones en el gen de la polimerasa viral (*pol*), causa disminución de la susceptibilidad de los medicamentos antirretrovirales in vitro y está asociada con falla terapéutica. Una cohorte de pacientes adultos que reciben cuidado médico en un hospital en Boston, fue tamizada para detectar mutaciones en el genoma del VIH-1 y determinar el subtipo de virus circulante de pacientes que nunca habían recibido tratamiento con antirretrovirales y las mutaciones asociadas con resistencia a antirretrovirales y se identificó en 18% de 88 pacientes, con resistencia a inhibidores de la transcriptasa reversa que fue detectada en 14% de los pacientes, a no inhibidores de la enzima transcriptasa reversa en 5% y a inhibidores de la enzima proteasa en 3%. Dos por ciento de los pacientes tenían resistencia a múltiples grupos de antirretrovirales (pacientes multiresistentes). De los pacientes, 10% tenían infección con subtipos diferentes al subtipo B y carecían de mutaciones a los antirretrovirales evaluados. Pruebas serológicas demostraron que los pacientes habían estado infectados por más de 6 meses

La resistencia a fármacos antirretrovirales se presenta de forma frecuente en los pacientes cuyo tratamiento no es efectivo para el control virológico y clínico. La resistencia es asociada con la aparición de mutaciones múltiples, las cuales se están incrementando hasta comprometer varios grupos de ARV al mismo tiempo (14). En Latinoamérica se ha descrito la prevalencia de resistencia en pacientes *naive*, secundario a la transmisión entre pacientes, con resultados que muestran resistencia primaria en varios países: Caribe 3.9%, México 3.9%, Brasil 9.4%, región andina 10.5% y cono sur 4.9%(3). Estos resultados comprometen de forma importante la región a la cual pertenece nuestro país. En Colombia se han realizado varios estudios descriptivos que evaluaron resistencia primaria con resultados que se encuentran prevalencia aproximada de 5% (9). Las mutaciones que generan resistencia en Colombia han mostrado en su mayoría, la presencia de mutaciones a los inhibidores nucleosidos y no nucleosidos de Transcriptasa reversa. Estos resultados fueron evaluados por los grupos de Salud, ya que en Colombia no existe una recomendación de realizar genotipificación antes de iniciar el tratamiento antirretroviral. La reciente guía de VIH expedida por el Ministerio de Salud recomienda la realización de estudios de genotipos ante la primera falla terapéutica (13), sin embargo aún no se contempla la realización de genotipos pre-tratamiento.

Respecto a la presencia de resistencia secundaria los valores son variables, aunque persiste la presencia de mayor resistencia por mutaciones a los inhibidores nucleosidos de Transcriptasa reversa e inhibidor de proteasas

Teniendo en cuenta esta situación, el objetivo de nuestro estudio, fue evaluar factores que podrían ejercer producción de mutaciones en pacientes que han recibido tratamiento. Adicionalmente, se ha evaluado los tipos de mutaciones a los antiretrovirales en nuestra población colombiana.

De acuerdo a los resultados de nuestra evaluación de los múltiples factores desencadenantes de mutaciones, se evidenció principalmente que la mala adherencia al tratamiento antirretroviral es el elemento más significativo en la generación de mutaciones, y en forma secundaria se evidencio más mutaciones en pacientes jóvenes. Las demás variables no mostraron evidencia significativa para contemplarlas como factores tempranos de generación de resistencia antiretroviral secundaria (14)

Se pensaba que los niveles de CD4 podrían ser un marcador de pronóstico de resistencia, pero nuestros resultados descartan esta opción, equivalente a los resultados en la literatura, en los que se ha evaluado la opción

de marcadores inmunológicos para predicción de resistencia ARV, y se concluye que no son útiles en este aspecto (15) (16)

La otra variable que se encontró asociada a mutaciones, fue la edad de los pacientes. En nuestro trabajo se evidencia una mayor prevalencia de resistencia en los pacientes jóvenes y considerar el aumento de la edad como un factor protector. Estos hallazgos son semejantes a lo descrito en algunas revisiones de la literatura médica. En el trabajo de Parenti y col, se describe que por un año de incremento de la edad existe aproximadamente 4% menos probabilidad de falla virológica. Así mismo describen que encontraron que los pacientes jóvenes con edad media de 38 años y que presentaron episodios de interrupción de TARGA por más de 48 horas (drug holidays) y episodios de depresión tuvieron mayor riesgo de falla virológica) (6) Por otra parte, Greenbaum y col., describieron que el tiempo para lograr la supresión virológica fue mayor en la población menor de 50 años (6). Silverberg y col. encontraron que la población mayor de 50 años tuvo mejor respuesta virológica al tratamiento AR (2). Estos autores han considerado que el aumento de la edad, se podría asociar a un mejor grado de madurez y estabilidad emocional, las cuales contribuirían a una mayor adherencia y a un menor riesgo de hacer falla virológica que la población más joven

Respecto a la variabilidad de las mutaciones a los 3 grupos de antiretrovirales, el actual estudio muestra la presencia de M184V como predominante en inhibidores nucleosidos, K103N en inhibidores no nucleosidos y presencia de la mutación L24I como la más frecuente en inhibidores de proteasas. Estos resultados muestran semejanza a lo expuesto en la literatura respecto a los factores de riesgo predictores de resistencia (17), y llama la atención la presencia de un número muy alto de mutaciones las cuales se continuaran incrementando en los pacientes viviendo con VIH que reciben tratamiento antirretroviral de forma inadecuada, por tal razón el reforzamiento de la adherencia al tratamiento debe ser prioridad para garantizar una adecuada respuesta celular y virológica, y disminuir la presencia de mutaciones a futuro.

CONCLUSIONES

Existe una alta cantidad de mutaciones generadas por el virus VIH presentes en nuestra población infectada con VIH, las cuales afectan a los pacientes manejados con los esquemas antiretrovirales que utilizan los 3 grupos principales de medicamentos (INTR, INNTR, IP), llevándolos al fracaso terapéutico por resistencia. Los pacientes que no desarrollaron resistencia tuvieron una adecuada adherencia, por lo cual se concluye que la falta de adherencia al tratamiento antirretroviral es un factor pronóstico muy importante para predecir la generación de mutaciones asociadas a resistencia al tratamiento antirretroviral en pacientes viviendo con VIH. Adicionalmente resalta que los pacientes más jóvenes son los más afectados por la resistencia antirretroviral, haciéndolos una población más susceptible a la falla del tratamiento antirretroviral. Esta situación se podría explicar por falta de aceptación y convicción de tener la enfermedad en los jóvenes, efecto que compromete la adecuada ingesta de los medicamentos ARV formulados (18)

No hay diferencia en la generación de falla al tratamiento por otros factores como preferencia sexual, situación económica, profesión o el estado de la enfermedad cuando se inicia el tratamiento, aunque llama la atención que los pacientes que tuvieron resistencia al tratamiento, tenían una menor carga viral al iniciar el tratamiento, lo cual sugiere que tener una gran carga viral al inicio del tratamiento no va a derivarse en mayor riesgo de resistencia posteriormente.

Ante los hallazgos que encontramos en el actual estudio, nos permite sugerir a las entidades, a los programas y a los médicos que manejan pacientes con esta enfermedad, que la situación de adherencia de los jóvenes al tratamiento debe recibir una fuerte intervención del grupo tratante, para evitar fallas al tratamiento en el futuro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Afani Alejandro, Beltrán Carlos, Gallardo Ana María, Roessler Patricia, Acevedo William, Vásquez Patricia. Prevalence of primary antiretroviral resistance among HIV infected patients in Chile. *Revista Medica de Chile* 2012; 138: 669-676.
2. Baxter J1, Dunn D, White E, Sharma S, Geretti A, Kozal M, Johnson M, Jacoby S, Llibre J, Lundgren J; International Network for Strategic Initiatives in Global HIV Trials (INSIGHT) START Study Group. Global HIV-1 transmitted drug resistance in the INSIGHT Strategic Timing of Antiretroviral Treatment (START) trial. *HIV Medicine*. 2015 Apr;16 Suppl 1:77-87
3. Pineda Andrea, Vandamme Anne, Bello Diana HIV-1 Transmitted drug resistance in Latinoamerica and Caribbean. What do we know? *AIDS Reviews*. 2012;14:256-267
4. Bartlett John, Gallant Joel, Pham Paul. *Medical Management of HIV infection*. 2010: 30-48
5. Balaguera Henry. Mutaciones que seleccionan para resistencia a antirretrovirales y presencia de resistencia en subtipos del VIH-1 diferentes a subtipo B en pacientes con infección crónica sin tratamiento previo. *Revista médica U. de Antioquia*. 2011. Vol. 17. Numero 3S.
6. Martínez Jorge, Mueses Héctor. Resistencia a fármacos en pacientes en tratamiento antirretroviral, Cali, Colombia. 2008-2010. *Biomédica*. 2013;33:631-642
7. Tang MW, Shafer RW. HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. *Drugs*. 2012 Jun 18;72(9):e1-25
8. Gupta RK, Jordan MR. Global trends in antiretroviral resistance in treatment-naive individuals with HIV after rollout of antiretroviral treatment in resource-limited settings: a global collaborative study and meta-regression analysis. *Lancet*. 2012 Oct 6; 380(9849):1250-8
9. DiazGranados CA¹, Mantilla M, Antiretroviral drug resistance in HIV-infected patients in Colombia.. *International Journal of infectious disease*. 2010. Apr:14(4): 298-303
10. Ravela J, Betts BJ, Brun-Vezinet F. HIV protease and transcriptase mutation patterns responsible for discordances between genotypic drug resistance interpretation algorithms. *Journal of Virology Methods*. 2004. 121(1): 115-118.
11. Meynard JL, Vray M, MorandJoubert et al. Phenotypic and genotypic Antiretroviral resistance testing for choosing antiretroviral therapy after treatment failure. *AIDS*. 2002. 16(5):727-736
12. Miller MD, Margot N, Lu B et al. Genotypic and phenotypic predictors of the magnitude of response to tenofovir treatment in antiretroviral experienced patients. *Journal of Infectious Disease*. 2004. 189(5): 837-846
13. Ministerio de la Protección Social, Republica de Colombia. Guía para el manejo de VIH/SIDA, 2014.

14. Ribery sainthood. Improved Prediction of Salvage Antiretroviral Therapy Outcomes Using Ultrasensitive HIV-1 Drug Resistance Testing. *Clinical Infectious Disease*. Mayo 2014.
15. Cohen CJ, Hunt S, Sension M. et al. A randomized trial assessing the impact of phenotypic resistance testing on antiretroviral therapy. *AIDS*. 2002. 16(4):579-588
16. Jiamsakul A¹, Sirivichayakul S², Ditangco R³, Wong KH⁴, Li PC⁵. Transmitted drug resistance in recently infected HIV-positive Individuals from four urban locations across Asia (2007-2010) - TASER-S. *AIDS Research Therapy*. 2015 Feb 13;12:3.
17. Rawizza HE¹, Chaplin B, Meloni ST, Eisen G, Rao T, Sankalé JL, Dieng-Sarr. Immunologic criteria are poor predictors of virologic outcome: implications for HIV treatment monitoring in resource-limited settings. *Clinics Infectious Diseases*. 2011 Dec;53(12):1283-90.
18. Chen I, Connor MB, Clarke W, Marzinke MA, Cummings V, Breaud A, Fogel JM, Laeyendecker O. Antiretroviral drug use and HIV drug resistance among HIV-infected Black men who have sex with men: HIV Prevention Trials Network 061. *Journal of acquired immunodeficiency syndrome*. April 8, 2015 - Vol 68 – Iss 4:378-390

Bogotá D.C, Abril 20 de 2013

Señores

**GRUPO DE INVESTIGACION Y
COMITÉ DE ETICA
Universidad del Rosario**

Apreciados profesores:

Con la presente carta, deseo comentar y solicitar la aprobación del comité de ética de la Universidad, para continuar el desarrollo de mi trabajo de grado “FACTORES PRONOSTICOS EN RESISTENCIA ANTIRETROVIRAL EN PACIENTES CON VIH”. El estudio realizado fue de casos y controles retrospectivo, sin intervención, y se realiza en la IPS “ASISTENCIA CIENTIFICA DE ALTA COMPLEJIDAD”, entidad especializada en manejo y seguimiento de los pacientes afectados por VIH, de diversas EPS.

El comité de ética de la institución previamente dio su autorización para la realización del estudio, ya que la información fue obtenida solamente a través de las historias clínicas con autorización de la entidad.

Este trabajo busca mejorar las intervenciones tempranas en los pacientes viviendo con VIH, para evitar desarrollo de resistencia antiretroviral posteriormente, no se intervendrá sobre el manejo de los pacientes asistidos en la institución.

Agradezco mucho su atención y colaboración

Atentamente



Jorge A. Montes R.

**RIII MEDICINA INTERNA.
UNIVERSIDAD DEL ROSARIO**