

# INFLUENCIA DE LOS GENES SLCO1B1 Y CYP2B6 SOBRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE LOPINAVIR, RITONAVIR Y EFAVIRENZ ASOCIADOS A LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PACIENTES CON VIH/SIDA EN LA CIUDAD DE BARRANQUILLA EN EL AÑO 2013

*Johnny Mendoza Palencia<sup>1</sup>, Edgar Pallares Serrano<sup>1</sup>, Nataly Visbal Vergara<sup>1</sup>, Guillermo Cervantes<sup>2</sup>, Luz Alonso Palacio<sup>3</sup>*

Correspondencia a: Edgar Pallares Serrano; Cra 37 no. 57 - 34; Celular: 3004469963; Correo electrónico: ekps\_7@hotmail.com.

Universidad del Norte; Dirección: Km.5 Vía Puerto Colombia. Tel. (57) (5) 3509509 - Barranquilla, Colombia, 2015.

## RESUMEN

**Objetivo:** Estudiar el polimorfismo de los genes SLCO1B1 y CYP2B6 y su influencia sobre los niveles plasmáticos de Lopinavir, Ritonavir y Efavirenz en pacientes con VIH/SIDA de la Costa Caribe Colombiana.

**Materiales y métodos:** Es un estudio descriptivo transversal el cual se realizó mediante la obtención del ADN genómico, y posterior genotipificación mediante PCR, PCR-RFLP y la plataforma Luminex 200, para identificar los diferentes genotipos de los polimorfismos SLCO1B1 y CYP2B6. Los datos se tabularon en Excel y SPSS version 22. Se analizaron las concentraciones plasmáticas en 78 pacientes con VIH en las ciudades de Barranquilla y Santa Marta, con edades entre 15 y 65 años de edad. Se cuantifican los niveles de los medicamentos mediante HPLC y se realiza análisis bi-variado, evaluando la relación entre el tipo de concentración y los genotipos de los polimorfismos, mediante el Ji cuadrado y su respectivo valor de ps.

**Resultados:** Se encontró como resultados una alta asociación del genotipo TT del polimorfismo G516T del gen CYP2B6 con elevados niveles plasmáticos de Efavirenz ( $p=0.002$ ) y no se encontró alguna asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos T521C, A388G y C463A del gen SLCO1B1 y elevados niveles plasmáticos de lopinavir/ritonavir ( $p>0.05$ ).

<sup>1</sup> Estudiantes de IX semestre de Medicina. Universidad del Norte. Barranquilla. Colombia

<sup>2</sup> Docente del departamento de medicina. Universidad del Norte. Barranquilla. Colombia

<sup>3</sup> Docente del departamento de salud pública. Universidad del Norte. Barranquilla. Colombia

**Conclusiones:** Se encontró asociación de los polimorfismos del gen CYP2B6 con niveles plasmáticos elevados del Efavirenz y no se demostró una asociación de los polimorfismos del gen SLCO1B1 con los antirretrovirales Lopinavir y Ritonavir como se evidencia a continuación a lo largo del informe.

**Palabras claves:** SIDA, VIH, farmacogenómica, Lopinavir, Ritonavir, Efavirenz, HPLC.

## **ABSTRACT**

**Objective:** study the polymorphism of SLCO1B1 and CYP2B6 genes and their influence on plasma levels of Lopinavir, Ritonavir and Efavirenz in patients with HIV / AIDS in the Caribbean coast of Colombia.

**Material and methods:** It is a descriptive study which is performed by obtaining genomic DNA, and subsequent genotyping by PCR, PCR-RFLP and the Luminex platform 200. The data were tabulated in Excel and SPSS version 22. Plasma concentrations were analyzed in 78 patients HIV in the cities of Barranquilla and Santa Marta corresponding to the ages between 15 and 65 years old. Drug levels were quantified by HPLC and bivariate analyzes were performed, evaluating the relationship between the type of concentration and genotypes of polymorphisms, by Chi square and its respective value ps.

**Results:** It was found as a result a high association TT genotype CYP2B6 G516T gene polymorphism with elevated plasma levels of efavirenz ( $p = 0.002$ ) and not any statistically significant association between the T521C, A388G and C463A SLCO1B1 gene polymorphisms and increased plasma levels lopinavir / ritonavir ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** It was found association of polymorphisms of the CYP2B6 gene on elevated plasma levels of efavirenz ( $p = 0.02$ ) and no association of polymorphisms SLCO1B1 gene was demonstrated with Lopinavir and Ritonavir ( $p > 0.05$ ) antiretroviral as evidenced then what throughout the report.

**Keywords:** AIDS, HIV, pharmacogenomics, Lopinavir, Ritonavir, Efavirenz, HPLC.

## INTRODUCCIÓN

El VIH ha sido desde los años 80 una gran problemática de la salud pública. En el año 2010 se produjeron más de 7000 nuevas infecciones diarias por el VIH en el mundo, y el 97% de las mismas ocurrió en países de bajos y medianos ingresos<sup>1</sup>. La tasa de mortalidad mundial ajustadas por la edad, (según población censal de 1981), por esta enfermedad, en el 2009 y 2010 fue de 1.3 y 1.4 por cada 100 000 habitantes<sup>2</sup>. En Colombia para el año 2010, se notificaron 23 445 pacientes en tratamiento anti-retroviral (TAR), aproximadamente un 25% eran mujeres y el incremento neto de pacientes del 2009 al 2010 fue de 7143<sup>3</sup>, por lo que se ha convertido en una gran problemática de salud pública.

Los fármacos antirretrovirales usados ampliamente en el tratamiento de los pacientes con VIH, se ha demostrado que presentan diversos factores como la toxicidad, la adherencia al tratamiento, las interacciones entre los diferentes medicamentos, la resistencia que puede hacer el virus, y factores de la genética individual que se pueden ver implicados en la farmacocinética de los medicamentos antirretrovirales y por lo tanto se verán asociados a una mala respuesta al tratamiento en los pacientes con VIH, ya sea presentando un aumento en la aparición de efectos adversos en el caso de los metabolizadores lentos, o en una baja adherencia al tratamiento en el caso de los metabolizadores ultrarapidos<sup>4</sup>, por lo que el desarrollo de la farmacogenómica de los ARV, y en general de diferentes fármacos, es una de las nuevas técnicas utilizadas para evaluar la efectividad de un fármaco y el desarrollo de efectos adversos en un paciente con una carga genómica específica.

Dentro de los inhibidores de la proteasa uno de los diferentes tipos de ARV que hay, tenemos al lopinavir que suele ser usado con el ritonavir para potenciar su efecto, por bloqueo de la proteasa, los dos fármacos en combinación previenen la multiplicación del VIH y pueden reducir la carga viral del paciente. Dentro de sus efectos secundarios más importantes tenemos las náuseas, vómitos, diarrea,

astenia y alteraciones del laboratorio como aumento de las transaminasas, hiperlipidemia e hiperglicemia<sup>5</sup>.

Otro tipo de fármacos usados en el tratamiento del VIH son los inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa reversa (INNTRs), estos inhiben el sitio activo de esta enzima. Estos agentes bloquean la actividad de ADN polimerasa causando un cambio conformacional y alterando el sitio activo de la enzima<sup>28</sup>. Entre los efectos secundarios más importantes originados por el Efavirenz tenemos la hipertrigliceridemia, alteraciones en el sueño, ansiedad, depresión, insomnio, alteraciones en el equilibrio, trastornos de la concentración, mareos, dolor de cabeza, somnolencia, rubor, dolor abdominal, diarrea, náuseas, vómitos, erupción cutánea, prurito y fatiga y dentro de las alteraciones del laboratorio que podemos encontrar está el aumento de las transaminasas<sup>6</sup>.

Los polimorfismos genéticos son variantes del genoma que aparecen por mutaciones en algunos individuos, se transmiten a la descendencia y adquieren cierta frecuencia en la población tras múltiples generaciones. Se ha estimado que hay una variante en cada 1.000 pares de bases de los 3.000 millones que configuran el genoma humano<sup>7</sup>.

Se ha determinado que el gen SLCO1B1, codifica para una proteína conocida como OATP (organic anion-transporting polypeptide) <sup>8</sup>, la cual se ha visto asociada a la farmacocinética de varios medicamentos dentro de los cuales encontramos a las estatinas, usado en el tratamiento de las dislipidemias<sup>9</sup> y también lo hemos visto asociado a los antirretrovirales inhibidores de la proteasas como lo son el Lopinavir y el Ritonavir que son 2 de los fármacos en los que se enfocará este proyecto. Se han logrado describir diferentes polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), que se relacionan con la función adecuada de este gen y de esta forma con niveles plasmáticos de los medicamentos y su toxicidad. El polimorfismo que se ha visto más implicado en una mala funcionalidad de este gen es la sustitución T521C, que modifica la función del gen<sup>10</sup>.

El gen CYP2B6 por su parte es el responsable del metabolismo de inhibidores de la transcriptasa reversa del tipo no nucleósido como el efavirenz y el nevirapine. Es un gen altamente polimórfico en el cual el polimorfismo G516T en unión del SNPs A785G, que se relaciona con el genotipo CYP2B6\*6 se encuentra asociado a una alta concentración de Efavirenz en plasma y la contribución a efectos adversos sobre el sistema nervioso central.

El objetivo general es estudiar el polimorfismo de los genes SLCO1B1 y CYP2B6 y su influencia sobre los niveles plasmáticos de Lopinavir, Ritonavir y Efavirenz respectivamente, en pacientes con VIH/SIDA de la Costa Caribe Colombiana.

Como objetivos específicos se plantean: Determinar las frecuencias de los SNPs (T521C, A388G y C463A) del gen SLCO1B1 en pacientes con tratamiento para el VIH-SIDA. Determinar las frecuencias de los SNPs (G516T, A785G y T983C) y tagSNPs del gen CYP2B6 en pacientes con tratamiento para el VIH-SIDA. Cuantificar los niveles plasmáticos de Lopinavir, Ritonavir y Efavirenz presentes en las muestras de plasma de los pacientes estudiados. Correlacionar los SNPs presentes con los niveles plasmáticos de Lopinavir, Ritonavir y Efavirenz en cada individuo. Caracterizar la población estudiada de acuerdo con las variables socio-demográficas: Edad y sexo

Con este estudio se podrá determinar un esquema de tratamiento individualizado en cierto tipo de pacientes para determinar si el protocolo elegido va a ser exitoso y que no tendrá una respuesta indeseable del paciente. El nuevo conocimiento obtenido es de gran importancia a nivel nacional ya que no existen reportes de estudios acerca del polimorfismo de los genes que interactúan con los medicamentos antirretrovirales.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realiza un estudio descriptivo, transversal de casos. La población diana está constituida por pacientes adultos con VIH, en la ciudad de Barranquilla y Santa Marta de Colombia; La población accesible por pacientes adultos con VIH, que estén bajo tratamiento antirretroviral, en centros de atención médica seleccionados en la ciudad de Barranquilla y Santa Marta de Colombia. La población elegible, se constituyó a la aplicación de los criterios de inclusión: Pacientes adultos de 15 a 65 años con diagnóstico de VIH confirmado, esquema de tratamiento antirretroviral que incluyan los fármacos Lopinavir, Ritonavir y Efavirenz y de exclusión Pacientes que no sigan el tratamiento antirretroviral con Lopinavir, Ritonavir y Efavirenz, que no lo hayan seguido adecuadamente o que lo hayan suspendido y pacientes que se nieguen a firmar el consentimiento informado, de acuerdo a esto la población elegible fue de 78 pacientes

## **INFORMACIÓN TÉCNICA**

En este estudio se estudiaron las macrovariables y variables: Pruebas de laboratorio: Concentraciones en plasma de los medicamentos Lopinavir, Ritonavir y Efavirenz, Polimorfismos del gen SLCO1B1, Polimorfismos del gen CYP2B6.

Este estudio se puede considerar como un estudio sin riesgo ético, de acuerdo con el artículo 11 de la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia. Se garantizará la confidencialidad de la información no consignando el nombre de los participantes en el estudio, de igual forma este estudio está siendo realizado con la previa firma del consentimiento informado de cada uno de los pacientes. Los datos fueron tomados mediante una toma de muestras y se consignaron en una base de datos para su posterior análisis.

El estudio se realizó mediante la obtención del ADN genómico a partir de sangre periférica y posterior genotipificación mediante amplificación de genes por el método de PCR en tiempo real, PCR-RFLP y la plataforma Luminex 200, para

determinar los diferentes genotipos presentes en cada uno de los polimorfismos presentes. Seguidamente, se cuantificaron los niveles de los medicamentos mediante HPLC que es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica, la cual utilizamos para determinar las concentraciones plasmáticas de lopinavir, ritonavir y efavirenz en cada uno de los pacientes.

Este proyecto hace parte de un macroproyecto general denominado como “Farmacogenómica del VIH-SIDA: Análisis del polimorfismo de los genes SLCO1B1 y CYP2B6, y su influencia sobre los niveles plasmáticos de lopinavir, ritonavir y efavirenz en pacientes con VIH/SIDA en la costa caribe de Colombia”. En que el que se ha estructurado por fases, la primera fase consistió en trabajar sobre los polimorfismos y su respectivo análisis, en la segunda fase se determinaron las concentraciones de los medicamentos en el plasma de los pacientes por el método de HPLC y a partir de eso asociar los polimorfismos que se estudiaron anteriormente con las concentraciones en plasma de los medicamentos de estos pacientes, siendo esta última fase la parte de este proyecto.

Una vez obtenidos los resultados del HPLC la tabulación de los datos se realizó de forma mecánica, utilizando el programa Excel para construir la base de datos de conformidad con las variables en estudio. Las variables cualitativas serán codificadas para el procesamiento. La información de la base de datos se llevó al programa SPSS Statistics v22.0.0.

## **ESTADÍSTICAS**

Para el procesamiento, la presentación y el posterior análisis de los resultados del estudio, en el componente analítico se realizaron tablas univariadas y bivariadas, y gráficos que puedan demostrar la asociación de los genes SLCO1B1 y CYP2B6

en la respuesta al tratamiento de los fármacos antirretrovirales en estudio. Los gráficos se realizaron conforme a la naturaleza de las variables que se analicen. Finalmente se realizarán análisis estadísticos como Chi<sup>2</sup> para variables cualitativas, t-test para variables cuantitativas para comparar la influencia de los genotipos sobre los niveles plasmáticos de los medicamentos. Se realizó un análisis estadístico aislado a los pacientes en los cuales no se detectaron concentraciones plasmáticas a pesar de que venían tomando los medicamentos y un análisis de las características sociodemográficas de las personas.

## **RESULTADOS**

Se analizaron las concentraciones plasmáticas en 78 pacientes con VIH en las ciudades de Barranquilla y Santa Marta con edades entre 15 y 65 años de edad.

En el estudio realizado de los 78 pacientes estudiados 29 estaban bajo tratamiento con efavirenz, 52 estaban en tratamiento con ritonavir y 45 en tratamiento con lopinavir. Se lograron tasas de detección plasmática de 83% para el efavirenz, 21% para el ritonavir y 64% para el lopinavir.

### **Asociación de los polimorfismos del gen CYP2B6 sobre los niveles plasmáticos del efavirenz.**

En los pacientes que estaban bajo tratamiento con efavirenz se mostró una media de edad de  $41 \pm 12.5$  años, y con una prevalencia del sexo masculino en 82% con 17% del sexo femenino. En estos pacientes se tomaron como valores de referencia para el análisis de los niveles plasmáticos del efavirenz unos niveles normales de 505.08 a 2872.642 ng/ml, se encontró que el 83% de los pacientes presentaron niveles plasmáticos normales del efavirenz, 13% presentaron niveles plasmáticos elevados del efavirenz y el 4% presentó niveles bajos de este fármaco.

De acuerdo a los polimorfismos, en estos pacientes en el tipaje realizado para la caracterización genética no se mostró ninguna variabilidad en el genotipo para los polimorfismos T785G y T983C, por lo que no se podía asociar ninguna



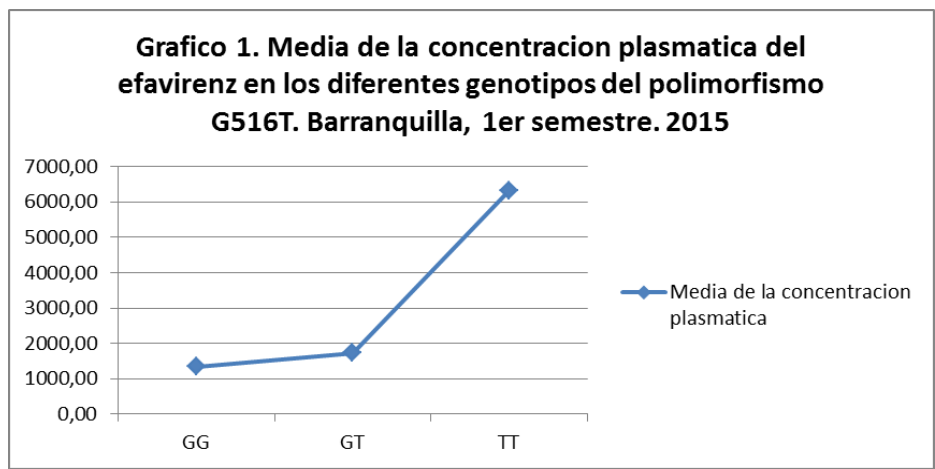
variabilidad de las concentraciones plasmáticas con alguno de estos polimorfismos.

Para el polimorfismo G516T se presentó una gran variabilidad genotípica mostrando un 38% de los pacientes con el genotipo GG, 54% pacientes con el genotipo GT y 8% de los pacientes con el genotipo TT. Asociando estos genotipos a las concentraciones plasmáticas se encontró que del 8% de los pacientes que presentaron el genotipo TT el 100% presento concentraciones plasmáticas elevadas de este fármaco. Ver tabla 1.

**Tabla 1. Frecuencia de los diferentes genotipos del gen G516T con los niveles plasmáticos del efavirenz. Barranquilla, 1er semestre. 2015**

	GG	GT	TT
Baja	0	1 (4%)	0
Normal	9 (38%)	11 (46%)	0
Alta	0	1 (4%)	2 (8%)

La media de las concentraciones plasmáticas fue de  $1336,16 \pm 480,82$  ng/ml para el genotipo GG,  $1719,76 \pm 842,41$  ng/ml para el genotipo GT y  $6310,3 \pm 1238,69$  ng/ml para el genotipo TT que clasifica como una concentración plasmática alta. Ver gráfico 1.



## **Asociación de los polimorfismos del gen SLC01B1 sobre los niveles plasmáticos del ritonavir**

En los pacientes que estaban bajo tratamiento con ritonavir en sus presentaciones Kaletra (400mg lopinavir/100mg ritonavir) o Norvir (100mg ritonavir) en los que se detectaron concentraciones plasmáticas, se mostró una media de edad de  $40 \pm 10.3$  años, y con una prevalencia del sexo masculino en 63% con 36% del sexo femenino. En estos pacientes se tomaron como valores de referencia para el análisis de los niveles plasmáticos del ritonavir unos niveles normales de 80-840 ng/ml<sup>12</sup>, se encontró que el 64% de los pacientes presentaron niveles plasmáticos normales del efavirenz, 27% presentaron niveles plasmáticos elevados del efavirenz y el 9% presento niveles bajos de este fármaco.

Para el polimorfismo A388G se presentó una gran variabilidad genotípica en cada uno de los pacientes mostrando 18% de los pacientes con el genotipo AA, 54% de los pacientes con el genotipo AG y 27% de los pacientes con el genotipo GG. Del 27% de los pacientes que presentaron el genotipo GG, el 100% presento concentraciones plasmáticas normales de este fármaco. Ver tabla 2.

Para el polimorfismo C463A se presentó una genotipificación de los pacientes mostrando un 72% de los pacientes con el genotipo CC, 27% de los pacientes con el genotipo CA y ningún paciente mostro genotipo AA. Por lo que no se pudo asociar el alelo 463A con los niveles plasmáticos de ritonavir, sin embargo a tener en cuenta cabe resaltar que los pacientes que tenían el gen mutado en 1 de sus dos alelos es decir el genotipo CA que correspondió a un 27% de los pacientes que presentaron el genotipo CA, 18% de los pacientes presentaron concentraciones plasmáticas normales de ritonavir y un 9% de los pacientes presento concentraciones plasmáticas elevadas. Ver tabla 2.

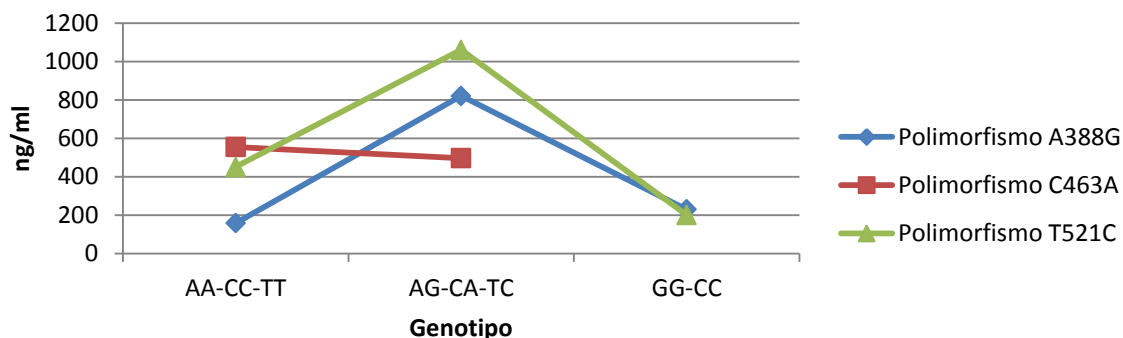
Para el polimorfismo T521C se presentó una variabilidad genotípica mostrando un 72% de los pacientes con el genotipo TT, 18% de los pacientes con el genotipo TC y 9% de los pacientes con el genotipo CC. El paciente que presento el genotipo CC que correspondió a un 9% del total de pacientes en el cual se detectaron concentraciones plasmáticas, presento una concentración normal de ritonavir.

**Tabla 2. Frecuencia de los diferentes genotipos de los polimorfismos A388G, C463A y T521C del gen SLC01B1 con los niveles plasmáticos del ritonavir. Barranquilla, 1er semestre. 2015**

<b>Polimorfismo A388G</b>	AA	AG	GG
Baja	1 (9%)	0	0
Normal	1 (9%)	3 (27%)	3 (27%)
Alta	0	3 (27%)	0
<b>Polimorfismo C463A</b>	CC	CA	AA
Baja	1 (9%)	0	0
Normal	5 (45%)	2 (18%)	0
Alta	2 (18%)	1 (9%)	0
<b>Polimorfismo T521C</b>	TT	TC	CC
Baja	1 (9%)	0	0
Normal	5 (45%)	1 (9%)	1 (9%)
Alta	2 (18%)	1 (9%)	0

En el polimorfismo A388G, la media de las concentraciones plasmáticas fue de 158,09 ± 149.32 ng/ml para el genotipo AA, 820,3 ± 491,67 ng/ml para el genotipo AG y 229,8 ± 121,58 ng/ml para el genotipo GG. En el polimorfismo C463A, la media de las concentraciones plasmáticas fue de 554,71 ± 532.2 ng/ml para el genotipo CC y 496,7 ± 401.4 ng/ml para el genotipo CA. La media de las concentraciones plasmáticas en el polimorfismo T521C fue de 450,6 ng/ml para el genotipo TT, 1061,1 ng/ml para el genotipo TC y el paciente que presentaba el genotipo CC presento una concentración plasmática de 200,84 ng/ml. Ver gráfico 2.

**Grafico 2. Media de las concentraciones plasmaticas de ritonavir en los polimorfismos A388G, C463A y T521C del gen SLCO1B1. Barranquilla, 1er semestre. 2015**



### **Asociación de los polimorfismos del gen SLCO1B1 sobre los niveles plasmáticos del lopinavir**

En los pacientes que estaban bajo tratamiento con lopinavir en su presentación Kaletra (400mg lopinavir/100mg ritonavir) en los que se logró detectar concentraciones plasmáticas de lopinavir se mostró una media de edad de  $36 \pm 10.9$  años, y con una prevalencia del sexo masculino en 65% con 34% del sexo femenino. En estos pacientes se tomaron como valores de referencia para el análisis de los niveles plasmáticos del ritonavir unos niveles normales de 2400-13800 ng/ml<sup>13</sup>, se encontró que el 90% de los pacientes presentaron niveles plasmáticos normales de lopinavir, 7% presentaron niveles plasmáticos elevados del efavirenz y el 3% presento niveles bajos de este fármaco.

Para el polimorfismo A388G se presentó una variabilidad genotípica en cada uno de los pacientes mostrando 7% de los pacientes con el genotipo AA, 55% de los pacientes con el genotipo AG y 38% de los pacientes con el genotipo GG. En los pacientes que presentaron el genotipo GG, el 100% de los pacientes presentaron concentraciones plasmáticas normales de este fármaco. Ver tabla 3.

Para el polimorfismo C463A se presentó una genotipificación de los pacientes mostrando el 75% de los pacientes con el genotipo CC, 24% pacientes con el genotipo CA y ningún paciente mostro genotipo AA. Del 24% de los pacientes

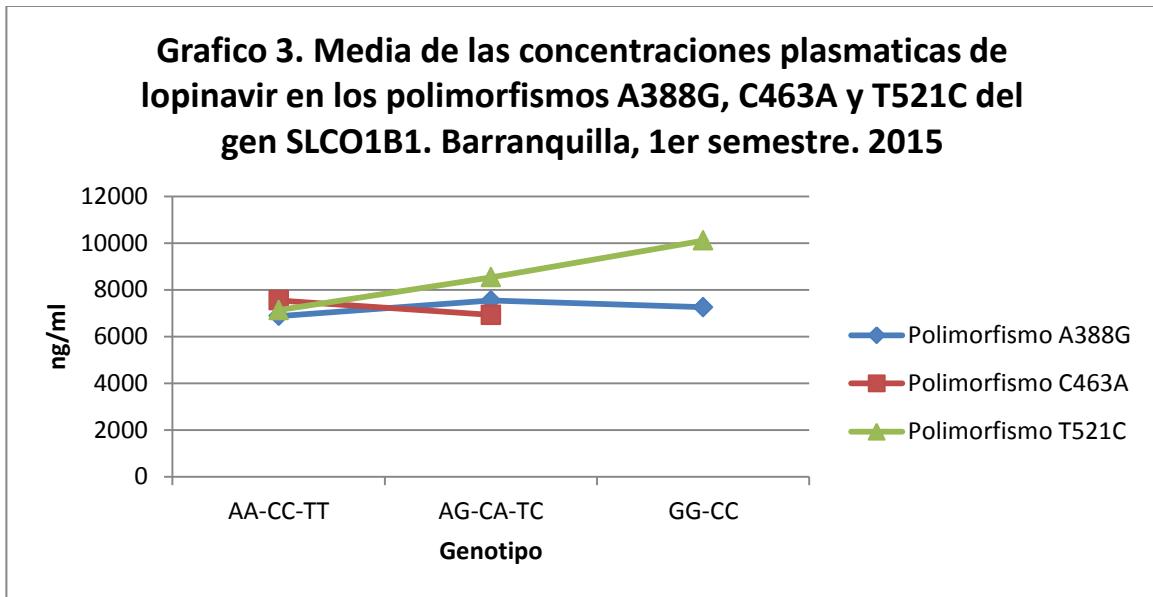
que presentaron el genotipo CA, 21% pacientes presentaron concentraciones plasmáticas normales de lopinavir, y 3% de los pacientes presento concentraciones plasmáticas elevadas. Ver tabla 3.

Para el polimorfismo T521C se presentó una variabilidad genotípica en cada uno de los pacientes mostrando 86% de los pacientes con el genotipo TT, 10% de los pacientes con el genotipo TC y 3% de los pacientes con el genotipo CC. El 3% que correspondió a un paciente que presento el genotipo CC presento una concentración normal de lopinavir. Ver tabla 3.

<b>Tabla 3. Frecuencia de los diferentes genotipos de los polimorfismos A388G, C463A y T521C del gen SLC01B1 con los niveles plasmáticos del lopinavir. Barranquilla, 1er semestre. 2015</b>			
<b>Polimorfismo A388G</b>	AA	AG	GG
Baja	0	1 (3%)	0
Normal	2 (7%)	13 (45%)	11 (38%)
Alta	0	2 (7%)	0
<b>Polimorfismo C463A</b>	CC	CA	AA
Baja	1 (3%)	0	0
Normal	20 (69%)	6 (21%)	0
Alta	1 (3%)	1 (3%)	0
<b>Polimorfismo T521C</b>	TT	TC	CC
Baja	1 (3%)	0	0
Normal	22 (76%)	3 (10%)	1 (3%)
Alta	2 (7%)	0	0

La media de las concentraciones plasmáticas para el polimorfismo A388G fue de  $6875,28 \pm 1856,7$  ng/ml para el genotipo AA,  $7539,7 \pm 4212,6$  ng/ml para el genotipo AG y  $7253,2 \pm 3026,9$  ng/ml para el genotipo GG. La media de las concentraciones plasmáticas en el polimorfismo C463A fue de  $7545,61 \pm 3347,9$  ng/ml para el genotipo CC y  $6922,9 \pm 4600,1$  ng/ml para el genotipo CA. Y en el polimorfismo T521C se presentó una media de las concentraciones plasmáticas de  $7129,1 \pm 3816,5$  ng/ml para el genotipo TT,  $8537,6 \pm 2430,2$  ng/ml para el

genotipo TC y el paciente que presentaba el genotipo CC presento una concentración plasmática de 10113,1 ng/ml para el genotipo GG. Ver gráfico 3.



### **Asociación de los polimorfismos con niveles plasmáticos elevados de efavirenz, lopinavir y ritonavir**

En el análisis cualitativo se encontró que el polimorfismo G516T tiene una alta significancia estadística  $p=0,002$ , asociándolo a niveles plasmáticos elevados de efavirenz. Por su parte los polimorfismos A388G, C463A y T521C no se asociaron estadísticamente con niveles elevados de los inhibidores de proteasa lopinavir y ritonavir.

**Tabla 4. Asociación de los polimorfismos con niveles plasmáticos elevados de Efavirenz, lopinavir y ritonavir**

Asociación	Valor de p
Efavirenz – G516T	$X^2_{4\text{ gl}} = 16,43$ ; p-value=0.002
Ritonavir – A388G	$X^2_{4\text{ gl}} = 7,857$ ; p-value=0,097
Ritonavir – C463A	$X^2_{2\text{ gl}} = 0,437$ ; p-value=0,804
Ritonavir – T521C	$X^2_{4\text{ gl}} = 1,310$ ; p-value=0,860
Lopinavir – A388G	$X^2_{4\text{ gl}} = 2,520$ ; p-value=0,641
Lopinavir – C463A	$X^2_{4\text{ gl}} = 0,730$ , p-value=0,948
Lopinavir – T521C	$X^2_{4\text{ gl}} = 1,013$ , p-value=0,603

## DISCUSIÓN

Este estudio busca mostrar una asociación de los diferentes polimorfismos de los genes CYP2B6 y SLCO1B1 sobre los niveles plasmáticos de los medicamentos Efavirenz y lopinavir/ritonavir respectivamente. Por parte del efavirenz en los 29 pacientes estudiados, en 83% de los pacientes se lograron detectar concentraciones plasmáticas del efavirenz donde se mostró una asociación de las concentraciones plasmáticas elevadas de este y el polimorfismo G516T, debido a que en el 100% de los pacientes en los que se presentaban el genotipo TT, se asoció a concentraciones elevadas de este fármaco con una media en la concentración plasmática de  $6310,3 \pm 1238.69$  ng/ml teniendo valores de referencia de las concentraciones normales de 505.08 a 2872.642 ng/ml, mientras que los genotipo GG y GT mostraron concentraciones plasmáticas normales siendo estas de  $1336,16 \pm 480,82$  ng/ml y  $1719,76 \pm 842,42$  ng/ml, respectivamente. Además se presentó un valor de  $p= 0.002$  que asocio los niveles plasmáticos elevados de efavirenz con el genotipo TT. Esto se ha asociado con estudios anteriores que han demostrado que el polimorfismo del gen CYP2B6 influye notablemente el metabolismo del efavirenz en microsomas hepáticos humanos. Es importante destacar que, el alelo CYP2B6 \* 6 que alberga los SNPs c.516G > T [Q172H] y c.785A > G [K262R] se ha asociado también significativamente con una disminución pronunciada en la expresión y la actividad CYP2B6, así como una baja tasa de hidroxilación del Efavirenz<sup>9</sup>.

En Estados Unidos se realizó un estudio en el que se investigaron las vías de eliminación de los 200 medicamentos que se venden con más frecuencia, en número de receta en los Estados Unidos. Los resultados obtenidos mostraron que la enzima CYP2B6 da cuenta entre 3% y 6% del pool microsomal hepático pero,

debido a los polimorfismos genéticos, hay variabilidad interindividual de hasta 100 veces en los niveles hepáticos de la enzima; por ejemplo, la variante alélica más común (CYP2B6\*6) reduce hasta en 75% la expresión de la enzima y puede verse implicada en casos como la neurotoxicidad por Efavirenz y cardiotoxicidad por metadona (alteraciones electrocardiográficas) en homocigotos mutados 2B6\*6, pertenecientes al fenotipo “metabolizador lento” que no permite un buen metabolismo del fármaco, llegándose a acumular en el organismo y produciendo los efectos tóxicos<sup>14</sup>.

En China se realizó un estudio en el que se buscó la prevalencia del polimorfismo CYP2B6, el perfil de efectos secundarios, y la farmacocinética de Efavirenz en un grupo de pacientes infectados por el VIH en el sur de China. Los pacientes con VIH fueron reclutados en el Hospital de tercer nivel de Shenzhen, China. La prevalencia de CYP2B6 G516T y concentración de Efavirenz en plasma fueron determinados. La farmacocinética se evaluó utilizando muestras de sangre de pacientes seleccionados en 0, 1, 2, 4, 8, 12, y 24 horas después de la última dosis de Efavirenz. Entre octubre de 2007 y junio de 2008, se reclutaron 79 pacientes chinos con el VIH. La secuenciación de CYP2B6 en la posición 516 dio 42 GG, 34 GT, y 3 genotipos TT, con la correspondiente media del nivel plasmático del Efavirenz de 3.4, 4.1 y 8.1 mg / L, respectivamente. La frecuencia alélica de 516 G > T fue de 0,25. Dieciocho pacientes completaron el estudio farmacocinético: el genotipo TT dio la vida media más larga ( $T_{1/2}$ ), la más alta concentración de Efavirenz en plasma, y el área bajo la curva más grande. El volumen de distribución por unidad de superficie ( $V_d$  ss), el aclaramiento total (Cl tot) y constante de eliminación ( $k_e$ ) fueron los más bajos. No hubo asociación entre la aparición de efectos secundarios y la concentración de Efavirenz (prueba de  $\chi^2$ ,  $P > 0,05$ ). La farmacocinética de EFV del genotipo TT difiere significativamente de los genotipos GG y GT. La acumulación de Efavirenz puede potencialmente ocurrir con el tiempo, causando toxicidad en los genotipos TT y GT<sup>15</sup>.

En 2012 se realizó un estudio en Tailandia en el que se examinaron las frecuencias de CYP2B6 y la asociación entre los polimorfismos de CYP2B6 y las concentraciones de Efavirenz en plasma en una población de individuos infectados por VIH-1. La concentración plasmática de Efavirenz a dosis mediana se determinó a las 12 semanas después de la iniciación de una terapia antirretroviral (tenofovir, lamivudina y efavirenz) en 100 adultos tailandeses utilizando cromatografía líquida de alta resolución. Los polimorfismos del CYP2B6 que se hallaron fueron (c.64C > T, c.499C > G, c.516G > T, c.785A > G, c.1375A > G, c.1459C > T) y se realizaron por PCR en tiempo real basada en discriminación alélica. Los polimorfismos más frecuentes en este grupo fueron el CYP2B6 c.785A > G y c.516G > T, que tenía una frecuencia de 0,36 y 0,32, respectivamente. A partir de los casos observados, dos polimorfismos de nucleótido único (SNP) (c.516G > T y c.785A > G) se asociaron significativamente con los niveles altos en plasma del efavirenz ( $p < 0,05$ ). Las combinaciones haplotípicas más frecuentes



fueron \* 1 / \* 6, \* 1 / \* 1, \* 1 / \* 2 y \* 6 / 6 \* a una frecuencia de 42,0 % , 32,0 % , 8,0 % y 7,0 % , respectivamente. El aumento de las concentraciones plasmáticas de efavirenz estuvieron presentes en individuos con CYP2B6 \* 6 / 6 \* [7.210 mg / L; rango intercuartil (IQR), 5,020-9,260], en comparación con aquellos con CYP2B6 \* 1 / \* 1 (1.570 mg / L; IQR, 1,295 a 2,670),  $p < 0,001$ . En este estudio se encontró que el impacto de los SNPs se correlaciona con un alto nivel de las concentraciones plasmáticas de efavirenz<sup>16</sup>.

Por lo tanto asociando los estudios realizados en Estados Unidos, Tailandia y China con nuestro estudio, se puede mostrar una gran asociación estadística del polimorfismo G516T y niveles elevados de efavirenz en plasma de estos pacientes, por otra parte debido a una baja frecuencia de los polimorfismos de los genotipos GG y CC de los polimorfismos A785G y T983C debido a que en nuestra población en todos los pacientes estudiados presentaron un genotipo AA y TT respectivamente no se pudo asociar alguno de estos polimorfismos sobre los niveles plasmáticos de este mismo medicamento.

Buscando una asociación entre los niveles plasmáticos de lopinavir/ritonavir encontramos que no hubo ninguna asociación estadísticamente significativa con los polimorfismos A388G, C463A y T521C, mostrando en el polimorfismo A388G, un valor de  $p=0,097$  asociándolo a concentraciones elevadas del ritonavir y un valor de  $p=0,641$  asociándolo a lopinavir, por parte del polimorfismo C463A se mostró un valor de  $p=0,804$  asociándolo a concentraciones elevadas de ritonavir y un valor de  $p=0,948$  asociándolo al lopinavir, por ultimo para el polimorfismo T521C se mostró un valor de  $p=0,860$  asociándolo a concentraciones elevadas de ritonavir y un valor de  $p=0,603$ . Además de que a diferencia de lo que se mostró con el polimorfismo G516T y los niveles plasmáticos de los pacientes en tratamiento con efavirenz, en los genotipos mutados GG, AA y CC en los polimorfismo A388G, C463A y T521C respectivamente, se lograban identificar pacientes que presentaban estos genotipos y a su vez niveles normales de lopinavir/ritonavir.

Esto se contrasta con estudios anteriores realizados que mostraron una concentración mínima de lopinavir en plasma que se asoció significativamente con SLCO1B1 521T > C ( $P = 0,03$ ). En este estudio hubo una tendencia significativa de aumento de las concentraciones de lopinavir de TT a TC a los genotipos CC ( $P = 0,02$ ). Los portadores del alelo 521C en concentraciones plasmáticas de lopinavir fueron significativamente más altos en relación con el genotipo TT ( $P = 0,03$ ). Estos resultados se asociaron con un menor consumo de lopinavir por los hepatocitos en los portadores del alelo 521C<sup>17</sup>.

En otro estudio en el que se realizó un análisis farmacocinético de la población con 594 muestras de plasma de 375 pacientes tratados con lopinavir / Ritonavir. Las simulaciones del perfil de concentración de lopinavir se realizaron con diferentes regímenes de dosificación teniendo en cuenta los diferentes alelos. Los

datos obtenidos mostraron una asociación entre SLCO1B1 521T > C y el aclaramiento de lopinavir. La asociación es probable que sea mediada a través de reducción de la absorción por los hepatocitos que conducen a mayores concentraciones plasmáticas de lopinavir<sup>18</sup>.

En uno de los últimos estudios descritos, que se realizó en el año 2012, se mostró que no hubo influencia estadísticamente significativa del polimorfismo A388G en el gen SLCO1B1 sobre la farmacocinética del lopinavir y ritonavir en niños, al igual como se mostró en este estudio, sin embargo en este estudio al igual que los mencionados anteriormente el polimorfismo T521C que también se asoció con niveles elevados de estos inhibidores de la proteasa<sup>19</sup>.

Con estos estudios realizados se puede decir que al igual que los estudios descritos anteriormente, el polimorfismo A388G y C463A no afectan farmacocinéticamente al ritonavir/lopinavir por lo que se continúa demostrando esta afirmación. Por su parte el polimorfismo T521C no se asoció con niveles elevados de lopinavir/ritonavir como se esperaría por los estudios descritos anteriormente que mostraban una asociación significativa entre este polimorfismo y niveles elevados de lopinavir/ritonavir, sin embargo en nuestro estudio solo hubo la presencia de un solo paciente con el alelo 521C.

## **CONCLUSIONES**

De acuerdo a los resultados anteriores, se demuestra una fuerte influencia del genotipo TT del polimorfismo G516T del gen CYP2B6 sobre los niveles plasmáticos del efavirenz, por lo que puede haber una mayor frecuencia de efectos adversos y secundarios en pacientes con el alelo 516T.

La variabilidad genotípica de los polimorfismos T785G y T983C en nuestra población es muy baja, por lo que todos los paciente son genéticamente normales en estos polimorfismos y no se puede asociar algún defecto en la farmacocinética de algún medicamento con ellos, en esta población o en alguna genotípicamente similar a la nuestra.

Los polimorfismos A388G, C463A (genotipo CA), T521C del gen SLCO1B1 no presentan significancia estadística asociándolo con niveles plasmáticos elevados de lopinavir/ritonavir, por lo que se determina que estos polimorfismos no afectan la farmacocinética de los inhibidores de la proteasa.

No se puede asociar alguna variabilidad en los resultados con el sexo de los pacientes debido a que en ambos se lograron detectar concentraciones tanto

altas y bajas en los diferentes genotipos de los polimorfismos de los genes SLCO1B1 y CYP2B6.

Debido a una baja prevalencia del genotipo TT en este estudio, dado que solo 2 pacientes que venían tomando este ARV presentaban este genotipo, al igual que en los estudios realizados anteriormente en los que la prevalencia de este genotipo también fue bastante baja, se puede considerar la necesidad de realizar más estudios que sigan demostrando la asociación del polimorfismo G516T del gen CYP2B6 sobre los niveles plasmáticos del efavirenz.

Por parte a su vez de acuerdo al polimorfismo T521C del gen SLCO1B1 se considera necesaria la realización de más estudios a nivel nacional que ayuden a comprobar la falta de asociación del alelo 521C con niveles plasmáticos elevados de lopinavir/ritonavir, ya que en este estudio se presentó una baja frecuencia del alelo 521C en estos pacientes.

Con este estudio se recomienda que se comience a tener en cuenta la opción de realizar un genotipado de pacientes con VIH, antes de comenzar el tratamiento antirretroviral, para de esta manera realizarle un tratamiento dirigido a cada paciente, que pueda llegar a tener la presencia de algún polimorfismo que le impida metabolizar correctamente el ARV y de esta manera pueda llegar a tener una falla el manejo de la enfermedad.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Organización mundial de la salud 10 datos sobre el VIH/SIDA. (en línea). Disponible en: <http://www.who.int/features/factfiles/hiv/es/> (Consulta 14/02/2014)
2. Domínguez Y, Puig M, Elías L. VIH/Sida y terapia antirretroviral: efectos endocrino- metabólicos. Revista peruana de epidemiología Dic 2012; 16 (3): 01-09
3. Organización panamericana de la salud. Tratamiento antirretroviral bajo la lupa: un análisis de salud pública en Latinoamérica y el Caribe (en línea). Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=18084&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=18084&Itemid) (Consulta 28/02/2014)
4. Eiros J.M, Hernández B, Labayru C, Ortiz R. Elección y uso de las pruebas de detección de resistencias del VIH (en línea). Disponible en: [http://www.seq.es/seq/html/revista\\_seq/0301/rev3.html](http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0301/rev3.html) (Consulta 23/02/2014)
5. AIDS info. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents (en línea) Disponible en:

<http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf> (Consulta 21/04/2014)

**6.** European Medicine agency Efavirenz TEVA (en línea) Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002352/human\\_med\\_001530.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002352/human_med_001530.jsp&mid=WC0b01ac058001d124) (Consulta 24/03/2014)

**7.** Iniesta R, Guinóa E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005; 19(4)

**8.** Romaine SP1, Bailey KM, Hall AS, Balmforth AJ. The influence of SLCO1B1 (OATP1B1) gene polymorphisms on response to statin therapy. *Pharmacogenomics J.* 2010 Feb;10(1):1-11

**9.** Oshiro C, Mangravite A, Klein A, Altman R. PharmGKB very important pharmacogene: SLCO1B1. *Pharmacogenet Genomics.* Mar 2010; 20(3): 211–216.

**10.** Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem.* 2008; 392: 1093-108.

**11.** EMC. Sustiva 600 mg Film-Coated Tablets. (En línea) Disponible en: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/11284> (Consulta 15/06/2015)

**12.** EMC. Norvir Oral Solution. (En línea) Disponible en: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/6032> (Consulta 15/06/2015)

**13.** EMC. Kaletra 200 mg/50 mg film-coated tablets. (En línea) Disponible en: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/18442> (Consulta 15/06/2015)

**14.** Rotger M, Colombo S, Furrer H, Bleiber G, Buclin T, Lee BL, et al. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics.* 2005 Jan; 15 (1):1-5.

**15.** To KW, Liu ST, Cheung SW, Chan DP, Chan RC, Lee SS. Pharmacokinetics of plasma efavirenz and CYP2B6 polymorphism in southern Chinese. *Ther Drug Monit.* 2009 Aug;31(4):527-30.

**16.** Sukasem C, Chamnanphon M, Koomdee N, Puangpetch A, Santon S, Jantararoungtong T, et al. High plasma efavirenz concentration and CYP2B6 polymorphisms in Thai HIV-1 infections. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2013;28(5):391-7. Epub 2013 Feb 12.

- 17.** Kohlrausch FB, de Cássia Estrela R, Barroso PF, Suarez-Kurtz G. the impact of SLCO1B1 polymorphisms on the plasma concentration of lopinavir and ritonavir in HIV-infected men. *Br J Clin Pharmacol.* 2010 ene; 69(1):95-8.
- 18.** Rakhmanina. N, Neely. M, Van Schaik. Ron, et. Al. CYP3A5, ABCB1 and SLCO1B1 Polymorphisms and Pharmacokinetics and Virologic Outcome of Lopinavir/Ritonavir in HIV-infected Children. *The Drug Monit.* 2011 August; 33(4): 417–424. doi:10.1097/FTD.0b013e318225384f.
- 19.** Schipani A, Egan D, Dickinson L, Davies G, Boffito M, Youle M, Khoo S, Back D, Owen A. Estimation of the effect of SLCO1B1 polymorphisms on lopinavir plasma concentration in HIV-Infected Adults. *Antivir Ther.* 2012; 17(5): 861–868.