

**UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA**

**PROGRAMA DE DOCTORADO: AVANCES EN MEDICINA INTERNA**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS**



**SISTEMA HLA Y FACTORES FARMACOGENÉTICOS EN LA EVOLUCIÓN  
DE LA INFECCIÓN POR VIH-1 EN PACIENTES DE LAS PALMAS DE GRAN  
CANARIA**

Tesis Doctoral presentada por **D<sup>a</sup> Olga Montes Ares**

Dirigida por el **Dr. D. José Luis Pérez Arellano**

Codirigida por el **Dr. D. Alberto Torío Ruiz**

**El Director**

**El Codirector**

**La Doctoranda**

Las Palmas de Gran Canaria, a 23 de Noviembre de 2015



---

## 1. INTRODUCCIÓN

1.1. Complejo Mayor de Histocompatibilidad	3
1.1.1. Estructura génica del HLA	3
1.1.2. Estructura y función de las moléculas HLA	6
1.2. Infección por el VIH-1	8
1.2.1. Breve historia de los retrovirus.	8
1.2.2. Origen de los virus de la inmunodeficiencia humana	9
1.2.3. VIH. Características generales	10
1.3. HLA y VIH	21
1.4. Farmacogenética y VIH	23
1.4.1. Reacciones de Hipersensibilidad a Abacavir y HLA-B*57:01.	24
1.4.2. Reacciones de Hipersensibilidad a Nevirapina/Efavirenz y HLA-DRB1*01:01	26
1.5. CCR5	28
1.5.1. Estructura y función.	28
1.5.2. VIH y CCR5.	30
1.6. CYP2B6	32

## 2. OBJETIVOS

## 3. PACIENTES Y MÉTODOS

3.1. Población de estudio	41
3.2. Diagnóstico Microbiológico	42
3.3. Recuento de linfocitos T CD4	45
3.4. Extracción ADN	46
3.5. Técnicas para el tipaje HLA-B y HLA-DRB1	47
3.6. Caracterización del genotipo CCR5 $\Delta$ 32	53
3.7. Determinación del polimorfismo CYP2B6 516>GT	54
3.8. Análisis Estadístico	56

<b>4. RESULTADOS</b>	
4.1. Características de la población estudiada	59
4.2. Frecuencias HLA-B	63
4.3. Frecuencias HLA-DRB1	67
4.4. Infecciones oportunistas y HLA	70
4.4.1. Candidosis	70
4.4.2. Neumonía por <i>Pneumocystis jirovecii</i>	71
4.4.3. Tuberculosis	74
4.4.4. Infección por citomegalovirus	76
4.4.5. Neumonías recurrentes	77
4.4.6. Otras Infecciones	79
4.5. Coinfecciones y HLA	80
4.5.1. Coinfección VIH/VHB	80
4.5.2. Coinfección VIH/VHC	81
4.5.2. Coinfección VIH/VHB/VHC	83
4.6. Sarcoma de Kaposi y HLA	85
4.7. Evolución del recuento de linfocitos T CD4 y HLA	87
4.8. Caracterización del genotipo CCR5 $\Delta$ 32	98
4.9. HLA-DRB1 y Reacciones de Hipersensibilidad a Nevirapina	99
4.10. CYP2B6 y Reacciones de Hipersensibilidad a Nevirapina	102
<b>5. DISCUSIÓN</b>	107
<b>6. CONCLUSIONES</b>	129
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	133
<b>8. INDICE DE TABLAS</b>	157
<b>9. INDICE DE FIGURAS</b>	161

## ABREVIATURAS

---

aas	Aminoácidos
ABC	Abacavir
Ac	Anticuerpo
AcMo	Anticuerpo monoclonal
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ag	Antígeno
APC	Célula presentadora de antígeno
ARN	Ácido ribonucleico
CD	<i>Cluster differentiation</i> -grupo de diferenciación
CHUIMI	Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil
CMIA	Inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas
CRF	Formas recombinantes circulantes
CYP	Citocromo P450
dNTPs	Deoxinucleótidos trifosfato
DRESS	<i>Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms</i>
ECD	Ficoeritrina-texas red
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EFV	Efavirenz
ELISA	Enzimo-inmunoanálisis

FE	Factor etiológico
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
FP	Factor preventivo
GWAS	<i>Genome-wide association study</i> - estudio de asociación del genoma completo
HLA	Antígeno leucocitario humano
HSP	<i>Heat shock protein</i> -proteína de choque térmico
Ig	Inmunoglobulina
IL	Interleucina
kDa	Kilodalton
kb	Kilobase
MHC	Complejo principal de histocompatibilidad
NF-κB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de células B activadas
NK	<i>Natural killer</i> -células asesinas naturales
NNRTIs	Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa
ns	No significativo
NVP	Nevirapina
Pb	Pares de base
PC5	Ficoeritrina-cianina-5
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PE	Ficoeritrina
RD1	Ficoeritrina
RHS	Reacción de Hipersensibilidad
RLUs	Unidades relativas de luz
RR	Riesgo relativo

RT-PCR	<i>Reverse transcription polymerase chain reaction-reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa</i>
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> - polimorfismo de un solo nucleótido
SSO	Oligonucleótidos específicos de secuencia
SSP	<i>Sequence specific priming</i> -cebadores específicos de secuencia
TNF	Factor de necrosis tumoral
UI	Unidad internacional
VHB	Virus B de la hepatitis
VHC	Virus C de la hepatitis
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
WT	<i>Wild type</i> -gen natural o silvestre





## 1. INTRODUCCIÓN

---



## 1.1. COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

El sistema inmune posee en el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) una de sus más importantes y efectivas herramientas frente a cualquier agresión externa que amenace a nuestro organismo. Este sistema se conoce en el ser humano como HLA (del inglés, *Human Leucocyte Antigens*) y tiene como característica fundamental su alto grado de polimorfismo.

El sistema HLA es un grupo de genes compuestos de aproximadamente 4 millones de pares de bases, que se localizan en el brazo corto del cromosoma 6 y constituyen cerca del 0,1% del total del genoma humano.

El descubrimiento por Jean Dausset de este sistema fue uno de los mayores hitos en la historia de la inmunología. En 1954 Dausset observó que tras una transfusión sanguínea aparecían anticuerpos frente a leucocitos, que reaccionaban específicamente con las células de los donantes. Estos trabajos llevaron a la definición del primer antígeno descrito del sistema HLA, que en un principio se identificó como MAC (HLA-A2).

### 1.1.1. Estructura génica del HLA

El sistema HLA se divide en tres regiones denominadas clases.

- HLA de clase I

La región de clase I es la más próxima al telómero y contiene entre otros los conocidos como genes HLA clásicos correspondientes a los loci HLA-A, -B y -C, además de otros genes no clásicos (HLA-E, HLA-F y HLA-G).

Un gen HLA de clase I consta de 8 exones, que darán lugar a una proteína de 340 aminoácidos (aas). Esta proteína consta de tres regiones extracelulares denominadas  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$ , una región transmembrana y una región citoplásmica. Los exones 2, 3 y 4 codifican las regiones extracelulares. El exón 5 codifica la región transmembrana, y los exones 6, 7 y 8 codifican la región citoplásmica. Las zonas más polimórficas del gen se sitúan en las secuencias que codifican los aas 60 a 100 del dominio  $\alpha 1$ , y 150 a 200 del dominio  $\alpha 2$ , ya que éstas serán las zonas de unión de los péptidos.

- HLA de clase II

La región de clase II está situada en una posición más centromérica y engloba a los genes que codifican las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  de las moléculas presentadoras de antígeno HLA-DR, -DQ y -DP. Esta región también posee otros genes que participan en el procesamiento y presentación peptídica que realizan las moléculas de HLA tanto de clase I como de clase II, éstos son los genes TAP1 y TAP2, LMP2 y LMP7, y HLA-DMA y -DMB.

La sub-región HLA-DR consta de un único gen para la cadena  $\alpha$  (HLA-DRA), 5 genes para la cadena  $\beta$  y 4 pseudogenes. Dentro de este locus se pueden producir varios reordenamientos, lo que hace que no todos los genes HLA-DRB estén presentes en todos los haplotipos y que existan combinaciones específicas de haplotipo (Kawai J y col., 1989; Rollini P y col., 1985). La especificidad en esta sub-región, viene dada por la cadena  $\beta$ , que será la que determine la especificidad DR, estando descritos más de 300 alelos.

La sub-regiones DQ y DP, son similares, ambas contienen dos genes para las cadenas  $\alpha$  y dos para las cadenas  $\beta$  (DQA/DQB y DPA/DPB). Las cadenas  $\alpha$  muestran un polimorfismo limitado, mientras la  $\beta$  es altamente polimórfica, y es la que determina los antígenos DQ y DP. Las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  en individuos heterocigotos se emparejan formando heterodímeros  $\alpha/\beta$ , pudiendo hacerlo tanto en *cis* como en *trans*,  $\alpha$  y  $\beta$  de un mismo cromosoma, o  $\alpha$  de un cromosoma y  $\beta$  del otro. Por esta razón se pueden formar 4 moléculas distintas tanto de DQ como de DP.

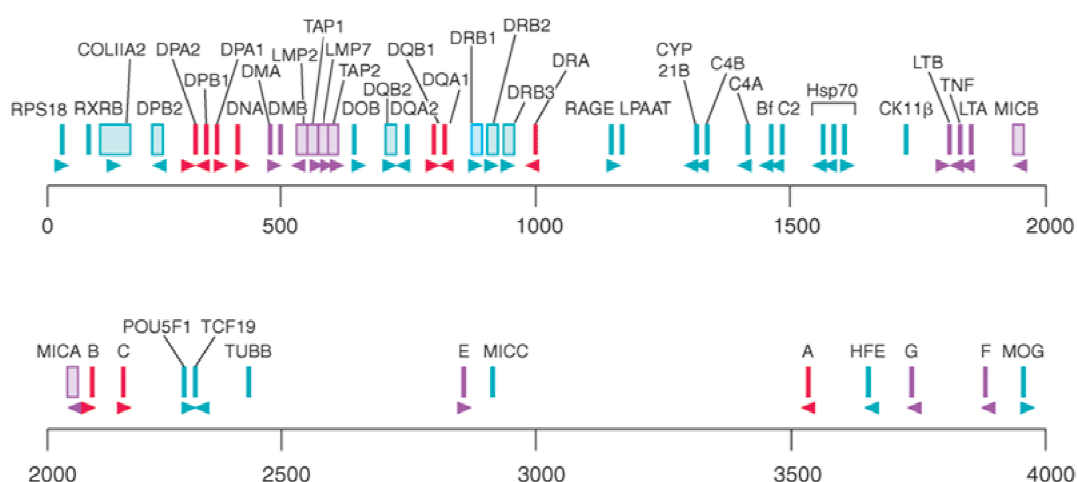
La estructura del gen de la cadena  $\alpha$  de HLA clase II típico consta de 5 exones. Los exones 2 y 3 codifican los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ , y el polimorfismo se centra en el exón 2 que es el responsable de la estructura de unión a péptido (Marsh y Bodmer, 1995). El exón 4 codifica el péptido de conexión, los dominios transmembrana y el dominio citoplásmico.

La estructura del gen de la cadena  $\beta$  es similar a la  $\alpha$  con la excepción del dominio citoplásmico que posee 2-3 exones codificantes.

- HLA clase III

Entre las regiones de clase I y II se localiza la región de clase III. En ella encontramos un grupo heterogéneo de genes. Históricamente se creía que esta zona solo abarcaba los genes del sistema de complemento C4, C2 y Factor B, pero se ha descubierto que también incluye otros genes con importantes funciones dentro del sistema inmune, como los del factor de necrosis tumoral (TNF-A y TNF-B), los de la enzima 21-hidroxilasa (CYP21P) y los que codifican tres miembros de la familia de las “proteínas de choque térmico” (*heat shock protein*; HSP70-1, -2, -HOM). Genes presentes en esta región podrían explicar muchas de las relaciones existentes entre alelos HLA y determinadas enfermedades.

En la **figura 1.1** se puede ver un mapa con detalle de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad.



Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J: Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Ed.

**Figura 1.1. Mapa genético del complejo mayor de histocompatibilidad.**

Se muestra clase I y II así como otros loci inmunológicamente importantes. La escala está realizada en kilobases (kb)

### 1.1.2. Estructura y función de las moléculas HLA

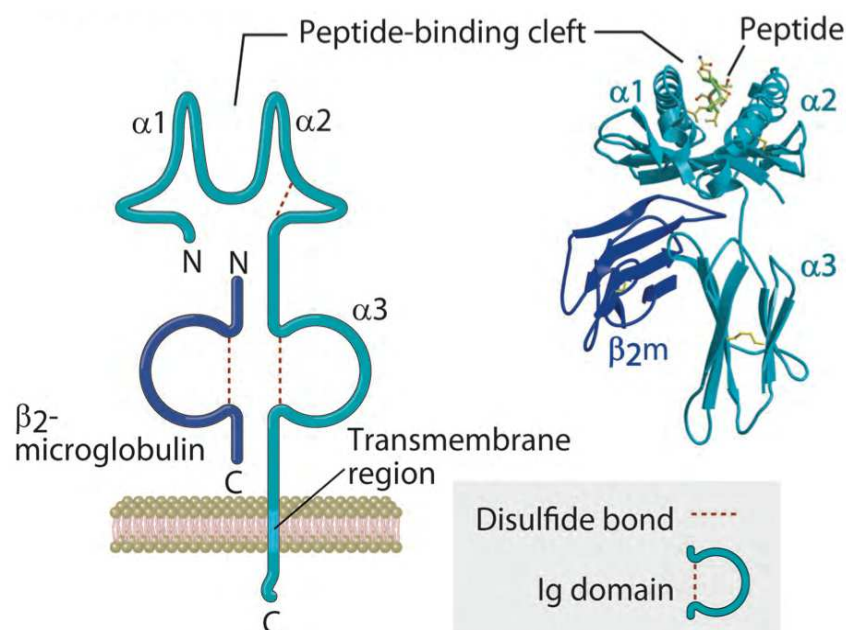
La función principal de las moléculas HLA es la de presentar péptidos en la superficie celular para el reconocimiento de éstos por células inmunes efectoras como los linfocitos T.

#### • HLA I

Las moléculas HLA de clase I constan de una cadena pesada  $\alpha$  de 45 kDa que se une a la  $\beta_2$ -microglobulina mediante enlaces no covalentes. La  $\beta_2$ -microglobulina es una cadena ligera de 12 kDa, no polimórfica, que en el hombre es codificada en el cromosoma 15, y cuya función principal es la de estabilizante, para que las moléculas de clase I adquieran la estructura terciaria adecuada. En la **figura 1.2** se muestra la estructura de una molécula de HLA de clase I.

Estas moléculas se encargan de unir y presentar péptidos que suelen tener una longitud de 8 a 10 aas, principalmente de origen endógeno. La mayoría de estos péptidos se generan a través de la actividad proteolítica de las proteínas que realizan el procesamiento (LMP2 y LMP7) y transporte de péptidos en el citoplasma (TAP1 y TAP2). También se ha descrito la posibilidad de presentación de péptidos de origen exógeno vía citoplásmica y no citoplásmica (Raychaudhuri S y Morrow W, 1993).

Las moléculas de clase I se expresan en la mayoría de las células somáticas del organismo, aunque presentan niveles variables según el tejido. Las moléculas de clase I son fundamentales para el reconocimiento del antígeno por parte de los linfocitos citotóxicos T CD8.



Tomado de Elsevier.© Abbas, Lichtman, and Pillai. Cellular and Molecular Immunology, 7th ed.2012

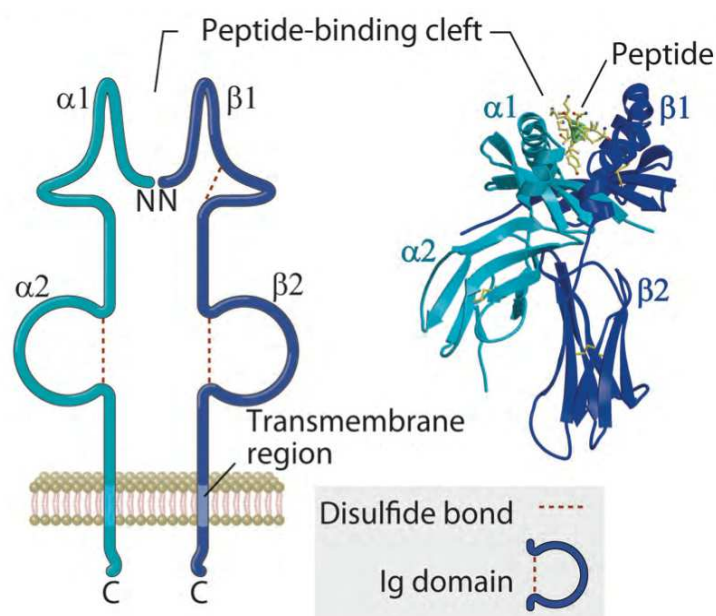
**Figura 1.2. Estructura de una molécula de HLA de clase I**

- HLA II

Las moléculas HLA de clase II constan de un heterodímero formado por una cadena  $\alpha$  de 31-34 kDa y una cadena  $\beta$  de 26-29 kDa. Las estructuras tridimensionales de las moléculas HLA de clase I y II son similares. Las zonas más polimórficas se encuentran en las regiones terminales de los dominios extracelulares. En la **figura 1.3** se muestra la estructura de una molécula de HLA de clase II.

Las moléculas de clase II se expresan de forma constitutiva en linfocitos B, macrófagos y células dendríticas, conocidas como células presentadoras de antígeno (APCs). A través de la inducción mediante citoquinas, también pueden expresarse en otros tipos celulares como linfocitos T activados, endotelio vascular y células de Langerhans. Estas moléculas se encargan de la presentación de antígenos de 12 a 24 aas, sobre todo de origen exógeno que se obtienen mediante procesos de endocitosis o fagocitosis. El reconocimiento de los antígenos presentados por las moléculas de clase II se lleva a cabo a través de los linfocitos T

colaboradores CD4.



Tomado de Elsevier.© Abbas, Lichtman, and Pillai. Cellular and Molecular Immunology, 7th ed.2012

**Figura 1.3: Estructura de una molécula de HLA de clase II**

## 1.2. INFECCION POR EL VIH-1

### 1.2.1. Breve historia de los retrovirus

El primer miembro de los retrovirus fue descrito en 1911 por Rous como un agente filtrable, más pequeño que una bacteria, capaz de transmitir la producción de tumores en pollos: el virus del sarcoma de Rous. Posteriormente, en 1970 Howard Temin y David Baltimore (Baltimore D, 1970; Temin H y Mizutani S, 1970) realizaron independientemente el descubrimiento central del mecanismo de retro-transcripción.

En los años posteriores se describieron numerosos agentes retrovirales relacionados en su mayoría con tumores en aves y ratones. En 1980 Robert Gallo y su grupo, en plena expansión de las teorías del origen vírico de los tumores, descubrieron el primer retrovirus humano, el HTLV-I, un agente relacionado inicialmente con la leucemia de células T del adulto y posteriormente con el cuadro neurológico conocido como paraparesia espástica tropical. Este mismo grupo describiría al año siguiente otro agente, el HTLV-II, que se relacionó con una rara leucemia de células peludas.



El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) fue descubierto en 1983, a los dos años de la comunicación de los primeros casos de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), por el grupo de Françoise Barré-Sinoussi y Luc Montagnier en el Instituto Pasteur de París (Barre-Sinoussi F, 1983) y posteriormente en 1984 por el propio grupo de Robert Gallo en el Instituto Nacional de Cáncer en Bethesda, EE.UU. (Popovic M y col., 1984). Después de una importante polémica sobre la autoría del descubrimiento, y la diferente nomenclatura propuesta por cada uno de los laboratorios, en 1986 se acordó la denominación de virus de la inmuno-deficiencia humana.

### 1.2.2. Origen de los virus de la inmunodeficiencia humana

El VIH pertenece a la familia de los lentivirus y se clasifica en 2 tipos: VIH-1 y VIH-2, que tienen un 40-50% de homología genética y una organización genómica similar. El VIH-1 es el causante de la pandemia mundial de SIDA, mientras que el VIH-2, aunque también puede producir SIDA, se considera menos virulento y menos transmisible. El VIH-2 se encuentra confinado principalmente a zonas del África Occidental, aunque se han detectado algunos casos en Europa y EE.UU. Tanto el VIH-1 como el VIH-2 provienen de diferentes saltos interespecie de virus que infectan en la naturaleza a poblaciones de simios en África. El VIH-2 está muy cercano filogenéticamente al SIVsm, virus de la inmunodeficiencia del *Sooty mangabey*, una variedad de mono muy frecuente en África Occidental. El origen del VIH-1 ha sido mucho más laborioso de esclarecer, ya que proviene del agente que infecta en la naturaleza a la variedad de chimpancé *Pan troglodytes troglodytes*, que habita en zonas poco accesibles del sur de Camerún (SIVcpzPtt) (Keele BF y col., 2006; Gao F y col., 1999).

Las cepas del VIH-1 se han clasificado en cuatro grandes grupos según su homología genética y se cree representan diferentes episodios de salto interespecies. Estos son el grupo M (main o principal), el grupo O (outlier), el grupo N y el grupo P. El grupo M se ha dividido en 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J, K) y en cepas recombinantes entre ellos, denominados CRF (formas recombinantes circulantes). Los CRF se forman por recombinación de fragmentos genómicos de distintos subtipos. Actualmente se han descrito más de 30 CRF y su número se incrementa constantemente.

### 1.2.3. Virus de la inmunodeficiencia humana. Características generales

#### Estructura

El VIH-1 tiene forma de esfera con un diámetro de 100-120 nm. Al igual que todos los virus envueltos, su envoltura consiste en una bicapa lipídica tomada de la membrana de la célula humana durante el proceso de gemación de nuevas partículas.

En esta envoltura se encuentran presentes algunas proteínas de la célula huésped y muy significativamente Env, la glicoproteína de envoltura del VIH. Env se encuentra anclada en la membrana y consiste en un heterotrímero formado por 3 moléculas llamadas glicoproteína 120 (gp120) en la zona más externa, y un tronco de una estructura transmembrana que consta a su vez de 3 moléculas llamadas glicoproteína 41 (gp41) (**figura 1.4**).

El gen gag codifica las principales proteínas estructurales: la proteína de matriz p17, anclada en el interior de la membrana, y la proteína de la cápside p24, que forma por polimerización una estructura nuclear cónica que contiene en su interior un complejo proteína-ácido nucleico formado por 2 copias del ARN genómico del VIH-1, la nucleoproteína p7 y la transcriptasa inversa p66 (RT).

El gen pol codifica las 3 enzimas necesarias para el ciclo infectivo del virus: la proteasa (PR), la transcriptasa inversa (RT) y la integrasa (IN). Además, el VIH-1 contiene otros 6 genes denominados inicialmente accesorios: *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpu* y *vpr*, que dan lugar a sus correspondientes proteínas con un papel muy importante en el ciclo biológico del virus (**Tabla 1.1**).

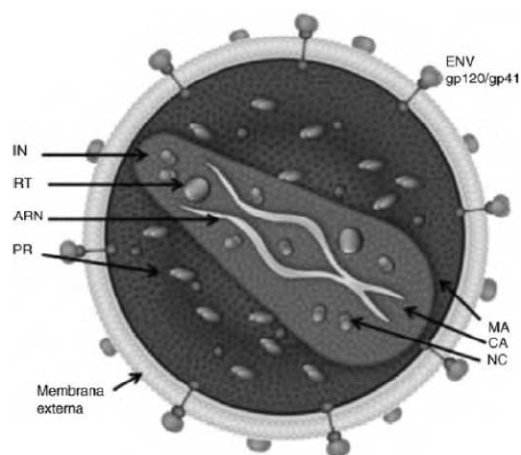
Tat y Rev son proteínas reguladoras que se acumulan en el núcleo y se unen a regiones específicas del ARN viral: TAR y RRE respectivamente. La proteína Tat es un potente activador de la transcripción y es esencial para la replicación del virus. Rev es un factor de exportación nuclear que facilita la salida al citoplasma de los ARN mensajeros largos antes de ser procesados en el núcleo y permite así la traducción y expresión de las proteínas estructurales.

La proteína Nef ha sido objeto de numerosas investigaciones ya que participa en diversas funciones. Esta proteína induce regulación negativa de CD4 y moléculas HLA de clase I en la superficie de las células infectadas (Collins KL y col., 1998), lo

que puede representar un mecanismo de escape importante al evadir el ataque mediado por linfocitos T CD8.

Nef también parece interferir con la activación del linfocito T al unirse a varias proteínas que intervienen en las vías de transducción de señales intracelulares.

Vpr es importante para el transporte al núcleo del complejo viral preintegración, inmediatamente después de la entrada del virus a la célula, lo que permite al VIH-1 infectar células que no estén activamente dividiéndose.



**Figura 1.4. Esquema general de la estructura de la partícula de VIH-1.** ARN: genoma del virus; CA: cápside; ENV: envoltura; IN: integrasa; MA: matriz; NC: nucleocápside; PR: proteasa; RT: retrotranscriptasa.

Nombre	Tamaño	Función
<b>Gag</b>		
<b>MA</b>	p17	Anclaje de la membrana. Transporte al núcleo
<b>CA</b>	p24	Cápside
<b>NC</b>	p7/p6	Nucleocápside, unión a ARN/Unión a Vpr
<b>Pol</b>		
<b>PR</b>	p15	Corte de Gag/Pol y maduración
<b>RT</b>	p66, p51	Retrotranscripción y actividad ARNsa H
<b>IN</b>	p31	Integración del provirus
<b>Env</b>	gp120/gp41	Glicoproteína de envoltura, unión a CD4 y correceptores
<b>Tat</b>	p16/p14	Transactivador transcripcional
<b>Rev</b>	p19	Transporte de ARN fuera del núcleo
<b>Vif</b>	p23	Infectividad
<b>Vpr</b>	p10-15	Transporte nuclear
<b>Vpu</b>	p16	Liberación de partículas en la membrana
<b>Nef</b>	p27-25	Inhibe la expresión de CD4 y HLA clase I

Fuente: Modificado de Delgado R, 2011

**Tabla 1.1. Tamaño y función de las proteínas que codifican los genes de VIH-1**

### **Ciclo biológico del virus de la inmunodeficiencia humana**

La replicación del VIH en la célula comienza con la unión de las glucoproteínas gp120 y gp41 al receptor CD4 y los receptores de quimiocinas CCR5 y CXCR4 (**figura 1.5**). La primera interacción induce una serie de cambios conformacionales que exponen el dominio V3 y las regiones adyacentes que forman el dominio de unión de la gp120 a los receptores de quimiocinas (Arenzana-Seisdedos F, 2008; Zolla-Pazner S y Cardozo T, 2010).

Esta segunda interacción da lugar a nuevos cambios en la estructura de la gp41 que expone en la región N-terminal un dominio altamente hidrofóbico que se ancla en la membrana plasmática. Esta estructura inestable genera un movimiento de unión de los dominios heptaméricos de la gp41, y durante este proceso de cierre o plegamiento, la membrana plasmática y la membrana viral se aproximan y fusionan.

Una vez fusionadas las membranas viral y celular, se produce la internalización de la nucleocápside y la decapsidación del genoma vírico. En este proceso, las proteínas de la cápside se desensamblan y liberan el genoma viral.

El proceso de retrotranscripción, síntesis de ADN a partir del ARN viral, es realizado por el complejo enzimático de la transcriptasa inversa. Una vez sintetizado, el ADN proviral se acopla a una serie de factores celulares y virales (Vpr) formando el complejo de preintegración.

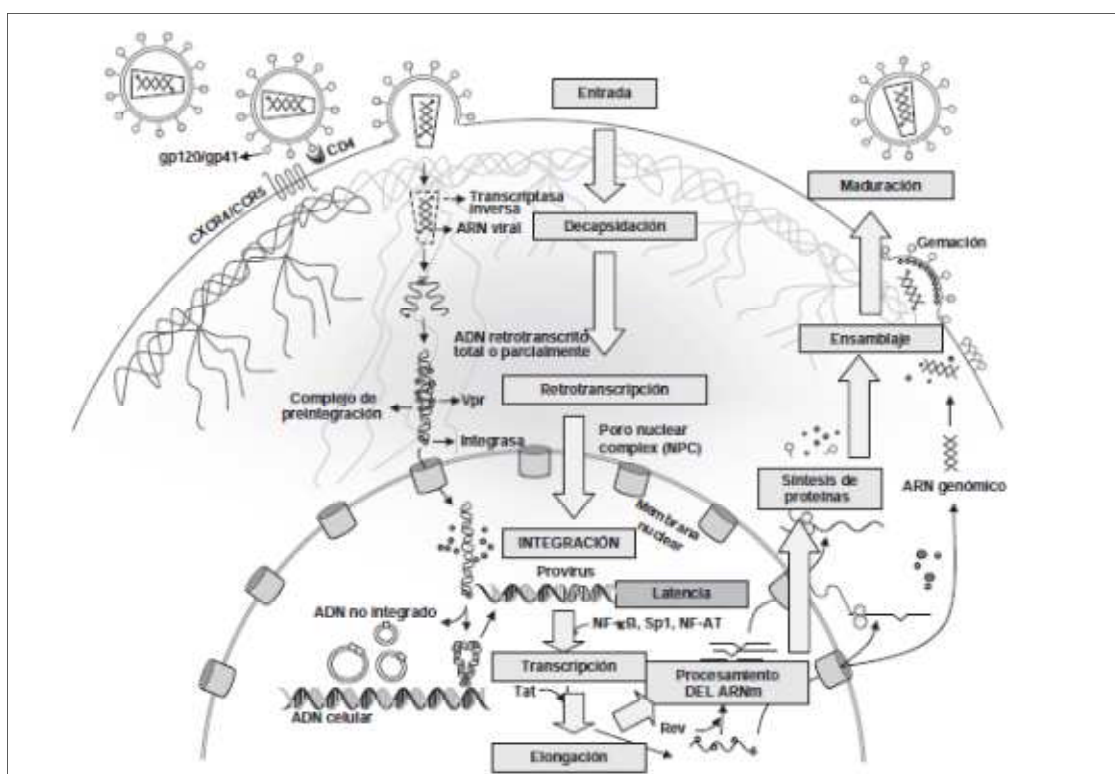
Este complejo es transportado al núcleo, donde se integra en el genoma del hospedador, constituyendo la forma proviral del VIH. El ADN no integrado representa el 90% del ADN viral existente en linfocitos circulantes y en su forma lineal constituye un reservorio susceptible de integración si la célula es adecuadamente activada.

Una vez en el estado de integración, el VIH puede permanecer latente, replicarse de forma controlada o experimentar una replicación masiva con el consiguiente efecto citopático sobre la célula infectada. A partir del estado de provirus integrado, la replicación del VIH comienza mediante la transcripción del genoma viral. La parte inicial de este proceso, denominada iniciación de la transcripción, depende de factores celulares y se produce en ausencia de proteínas virales. El principal factor celular que interviene en el paso de la fase de latencia viral a la de reactivación es NF- $\kappa$ B, una familia de proteínas que regulan la expresión de múltiples genes celulares que participan en los procesos de reconocimiento y activación inmunitarios. Este factor no existe en forma activa en los linfocitos T CD4 en estado de reposo y es inducido en el curso de los procesos de activación inmunológica (Alcamí J y col., 1995), lo que explica que la replicación del VIH está estrechamente relacionada con el estado de activación de los linfocitos infectados.

Una vez iniciada la síntesis del ARN viral, la expresión de la proteína viral Tat aumenta la tasa de transcripción del genoma del VIH y permite la elongación completa del ARN viral. El ARNm del VIH se sintetiza en forma de un único transcrito que debe ser transportado al citosol y procesado en ARN de distinto tamaño. Procesamiento y transporte son regulados por la proteína viral Rev, que tiene una localización preferentemente nuclear. Rev también participa en el acoplamiento de los distintos ARNm a la «maquinaria» de los ribosomas que sintetizarán las proteínas virales. Una vez sintetizadas, las proteínas virales deben

ser procesadas antes de ensamblarse en lo que constituirán las partículas maduras. En este proceso participan proteínas del virus como Vif, Vpu y la proteasa viral.

La maduración final de los viriones y el ensamblaje correcto de las proteínas virales se producen durante el proceso de gemación a través de la membrana celular mediante la acción de la proteasa viral que procesa las poliproteínas gag y gag-pol y permite formar partículas virales maduras. Una vez que se produce la gemación de los viriones, éstos son liberados al espacio extracelular gracias al bloqueo de una proteína de membrana, la tetherina, que actúa como un «secuestrador» de viriones en la membrana celular (Coiras M y col., 2010; Neil SJ y col., 2008).



Fuente: Alcamí J and Coiras M, 2011

**Figura 1.5. Ciclo biológico del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)**

## **Epidemiología de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana**

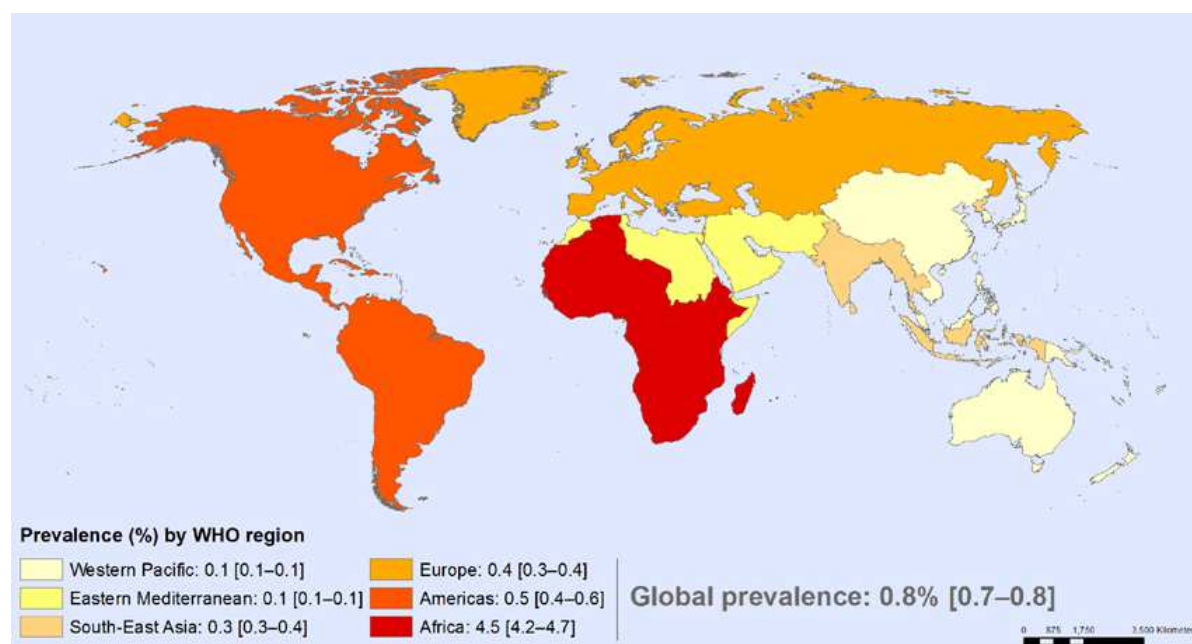
La infección por el VIH y el diagnóstico del SIDA continúan siendo uno de los mayores problemas de salud pública en el mundo.

Los distintos factores sociodemográficos, culturales, económicos y políticos de cada zona determinan la diferente evolución de la epidemia en las distintas áreas

geográficas del planeta. La epidemia ha ido creciendo exponencialmente en muchos países, así como extendiéndose hacia áreas del planeta que en un principio no se habían visto afectadas, tal es así que actualmente podemos hablar de pandemia del VIH.

Desde el inicio de la epidemia, casi 78 millones de personas han sido infectadas por el VIH, y aproximadamente unos 39 millones han muerto. Globalmente, a finales del año 2013, el número estimado de personas que conviven con el VIH en el mundo era de unos 35 millones, estimándose una prevalencia global del 0,8% en adultos con edades comprendidas entre 15-49 años (WHO, 2014).

A pesar de que los límites de la epidemia continúan variando considerablemente entre países y regiones, el África subsahariana sigue siendo la región más severamente afectada, en la que 1 de cada 20 adultos está infectado por el VIH, lo que concentra cerca del 71% de todas las personas que viven con VIH en el mundo (WHO, 2014) (**Figura 1.6**).



**Figura 1.6.** Prevalencia del VIH en adultos según las regiones de la OMS en el año 2013 (WHO, 2014).

### Mecanismos de transmisión

El VIH se transmite fundamentalmente por tres vías:

- Vía sexual
- Vía sanguínea
- Vía materno-infantil

La principal forma de contagio en el mundo es la relación sexual no protegida y entre los casos pediátricos (menores de 15 años) el 90% de las infecciones son atribuibles al contagio vertical.

En España, la coincidencia en el tiempo del inicio de la epidemia del VIH con la del uso parenteral de drogas ilegales supuso la expansión del virus y el patrón epidemiológico observado, ya que la introducción del virus se produjo fundamentalmente por el uso compartido de material de inyección y, en menor medida, en hombres que tienen sexo con hombres (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2008).

En el último informe de Vigilancia epidemiológica del VIH/SIDA en España de junio de 2014, se observa como las tasas de nuevos diagnósticos de VIH son similares a las de otros países de Europa occidental, aunque superiores a la media del conjunto de la Unión Europea.

La vía sexual continúa siendo la principal vía de transmisión en los nuevos diagnósticos de VIH, aumentando año tras año la transmisión entre hombres que tienen sexo con hombres. Las personas de otros países suponen una parte relevante de los nuevos diagnósticos, aunque su peso parece descender desde el año 2010.

En cuanto a los casos de SIDA, desde el inicio de la epidemia en España (1993-2013) se han notificado un total de 84.043 casos. A pesar del marcado descenso de su incidencia desde la extensión de los nuevos tratamientos antirretrovirales, nuestro país sigue siendo uno de los que posee mayor incidencia en Europa Occidental.

Hasta 1997, la proporción de casos de SIDA en personas cuyo país de origen no era España se situaba por debajo del 3%, pero a partir de 1998 esta cifra aumentó progresivamente hasta alcanzar el 28% en 2013. En este año, el 77,5% de



casos recayeron en varones y la edad media al diagnóstico fue de 43 años. La proporción de casos pediátricos fue del 0,2%.

En el último quinquenio la neumonía por *Pneumocystis jirovecii* y la tuberculosis de cualquier localización han sido las enfermedades indicativas de SIDA más frecuentes, afectando ambas al 24,6% de los casos, seguidos por la candidosis esofágica (12,7%).

### **Marcadores inmunológicos y virológicos durante la infección**

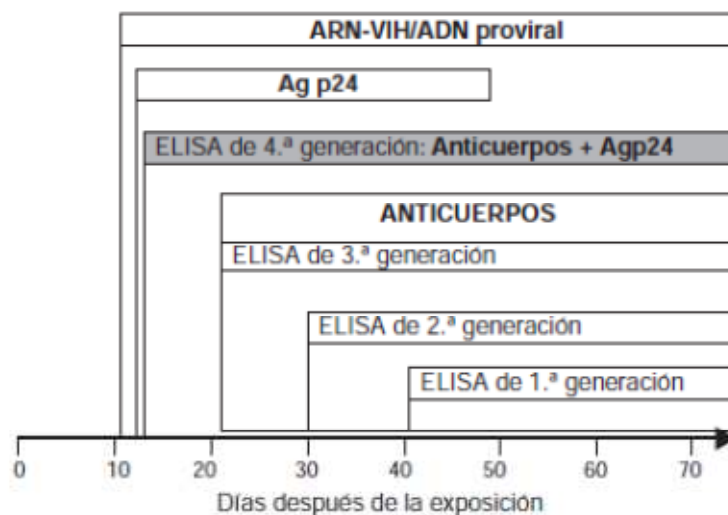
A la hora de diagnosticar la infección y monitorizar el tratamiento, podemos utilizar diferentes marcadores virales en función del estadio de la infección en el que nos encontremos.

La cinética y el momento de aparición de cada uno de los marcadores es diferente (**figura 1.7**), y la elección del marcador a detectar va a depender del objetivo del diagnóstico (Buttó S y col., 2010).

El primer marcador que aparece tras la infección es el ARN-VIH; este marcador se puede detectar mediante técnicas de amplificación a las 2 semanas de la infección. Prácticamente al mismo tiempo que el ARN-VIH, se puede detectar el ADN del VIH integrado en el genoma celular (ADN proviral).

El antígeno p24 suele aparecer en suero a los 11-13 días, y es posible detectarlo aproximadamente durante un mes y medio (Tebourski F y col., 2004). Los anticuerpos se detectan en el suero a las 3 o 4 semanas de la infección, alcanzando su concentración máxima a las 10-12 semanas (Fanales-Belasio E y col., 2010). Al aparecer los anticuerpos, disminuyen los niveles de viremia y desaparece el antígeno p24 como consecuencia de la formación de inmunocomplejos (Buttó S y col., 2010).

El intervalo de tiempo entre la infección y la aparición de anticuerpos o seroconversión se conoce como período ventana, y se caracteriza por la presencia de ADN proviral, ARN-VIH, antígeno p24 y ausencia de anticuerpos específicos.



**Figura 1.7. Tiempo de aparición de los marcadores específicos de la infección por VIH**

### **Manifestaciones clínicas del virus de la inmunodeficiencia humana**

La enfermedad producida por el VIH tiene una evolución bien documentada. La mayoría de individuos infectados por el VIH acaba presentando sintomatología y la inmensa mayoría de estos sucumbe finalmente en ausencia de tratamiento. La enfermedad por el VIH progresa desde una infección asintomática hasta la inmunodepresión profunda descrita como SIDA.

En la infección por el VIH podemos diferenciar tres fases:

1. **Infección aguda:** los síntomas iniciales tras la infección por el VIH (entre **la segunda y la cuarta semana** después de la infección), son similares a los de la gripe o la mononucleosis, con una meningitis aséptica o exantema que aparece hasta tres meses después de la infección. Al igual que en la mononucleosis, los síntomas se derivan de las respuestas inmunitarias desencadenadas por una extensa afectación de las células linfoides. Durante este período, se producen grandes cantidades del VIH en el organismo. La capacidad de una persona de propagar el VIH es más alta durante esta etapa debido a la alta viremia de esta fase.

2. **Latencia clínica (inactividad o estado latente):** los síntomas desaparecen espontáneamente en el plazo de 2 a 3 semanas, y van seguidos de un

periodo de infección asintomática o una linfadenopatía generalizada persistente que puede durar varios años. Durante este periodo el virus se multiplica en los ganglios linfáticos.

3. **SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida):** el deterioro de la respuesta inmunitaria se traduce en un aumento de la sensibilidad a los microorganismos patógenos oportunistas, especialmente aquellos controlados por los linfocitos T CD4, los macrófagos activados, los linfocitos T CD8 y las respuestas de hipersensibilidad de tipo retardado. El inicio de los síntomas está relacionado con la reducción del número de linfocitos T CD4 por debajo de 450/uL y el aumento de las concentraciones plasmáticas del virus y proteína p24 en sangre.

El SIDA totalmente desarrollado aparece cuando los recuentos de linfocitos T CD4 descienden por debajo de 200 cel/ $\mu$ L. En la tabla 1.2 se muestra la clasificación clínica de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2007).

Estadio clínico	Clínica
<b>Primo infección</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Asintomática</li> <li>• Síndrome retroviral agudo</li> </ul>
<b>Estadio clínico I</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Asintomático</li> <li>• Linfadenopatía generalizada persistente</li> </ul>
<b>Estadio clínico II</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pérdida moderada de peso idiopática (&lt;10% del peso corporal presumido o medido)</li> <li>• Infecciones recurrentes de la vía respiratoria (sinusitis, amigdalitis, faringitis otitis media)</li> <li>• Herpes zoster</li> <li>• Queilitis angular</li> <li>• Úlceras orales recurrentes</li> <li>• Erupciones papulares pruriginosas</li> <li>• Dermatitis seborreica</li> <li>• Onicomycosis</li> </ul>
<b>Estadio clínico III</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pérdida grave de peso idiopática (&gt;10% del peso corporal presumido o medido)</li> <li>• Diarrea crónica idiopática durante más de un mes</li> <li>• Fiebre persistente idiopática (&gt;37,5°C, intermitente o constante, durante más de un mes)</li> <li>• Candidosis oral persistente</li> <li>• Leucoplasia oral vellosa</li> <li>• Tuberculosis pulmonar</li> <li>• Infecciones bacterianas graves (neumonía, empiema, piomiositis, osteomielitis, artritis, meningitis, bacteriemia, etc)</li> <li>• Estomatitis, gingivitis o periodontitis ulcerativa necrotizante aguda</li> <li>• Anemia idiopática (hemoglobina &lt;8 g/dL)</li> <li>• Neutropenia idiopática (neutrófilos &lt;500 cels/<math>\mu</math>L)</li> <li>• Trombocitopenia crónica idiopática (plaquetas &lt;50.000 cels/<math>\mu</math>L)</li> </ul>
<b>Estadio clínico IV</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wasting syndrome</li> <li>• Neumonía por <i>Pneumocystis</i></li> <li>• Neumonía bacteriana grave recurrente</li> <li>• Infección crónica por herpes simple (oro labial, genital o ano rectal de más de un mes de duración o visceral de cualquier duración y localización)</li> <li>• Candidosis esofágica (o candidosis de traquea, bronquios, o pulmones)</li> <li>• Tuberculosis extrapulmonar</li> <li>• Sarcoma de Kaposi</li> <li>• Infección por citomegalovirus (retinitis o infección de otros órganos)</li> <li>• Toxoplasmosis del sistema nervioso central</li> <li>• Encefalopatía por VIH</li> <li>• Criptococosis, extrapulmonar (incluyendo meningitis)</li> <li>• Infección diseminada por micobacterias no tuberculosas</li> <li>• Leucoencefalopatía multifocal progresiva</li> <li>• Criptosporidiosis crónica (con diarrea)</li> <li>• Isosporosis crónica</li> <li>• Micosis sistémica (histoplasmosis, coccidioidomicosis, peniciliosis)</li> <li>• Bacteriemia recurrente por <i>Salmonella</i> no typhi</li> <li>• Linfoma (cerebral o de células B no-Hodgkin)</li> <li>• Carcinoma cervical invasivo</li> <li>• Leishmaniosis atípica diseminada</li> <li>• Nefropatía sintomática asociada al VIH</li> <li>• Cardiomiopatía sintomática asociada al VIH</li> <li>• Reactivación de tripanosomosis americana (meningoencefalitis o miocarditis)</li> </ul>

Modificado de World Health Organization. WHO Case Definitions of HIV for Surveillance and Revised Clinical Staging and Immunological Classification of HIV-Related Disease in Adults and Children; 2007.

**Tabla 1.2 Clasificación clínica por estadios de la OMS en la infección por VIH/SIDA en adultos y adolescentes con infección confirmada.**

### 1.3. HLA y VIH

La evolución de los individuos infectados por el VIH-1 sin tratamiento ha demostrado una gran variabilidad. Numerosos estudios longitudinales han mostrado a lo largo de los últimos años, evoluciones de la infección tan dispares como la de pacientes que al año de su seroconversión han evolucionado a SIDA, y otros que han sido capaces de controlar la infección sin necesidad de tratamiento durante más de 20 años. Estas diferencias se deben a factores virales, factores genéticos del hospedador, factores ambientales y a la interacción entre todos ellos.

Los factores genéticos del hospedador afectan en diferentes puntos del desarrollo de la infección/enfermedad, tales como, la entrada del virus al interior de las células diana, los procesos de replicación del virus, el tipo de respuesta inmunitaria del hospedador el ritmo de progresión a SIDA, la aparición de determinadas infecciones o enfermedades oportunistas, y la respuesta al tratamiento, así como determinadas reacciones adversas frente a él. Factores genéticos también están implicados en la vulnerabilidad frente a la infección. La existencia de individuos con contacto continuado con el VIH-1 que no desarrollan la infección está documentada en numerosos trabajos (Palazón JF, 2003).

En la **tabla 1.3** se muestra un resumen de los factores genéticos del hospedador implicados en el riesgo, adquisición y progresión de la enfermedad.

En el caso del HLA, éste ha sido estudiado de forma amplia tanto en humanos como en primates y aún hoy existen controversias sobre el tema. Estudios muestran determinados alelos HLA como responsables de progresión de la enfermedad, mientras otros muestran el efecto contrario. La mayoría de los estudios se han centrado en HLA de clase I y hasta el momento parece existir consenso sobre determinadas asociaciones y así se han descrito alelos como B\*27, B\*57 y B\*58 asociados a una progresión lenta de la infección (Deeks SG y Walker BD, 2007; Kiepiela P y col., 2004) y otros como B\*18, B\*13, B\*35 que confieren a sus portadores un peor control sobre la infección (Gao X y col., 2001; Harrer EG y col., 2005, Flores-Villanueva PO y col., 2001).

Gen	Variación Genética	Efecto
<b>Genes en el complejo HLA</b>		
<i>HLA-B</i>	B*27 B*57 B*58	Progresión lenta
	B*13 B*18 B*35	Progresión rápida
<i>HLA clase I</i>	Bw4	Progresión lenta
	Homocigosidad	Progresión rápida, riesgo aumentado de transmisión materno-fetal
<i>HLA-C</i>	rs9264942-C	Viral <i>set point</i> disminuido
<i>HCP5</i>	rs2395029-G	Viremia reducida
<i>ZNRD1</i>	rs-9261174-C	Progresión lenta
<b>Quimiocinas</b>		
<i>CCL3L</i>	Número de copias del gen	Número menor a la media aumento de susceptibilidad a infección/enfermedad
<i>CCL4L</i>	Número de copias del gen	Número menor a la media aumento de susceptibilidad a infección/enfermedad
<i>CCL5</i>	SNPs en promotor	Susceptibilidad a VIH-SIDA alterada
<i>CCL2</i>	SNP en promotor	Riesgo aumentado de demencia asociada a SIDA
<b>Receptores de Quimiocinas</b>		
<i>CCR5</i>	Deleción delta32	Resistencia a la infección en homocigotos , en heterocigotos infectados progresión lenta
<i>CCR2</i>	Cambio Valina Isoleucina (64V-I)	Desarrollo de SIDA retrasado
<i>CX3CR1</i>	SNPs en QRF	Desarrollo de SIDA retrasado en cohortes de pacientes caucásicos
<b>Citocinas</b>		
<i>IL-6</i>	SNP en promotor	Riesgo alterado de desarrollo de sarcoma de Kaposi
<i>IL-10</i>	SNP en promotor	Susceptibilidad a infección/ enfermedad aumentada
<b>Interacciones Gen-Gen</b>		
<i>KIR-HLA</i>	KIR3DS1 con HLA Bw4-80I+ o 80I-	KIR3DS1 con Bw4-80I+ : Progresión lenta a SIDA
		KIR3DS1 con Bw4-80I: Progresión rápida a SIDA
<i>CCL3L1+CCR5</i>	Número de copias de CCL3L1 bajo unido a genotipos "progresores" de CCR5	Riesgo aumentado VIH/SIDA y reconstitución inmune retardada tras tratamiento
<b>Otros</b>		
<i>APOE</i>	Alelos E4,E3,E2	ApoE4/E4 se asocia a evolución rápida a SIDA y demencia

Fuente: Modificado de Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J : Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition.

**Tabla 1.3. Resumen de factores genéticos del hospedador implicados en el riesgo, adquisición y progresión de la enfermedad**

#### 1.4. FARMACOGENÉTICA y HLA

Durante los últimos años la farmacogenética ha adquirido un papel fundamental en la prevención de las reacciones adversas frente a fármacos (Philips KA y col., 2001). En este contexto el sistema HLA ha sido descrito como un factor importante tanto en la evolución de la infección como en sus implicaciones farmacogenéticas, donde tiene especial importancia gracias a la prevención que su determinación puede ofrecernos frente a tratamientos antirretrovirales crónicos y con alta frecuencia de efectos adversos asociados.

Las reacciones de hipersensibilidad (RHS) constituyen un tipo de reacción adversa frente a fármacos que se asocia a una alta morbilidad y mortalidad, son reacciones mediadas inmunológicamente y constituyen menos del 20% del total de reacciones adversas frente a fármacos. Tradicionalmente han sido etiquetadas como reacciones idiosincrásicas (tipo B). Las reacciones de tipo B con mayor importancia en la clínica son las de tipo I o de tipo IV de acuerdo con la clasificación de Gell-Coombs (**Tabla 1.4**). Las reacciones tipo I (mediadas por IgE) suelen producirse durante la hora siguiente a la administración del fármaco y causan urticaria, anafilaxis y broncoespasmo. Las reacciones de tipo IV por el contrario tardan en desarrollarse por lo que se conocen también como de tipo retardado.

Reacción	Mecanismo Inmunológico
<b>Tipo I</b>	Reacción inmediata mediada por IgE
<b>Tipo II</b>	Reacción mediada por anticuerpos IgM e IgG contra tejidos
<b>Tipo III</b>	Mediada por inmunocomplejos circulantes (IgM,IgG)
<b>Tipo IV</b>	Mediada por linfocitos T

Modificado de Gell PGH y Coombs RRA, 1963

**Tabla 1.4 Reacciones de Hipersensibilidad**

Estudiando las reacciones de tipo IV, se ha descubierto que muchas de ellas están asociadas con distintos alelos de HLA de clase I y II (Pavlos R y col.,2015).

### 1.4.1. REACCIÓN DE HIPERSENSIBILIDAD A ABACAVIR y HLA-B\*57:01

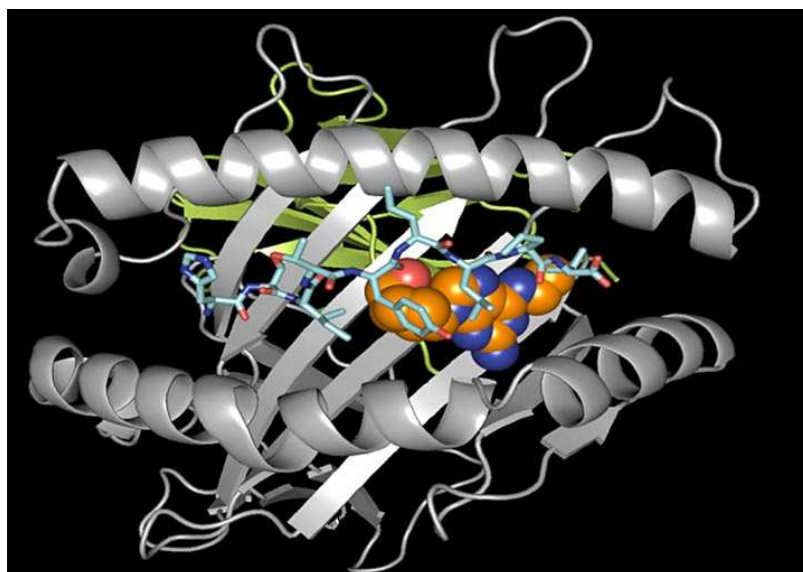
En el ámbito de la infección por VIH y su tratamiento, la RHS que se produce en individuos tratados con Abacavir (ABC) ha sido ampliamente estudiada, y demostrada su asociación con el alelo HLA-B\*57:01 del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (Mallal S y col, 2002).

El ABC es un inhibidor de la transcriptasa inversa, análogo de los nucleósidos (guanósina), y se usa con eficacia en combinación con otros fármacos antirretrovirales desde 1988 (Hervey PS y Perry CM, 2000).

Se han descrito evidencias de que la RHS producida por ABC, está restringida al HLA-B\*57:01 y mediada por linfocitos T CD8 (Chessman D y col., 2008). Estudios cristalográficos han revelado que el ABC se une de forma no covalente al bolsillo de unión del HLA-B\*57:01, modificando la forma de la hendidura de unión al antígeno (**Figura 1.8**). Esto altera el repertorio de péptidos propios del individuo que son presentados por el HLA-B\*57:01, favoreciendo la presentación de péptidos que no fueron presentados durante el desarrollo tímico de las células T. Una considerable cantidad de péptidos propios “nuevos” son únicamente presentados en presencia de ABC. Estos péptidos por tanto no habían sufrido el proceso de selección que en el desarrollo de timo se lleva a cabo para eliminar linfocitos T autoreactivos y por tanto pueden ser reconocidos por los linfocitos T de pacientes “hipersensibles” (Illing PT y col., 2012; Ostrov DA y col. 2012; Norcross MA y col., 2012).

La RHS se presenta en un 5-8% de pacientes que reciben el fármaco como tratamiento y se manifiesta como un cuadro multisistémico caracterizado por fiebre, malestar general, exantema, síntomas gastrointestinales y respiratorios. Estos signos y síntomas se suelen producir durante las primeras seis semanas tras el inicio del tratamiento y se resuelven rápidamente una vez se suspende el mismo. La reacción no obstante puede ser potencialmente mortal si se produce una re-exposición al fármaco en pacientes que hayan desarrollado una RHS previa. Esta reacción es de tipo idiosincrásico por lo que no es posible determinar la probabilidad de que un individuo la pueda sufrir (Validación prospectiva de un test farmacogenético: Estudio PREDICT-1, Mallal S y col., 2008).





Fuente: Modificado de Ostrov D y col., 2012

### **Figura 1.8 Estructura del complejo Abacavir-péptido-Sistema HLA.**

Se muestra el contacto molecular en el bolsillo de unión de HLA-B\*57:01. El HLA-B\*57 se representa en gris, el péptido presentado en azul cian. El Abacavir se representa como naranja para el carbono, azul marino para el nitrógeno y rojo para el oxígeno.

Ser portador del alelo HLA-B\*57:01 es una condición necesaria pero no suficiente para desarrollar RHS ya que los estudios realizados reflejan diferencias de entre un 48% y un 94% en el cálculo de la sensibilidad del alelo como predictivo de la reacción. Ha sido demostrado estadísticamente que la determinación prospectiva del HLA-B\*57:01 reduce la incidencia de RHS evitando la administración de ABC en aquellos individuos que portan el alelo (Lucas A y col., 2007; Rauch A y col., 2006; Orkin C y col., 2010). Así mismo, su utilidad coste beneficio también ha sido demostrada, aunque las diferencias en la frecuencia de presentación del alelo entre diferentes grupos étnicos ha planteado controversias sobre el uso de la determinación (Nieves D y col., 2010; Schackman BR y col., 2008; Hughes DA y col., 2004).

### 1.4.2. REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD A NEVIRAPINA/EFAVIRENZ Y HLA-DRB\*01:01

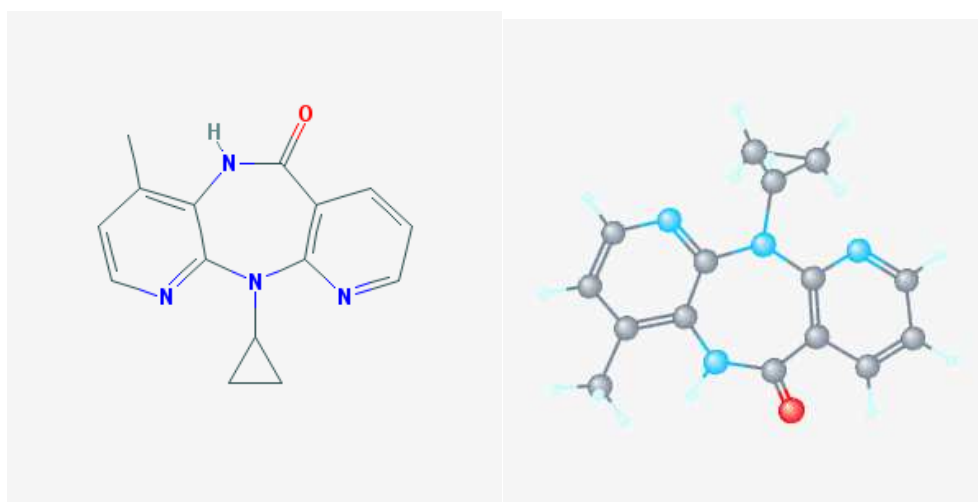
Prácticamente todos los inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa (NNRTIs) se han asociado a reacciones cutáneas leves y de manera menos frecuente a reacciones de hipersensibilidad con afectación multisistémica, y a reacciones cutáneas graves como el síndrome de Stevens Johnson. La epidemiología de estas reacciones más graves ha sido estudiada y comúnmente asociada a la Nevirapina (NVP).

La NVP es un fármaco ampliamente utilizado en la infección VIH-1 especialmente en mujeres embarazadas y sus hijos, aunque su uso está limitado debido a los efectos adversos que produce. En la **figura 1.9** se muestra su estructura y conformación tridimensional.

Las reacciones de hipersensibilidad a NVP se producen en cerca de un 5% de pacientes que comienzan su tratamiento. La reacción consiste en fiebre con hepatitis y/o exantema cutáneo y en ocasiones se pueden presentar síntomas multisistémicos. Los casos en los que los pacientes desarrollan reacciones que afectan solo a la piel pueden darse en un 20-35% de los individuos (Barner A, 1998) siendo el agente antirretroviral en el que se han descrito mayor número de reacciones cutáneas graves, como la necrolisis epidérmica tóxica y el síndrome de Stevens-Johnson. Habitualmente toda la sintomatología se resuelve al cesar la administración del fármaco, pero se han descrito casos de reacciones letales. La reacción suele aparecer en la segunda-tercera semana de tratamiento y es más rápida y grave cuando se reintroduce el fármaco (Stern JO y col. 2003). Esta reacción no es dosis dependiente y tampoco se asocia a alteraciones enzimáticas del citocromo P450. Las características de la reacción sugieren una respuesta inmune dependiente de linfocitos T en individuos genéticamente susceptibles, de hecho se ha descrito que el poseer una cifra disminuida de linfocitos T CD4 en el momento de inicio del tratamiento parece tener un efecto protector (Martin AM y col., 2005).

El aumento de la evidencia de la implicación genética en las RHS llevó al estudio de las producidas por la NVP. La primera asociación que se identificó fue la

del alelo HLA-DRB1\*01:01 entre pacientes con recuentos de linfocitos T CD4 altos pre-tratamiento (>25% del total de linfocitos T) y que presentaban reacciones hepáticas (definidas como aumentos en los niveles de transaminasas séricas) y multisistémicas (Martin AM y col., 2005). Tras la descripción de esta primera asociación se han realizado trabajos que informan de múltiples asociaciones que parecen ser dependientes tanto del grupo étnico como del fenotipo de la reacción de hipersensibilidad. La informadas con más frecuencia han sido la asociación del HLA-C\*08 en pacientes europeos y HLA-B\*35:05 y HLA-C\*04:01 en pacientes tanto asiáticos como caucásicos y en relación con reacciones cutáneas (Chantarangsu S y col., 2009; Yuan J y col., 2011; Gatanaga H y col., 2007).



**Figura 1.9. Estructura química y conformación tridimensional de la Nevirapina**

El Efavirenz (EFV) produce reacciones cutáneas en un alto porcentaje de pacientes (10-32%) pero no suele producir reacciones de hipersensibilidad sistémicas (Adkins JC y col.,1998). Estas reacciones cutáneas también se han demostrado asociadas a HLA-DRB1\*01:01 y como en el caso de las reacciones cutáneas aisladas frente a NVP, la asociación parece independiente de otros factores como el recuento de linfocitos T CD4, algo que no ocurre en las reacciones sistémicas más graves (Vitezica ZG y col., 2008).

### 1.5. CCR5

Las citocinas son proteínas de pequeño tamaño secretadas por diferentes tipos celulares habitualmente en respuesta a estímulos activadores, e inducen respuestas a través de receptores específicos. Entre las citocinas liberadas en tejidos en fases iniciales de una infección se encuentran la familia de citocinas quimio-atrayentes que se denominan quimiocinas.

Las quimiocinas se definen como mediadores inflamatorios que actúan en procesos de migración y activación leucocitaria. Los miembros de esta familia se clasifican en dos grandes grupos:

1- Quimiocinas CC. Poseen dos cisteínas próximas al extremo amino-terminal.

2- Quimiocinas CXC. Poseen las dos cisteínas equivalentes separadas por otro aminoácido.

Los receptores de quimiocinas son moléculas de la superficie celular que se unen a sus ligandos induciendo los procesos de migración y activación de los leucocitos mediante los cuales son reclutados hacia las zonas de inflamación. Los dos grupos de quimiocinas se unen a diferentes receptores, los receptores CC de los que se conocen 9 (CCR1-9) y receptores CXC, de los que se conocen 5 (CCCR1-5). Estos receptores pertenecen a la superfamilia de la rodopsina y se distinguen por presentar 7 dominios transmembrana y por su mecanismo de transducción acoplado a proteína-G (Janeway C. Inmunobiología. 2Ed. 2003).

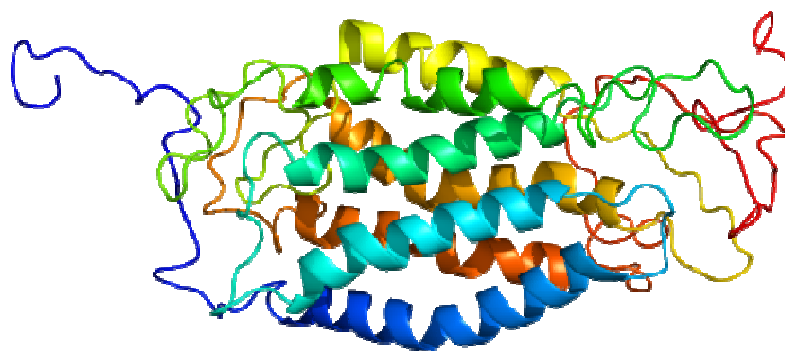
#### 1.5.1. Estructura y función de CCR5

CCR5 se expresa en la superficie de células del sistema inmune. El gen que lo codifica se localiza en el cromosoma 3 (región p21.3) y contiene un único exón (Samson M y col., 1996).

Presenta plegamiento general en  $\alpha$ -hélice, su estructura se compone de 7 dominios transmembrana, 3 bucles extracelulares y 4 intracelulares, un dominio N-terminal extracelular y un dominio C-terminal intracelular (**figura 1.10**). Cuando un ligando se une a CCR5, el receptor parece que lleva a cabo un cambio conformacional que activa la proteína G que se encuentra ligada a los dominios intracelulares del receptor. La proteína G se disocia y activa la Fosfolipasa C que

genera los segundos mensajeros Inositol 1,4,5-Trifosfato y Diacilglicerol, ésto da lugar a la liberación intracelular de calcio y a la activación de la proteinquinasa C. La unión de quimiocina al CCR5 también puede activar otras vías intracelulares independientes de la activación de la Proteína G incluyendo vías mediadas por proteinquinas activadas por mitógenos.

La fosforilación de las serinas en la porción C-terminal intracitoplásmica del receptor que llevan a cabo la proteinquinasa C dispara el reclutamiento de Beta arrestinas. Las Beta arrestinas son proteínas multifuncionales que ayudan en la señalización no dependiente de Proteína G y ayudan a unir CCR5 a Clatrina para iniciar la endocitosis del receptor. A este hecho también contribuyen mecanismos dependientes de Caveolina. Una vez dentro del endosoma el CCR5 se desfosforila y se recicla volviendo a la superficie celular.



**Figura 1.10. Estructura de la proteína CCR5**

Varias quimiocinas pueden unirse al CCR5 y promover la internalización del receptor produciendo un efecto agonista (**Tabla 1.5**). Otras quimiocinas como CCL7 (Proteína 3 quimioatrayente de monocitos) pueden unirse a CCR5 sin producir señalización y por tanto servir como antagonistas interfiriendo en la unión y activación de los ligandos agonistas (Blanpain C y col., 1999).

Quimiocina	Acción
CCL3 (MIP-1alfa)	+
CCL4 (MIP 1-beta)	+
CCL5 (RANTES)	+
CCL7 (MCP-3)	-
CCL8 (MCP-2)	+
CCL11 (Eotaxina)	+
CCL14 alfa (HCC-1)	+
CCL16 (HCC-4)	+

**Tabla 1.5. Interacciones entre quimiocinas y CCR5.** El signo + indica activación y el – inactivación.

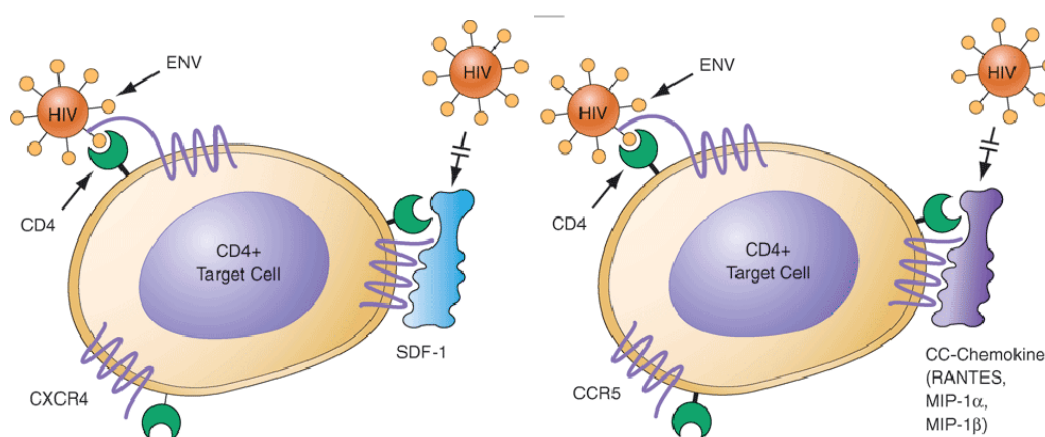
Muchas células del sistema inmune pueden expresar CCR5 (linfocitos T, células NK, células NKT, células de Langerhans, monocitos, macrófagos, células dendríticas inmaduras y basófilos). Cuando las quimiocinas se unen al CCR5 de estas células efectoras inmunes o células presentadoras de antígenos, se activan y se induce su migración.

De entre estas células que expresan CCR5 tan solo aquellas que co-expresan CD4 son potencialmente susceptibles de sufrir infección por el VIH.

### 1.5.2. VIH y CCR5

El descubrimiento a mediados de los años 90 de que el VIH utilizaba el CCR5 para entrar en las células humanas condujo a que se convirtiera en objetivo en la investigación de la prevención y tratamiento de la infección por VIH. Poco después de este descubrimiento se identificó una delección de 32 pares de bases en el gen del CCR5 en personas que aun teniendo un alto riesgo de infección por VIH permanecían libres de ella. Esta delección se produce en la zona que codifica el segundo bucle extracelular, lo que ocasiona la síntesis de una proteína disfuncional que debido a la pérdida de sus 3 últimos segmentos transmembrana, se imposibilita su expresión en la superficie celular (Liu R y col., 1996). La infección en individuos homocigotos para el alelo CCR-delta 32 es extremadamente rara y cuando ocurre

es causada por cepas virales que pueden utilizar el receptor CXCR4 para su entrada (Gorry PR y col., 2002; Michael NL y col., 1998). En la **figura 1.11** se muestra un esquema de este mecanismo. En individuos heterocigotos el riesgo de infección es menor que el de la población general, pero cuando esta se produce su curso esta atenuado, con niveles de viremia plasmática bajos y progresión lenta de la enfermedad en pacientes sin tratamiento (Laurichesse J y col., 2010).



Fuente: Modificado de Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J: Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition.

**Figura 1.11. Modelo del papel de los co-receptores CXCR4 y CCR5.** Se muestra el mecanismo de entrada de las cadenas X4 y R5 del VIH-1 en las células diana CD4. SDF-1 (*stromal cell-derived factor*) es el ligando para CXCR4.

### 1.6. CYP2B6

El metabolismo de fármacos en el ser humano tiene en el citocromo p450 (CYP-450) una de sus principales enzimas. Este citocromo se identificó en 1958 por Martin Klingenberg como pigmentos hepáticos que absorbían luz a una longitud de onda de 450nm (Klingerberg M, 1958). El citocromo forma una superfamilia enzimática que está implicada en el metabolismo tanto de sustancias endógenas, como los ácidos grasos o las vitaminas liposolubles, como de compuestos exógenos (xenobióticos) como diferentes drogas, pesticidas y diferentes carcinógenos entre otros (Santiago C y col., 2002). En el ser humano hay descritas al menos 18 familias y 44 subfamilias de CYP-450 que metabolizan xenobióticos, pero aproximadamente el 80% de los fármacos utilizados habitualmente en clínica son metabolizados por componentes de las familias 1, 2 y 3 (Zanger UM y col., 2008).

La familia 2 (CYP2) a la que originalmente se conocía como “inducible por fenobarbital” tiene a su vez al menos 5 subfamilias (A-E) (Santiago C y col., 2002).

El CYP2B6 fue descrito por Yamano S y col. en 1989. Se expresa en el hígado (aunque a bajos niveles) y de menor manera en otros tejidos como endometrio, tracto respiratorio, riñón, intestino delgado, cerebro y piel. Está implicado en el metabolismo de importantes fármacos como el bupropion, ciclofosfamida y tamoxifeno. En el contexto del tratamiento antirretroviral es importante, ya que es la isoenzima que metaboliza el EFV, siendo responsable del 90% de su aclaramiento (Ward BA y col., 2003).

El gen que codifica esta isoenzima se encuentra en el cromosoma 19 y presenta un considerable grado de polimorfismo (hasta el momento se han descrito 28 alelos). La variable que más afecta a la expresión del CYP2B6 en el hígado y que a su vez afecta al metabolismo que lleva a cabo, es un cambio G a T en el codón 516 (516G>T), marcador del alelo CYP2B6\*6. Este polimorfismo da lugar a una proteína de menor actividad lo que lleva a un aumento de las concentraciones plasmáticas de los fármacos que metaboliza, entre ellos el EFV (Haas DW y col., 2004).

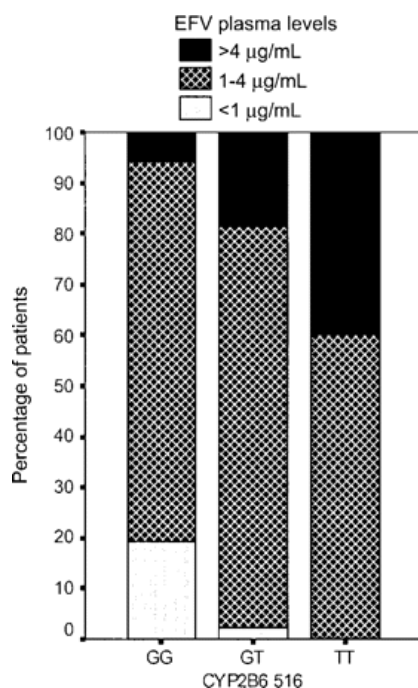
La efectividad de este fármaco antirretroviral así como su toxicidad depende de la actividad de esta enzima. El EFV es uno de los NNRTIs más utilizados como primera línea en la terapia de los pacientes con infección por VIH-1 y a su vez también se utiliza como tercer fármaco en pacientes que muestran tuberculosis



como coinfección y que requieren rifampicina en su tratamiento. El rango terapéutico del EFV es muy estrecho (1-4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y existe riesgo de fracaso virológico en el caso de que las concentraciones sean infraterapéuticas y de toxicidad neurológica en el caso opuesto (Barco EA y col., 2013). Los síntomas de los efectos adversos sobre el sistema nervioso central aparecen durante los primeros días/semanas de tratamiento y suelen consistir en insomnio, mareos, somnolencia, inestabilidad y alteración de la capacidad de concentración. Estos síntomas no suelen ser invalidantes y suelen mejorar progresivamente, pero existen casos en los que se han descrito reacciones maníacas y paranoides, síndromes depresivos severos y psicosis.

Pacientes con el genotipo CYP2B6-516T/T son metabolizadores lentos, presentan niveles plasmáticos más altos que aquellos con los genotipos GG o GT y por tanto son más proclives a sufrir reacciones adversas de tipo neurológico.

La prevalencia del genotipo TT varía según las diferentes etnias (20% en población negra, y 6% en caucásicos). Actualmente estudios más amplios de SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) han identificado más variantes que unidas al polimorfismo 516G>T colaboran en la variabilidad de la farmacocinética del EFV (Rotger M y col., 2005).



**Figura 1.12. Distribución de las concentraciones plasmáticas de Efavirenz con relevancia clínica y polimorfismo CYP2B6 -516.** (Tomado de Rodríguez-Novoa, CID, 2005)

La NVP se metaboliza a 8-hidroxinevirapina principalmente por el CYP3A4 y el CYP2B6 con menor participación del CYP3A5. Diversos estudios han informado sobre la asociación del polimorfismo CYP2B6 516G>T con variaciones en la farmacocinética de NVP en diferentes grupos étnicos (Barco EA y Rodríguez Novoa S, 2013). Estudios realizados sobre las concentraciones plasmáticas del fármaco informaron sobre la influencia que el polimorfismo CYP2B6 516G>T ejercía sobre ellas y las reacciones adversas que se producían (Rotger M y col., 2005) (**figura 1.12**). Los efectos de tipo cutáneo parecen mediados por HLA-I e influenciados por el metabolismo de CYP2B6 y las reacciones de hipersensibilidad con mayor afectación sistémica, mediadas por HLA-II y no se ven afectadas por el metabolismo de CYP2B6. (Barco EA y Rodríguez Novoa S, 2013). También se ha asociado este polimorfismo con incrementos de las recuperaciones de los niveles de linfocitos T CD4 en pacientes pediátricos tras el inicio de tratamientos antiretrovirales que contenían NVP (Haas DW y col., 2009; Mahungu T y col., 2009).

## **2 . OBJETIVOS**

---



El **objetivo global** de este trabajo es evaluar, en el contexto epidemiológico de Las Palmas de Gran Canaria, los factores inmunológicos e inmunogenéticos, en la evolución de la infección por VIH-1, con sus características clínicas respecto a infecciones oportunistas, coinfecciones, neoplasias secundarias a la enfermedad y reacciones de hipersensibilidad a determinados fármacos antiretrovirales.

Este objetivo global se concreta en los siguientes **objetivos específicos**:

- Tipaje HLA-B y HLA-DRB1 y análisis de frecuencias en la población de estudio.
- Caracterización del genotipo CCR5  $\Delta$ -32 y del polimorfismo CYP2B6 516G>T en la población de estudio.
- Evaluación de las asociaciones con infecciones oportunistas, coinfecciones y sarcoma de Kaposi en relación con el tipaje HLA y genotipo CCR5  $\Delta$ -32 en la población de estudio.
- Estudio de la evolución inmunológica en relación a los diferentes factores genéticos previamente descritos.
- Evaluación de las reacciones de hipersensibilidad en relación al tipaje HLA y polimorfismo CYP2B6 516G>T.



### **3. PACIENTES Y MÉTODOS**

---





### 3.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para la consecución de los distintos objetivos del trabajo se han analizado 1270 muestras de pacientes diagnosticados de infección por VIH-1. Estas muestras fueron remitidas desde la Unidad de Medicina Tropical y Enfermedades Infecciosas a la Unidad de Inmunología del Complejo Hospitalario Universitario Insular Materno Infantil (CHUIMI) durante un periodo de 6 años (2008-2014).

El CHUIMI es un hospital de tercer nivel con 871 camas, que da servicio al área sur de la isla de Gran Canaria con una población de más de 350.000 habitantes.

Para los objetivos específicos del trabajo la distribución de muestras estudiadas fue la siguiente:

#### 3.1.1 Muestras empleadas en el tipaje HLA-B y análisis de frecuencias

Se realizó el tipaje HLA-B en un total de 1391 muestras, de las cuales, 1270 pertenecían a pacientes remitidos para el estudio de la presencia del alelo HLA-B\*57:01, como screening previo a la administración de terapias antirretrovirales que contuvieran el fármaco Abacavir; y 121 muestras pertenecientes a individuos sanos empleados como grupo control. Este grupo control estaba compuesto por donantes sanos de la misma zona geográfica.

#### 3.1.2 Muestras empleadas en el tipaje HLA-DRB1 y análisis de frecuencias

Se realizó el tipaje HLA-DRB1 en un total de 1159 muestras, de las cuales 1038 pertenecían a pacientes remitidos para el estudio de la presencia del alelo DRB1\*01:01, como screening previo a la administración de los fármacos NVP y/o EFV como parte de la terapia antirretroviral, y 121 muestras pertenecientes a individuos sanos empleados como grupo control. Este grupo control estaba compuesto por donantes sanos de la misma zona geográfica.

#### 3.1.3 Muestras empleadas en la caracterización del genotipo CCR5 Δ 32

Se determinó el genotipo CCR5 Δ 32 en 324 muestras de pacientes.

### 3.1.4 Muestras empleadas en la caracterización del polimorfismo CYP2B6

Se determinó el polimorfismo CYP2B6 en 161 muestras procedentes de pacientes que habían recibido en algún momento de su evolución tratamiento con NVP (datos suministrados por el Servicio de Farmacia del CHUIMI). Se recogió información sobre la aparición o no de efectos adversos, así como las características de los mismos.

Mediante revisión de las historias clínicas y consulta del sistema Drago AE (Sistema de información para la gestión de pacientes e historia clínica electrónica de Atención Especializada) se recogieron los datos disponibles de 483 pacientes. Se registraron datos sobre las características epidemiológicas, modo de transmisión del virus, coinfecciones (VHB y VHC), infecciones oportunistas y neoplasias asociadas al desarrollo de SIDA. La información relativa a los resultados microbiológicos se obtuvo a través de los datos registrados en el programa de gestión de laboratorio Modulab Gold (Werfen, España). Los datos de carácter personal recogidos durante el estudio fueron tratados con confidencialidad y seguridad, en cumplimiento de lo dispuesto en el artículo 5 de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, que regula el derecho de información en la recogida de los datos.

## **3.2. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO**

Las determinaciones para el diagnóstico de la infección por VIH-1 y de las coinfecciones por VHB y VHC se realizaron en el Servicio de Microbiología del CHUIMI mediante las siguientes técnicas:

### **3.2.1 Diagnóstico y detección de resistencias del VIH**

Para el diagnóstico de la infección por VIH, se empleó el ensayo ARCHITECT<sup>®</sup> HIV Ag/Ab Combo (Abbott). Este es un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la detección cualitativa simultánea del antígeno p24 del virus VIH-1 y de los anticuerpos frente a VIH-1 y

VIH-2. Para este ensayo se emplean 5 proteínas recombinantes y 2 péptidos sintéticos derivados de secuencias de proteínas transmembranas nativas de los grupos M y O del VIH-1 y VIH-2.

Sucintamente, se trata de un procedimiento que en un primer paso combina la muestra y el diluyente de la misma. Tras ésto, se mezcla con los antígenos recombinantes y sintéticos unidos a micropartículas magnéticas.

Después de un lavado, se añaden anticuerpos murinos anti-IgG humana marcados con acridinio. Tras otro ciclo de lavado, se añaden las soluciones “pre-trigger” y “trigger”.

El resultado de la reacción quimioluminiscente se mide como unidades relativas de luz (RLUs). Existe una relación directa entre la cantidad de anticuerpos en la muestra y las RLUs detectadas. Los resultados son calculados automáticamente basándose en la comparación con el Índice Calibrator. Los resultados se representan como un ratio de la señal de la muestra (en RLUs) y el valor del punto de corte (S/CO).

El inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) se realizó empleando el sistema ARCHITECT *i*2000<sub>SR</sub> (Abbott).

Para la confirmación de la infección por VIH se utilizó el ensayo INNO-LIA<sup>®</sup> HIV I/II Score (Fujirebio). En este enzimo inmunoensayo se emplean proteínas recombinantes y péptidos sintéticos del VIH-1 y VIH-2 para confirmar la presencia de anticuerpos frente al virus.

La determinación del subtipo y el estudio de resistencias frente a los antirretrovirales se realizó con el kit comercial TRUGENE<sup>®</sup> HIV-1 Genotyping Kit (Siemens), que permite detectar mutaciones asociadas a resistencias en los genes proteasa y transcriptasa inversa del VIH-1.

Para la lectura e interpretación del estudio se empleó el sistema de secuenciación OpenGene<sup>®</sup> (Siemens). Brevemente, el ensayo consta de varios pasos:

- Transcripción inversa del ARN problema para generar ADNc mediante RT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*; reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa) usando cebadores específicos del VIH-1.

- Secuenciación CLIP™ del producto de amplificación usando cebadores específicos del VIH-1.
- Electroforesis de los productos de reacción CLIP™ en gel de poliacrilamida y detección de fluorescencia del colorante unido al ADN tras excitación con láser.
- Análisis de las secuencias utilizando el software OpenGene.

La interpretación genotípica y caracterización del subtipo se realizó siguiendo los criterios de la red de investigación en SIDA (RIS) y la base de datos de la Universidad de Stanford (<http://hivdb.stanford.edu/>).

### **3.2.2 Diagnóstico del virus B de la Hepatitis (VHB)**

Todas las determinaciones realizadas para el diagnóstico serológico del virus de la hepatitis B en sus diferentes fases se realizaron mediante CMIA, cuyo fundamento está descrito en el apartado 3.2.1.

Los reactivos empleados fueron los siguientes:

- HBsAg: ARCHITECT® HBsAg Qualitative (Abbott)
- Anti-HBc: ARCHITECT® CORE (Abbott)
- Anti-HBc IgM: ARCHITECT® CORE-M (Abbott)
- Anti-HBs: ARCHITECT® Anti-HBs (Abbott)
- HBeAg: ARCHITECT® HBeAg (Abbott)
- Anti-HBe: ARCHITECT® Anti-HBe (Abbott)

### **3.2.3 Diagnóstico del virus C de la Hepatitis (VHC)**

La determinación de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C se realizó mediante CMIA Anti-VHC ARCHITECT® Anti-HCV (Abbott), cuyo fundamento está descrito en el apartado 3.2.1.

Como prueba confirmatoria se usó el Inmunoensayo en tira (LIA: *Line Immuno Assay*) INNO-LIA® HCV Score (Fujirebio), que emplea antígenos derivados de la región core, de la región hipervariable E2, de la región de la helicasa (NS3), y regiones NS4A, NS4B y NS5A.

### 3.3. RECUENTO DE LINFOCITOS CD4

Para el control y seguimiento de las subpoblaciones linfocitarias, el sistema empleado fue la citometría de flujo. Mediante esta técnica es posible determinar tanto el porcentaje, como el número absoluto de las subpoblaciones linfocitarias de interés.

El citómetro de flujo utilizado fue el Cytomics FC500 (Beckman Coulter) y como anticuerpos monoclonales se empleó el reactivo TetraCHROMECD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 (Beckman Coulter). Su composición se muestra en la **tabla 3.1**.

	CD45-FITC	CD4-RD1	CD8-ECD	CD3-PC5
<b>Especificidad</b>	CD45 Ag panleucocitario	CD4 Ag de L. cooperador	CD8 Ag de L. citotóxico	CD3 Ag de Linfocito T
<b>Especie</b>	Ratón	Ratón	Ratón	Ratón
<b>Clon</b>	B3821f4a	SFC112T4D11	SFC121Thy2D3	UCHT1
<b>Hibridoma</b>	NS-1x BALB/c	NS-1x BALB/c	NS-1x BALB/c	NS-1x BALB7c
<b>Conjugado</b>	FITC (Isotiocianato de Fluoresceína)	RD1 (Ficoeritrina)	ECD (FicoeritrinaTexas Red)	PC5 (Ficoeritrina-Cy5)
<b>Fluorescencia</b>	Excitación:468-509nm Emisión: 504-541nm	Excitación:486-580nm Emisión: 568-590nm	Excitación:486-580nm Emisión: 610-635nm	Excitación:486-580nm Emisión: 660-680nm

**Tabla 3.1. Composición de TetraCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 (Beckman Coulter)**

Para el recuento del número absoluto de linfocitos se empleó el reactivo Flowcount (Beckman Coulter), que está formado de micro esferas fluorescentes de poliestireno de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro en una suspensión acuosa, que también contiene surfactante y 1% de formaldehído. Cada fluoroesfera contiene un marcador que posee una longitud de onda de emisión de 525-700 nm cuando se excita a 488nm. Estas fluoroesferas constituyen un método indirecto para obtener el número absoluto de linfocitos. Se dispensará la misma cantidad de muestra que de fluoroesferas (100 $\mu\text{l}$ ) y al conocerse la concentración de fluoroesferas el recuento total se realiza automáticamente por el citómetro, que nos dará el número absoluto de células (cels/ $\mu\text{l}$ ) utilizando la siguiente fórmula:

Nº total de células detectadas

----- X Concentración de fluoroesferas

Nº total de fluoroesferas detectadas

Brevemente, el procedimiento que se siguió fue dispensar 100µl de la muestra de sangre anticoagulada con EDTA en tubos de propileno a los que se añadió 10µl del reactivo TetraCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5, a continuación se agitó suavemente en un vórtex y se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos.

A continuación se lisaron los hematíes con el sistema de reactivos Coulter Immunoprep en la estación de trabajo TQ Prep y una vez lisados se añadió 100µl de Flowcount y se adquirió en el citómetro FC500.

El análisis de las subpoblaciones para la obtención de porcentajes y números absolutos se realizó utilizando el software CXP (Beckman Coulter). El resultado se expresó como número absoluto de células por microlitro.

### 3.4. EXTRACCIÓN ADN

La extracción de ADN genómico se realizó tanto en pacientes infectados por el VIH-1, como en individuos control a partir de sangre total anticoagulada con EDTA, para ello se utilizó el kit comercial QIAamp ADN Blood Mini Kit (Qiagen, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante:

- Se pipetea 20 µl de QUIAGEN Proteinasa K en el fondo de un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml, se añaden 200 µl de la muestra de sangre periférica y 200 µl de Buffer AL. Se agita en vórtex durante 15 segundos. Se incuba a 56°C durante 10 minutos en bloque calefactor.
- Se centrifuga brevemente para eliminar las gotas de la cara interna de la tapa. A continuación se añaden 200 µl de etanol (96%-100%) y se agita de nuevo en el vórtex 15 segundos. La mezcla se pasa a una columna suministrada en el kit y se centrifuga a 8.000 rpm durante 1 minuto. A continuación se coloca la columna en un tubo limpio de recolección de 2 ml, se descarta el tubo que contiene el filtrado.

- Se abre la columna y se añaden 500 µl de Buffer AW1 y se centrifuga a 8.000 rpm durante 1 minuto. De nuevo la columna se sitúa en un tubo limpio de recolección y se desecha el tubo con el filtrado.
- Se abre la columna y se añaden 500 µl de Buffer AW2 y se centrifuga a 14.000 rpm durante 3 min. La columna se coloca en un tubo limpio de 1,2 ml y se desecha el filtrado.
- Se abre la columna y se le añaden 200 µl de Buffer AE y se incuba a temperatura ambiente (15-25°C) durante 5 minutos, tras esto se centrifuga durante 1 minuto a 8.000 rpm, se desecha la columna y se recoge el filtrado. El ADN obtenido se almacena a -20°C hasta su uso.

### 3.5. TÉCNICAS PARA EL TIPAJE HLA-B Y HLA-DRB1

La determinación de los alelos de ambos locus, se realizó mediante PCR-SSO (*polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide probe*), reacción en cadena de la polimerasa con hibridación posterior con sondas de oligonucleótidos de secuencia específica.

A las muestras que presentaron los alelos HLA-B\*57 y HLA-DRB1\*01 se les realizó una PCR-SSP (*polymerase chain reaction-sequence specific priming*) para determinar los alelos de alta resolución.

#### **Tipaje (PCR-SSO) LIFECODES**

El procedimiento de tipaje de LIFECODES HLA-SSO<sup>®</sup> (Immucor, EEUU) se basa en la hibridación con sondas específicas de secuencia del ADN monocatenario marcado obtenido por PCR realizada previamente.

Para la amplificación del ADN se emplean cantidades equimolares del cebador directo y del inverso para generar un ADN bicatenario, pero si un cebador es más abundante que el otro, además de producto bicatenario, la reacción genera algo de ADN monocatenario. En los primeros ciclos de la amplificación se genera ADN bicatenario. Una vez agotado el cebador limitante, el cebador restante utiliza el producto bicatenario como molde para generar ADN monocatenario. Este método genera tanto productos bicatenarios como monocatenarios que, una vez

desnaturalizados, participarán en la reacción de hibridación.

Cada una de las distintas sondas puede ser homóloga de una secuencia del ADN amplificado exclusiva de un alelo o grupo de alelos, e hibridarán preferentemente con una región complementaria, que puede o no, estar presente en el ADN problema amplificado. El ADN amplificado hibrida también con una o más sondas de consenso, homólogas a secuencias presentes en todos los alelos de un locus. El análisis de los resultados de la tipificación con SSO puede aplicarse para determinar la presencia o ausencia de secuencias concretas de ADN en el producto amplificado e identificar así los alelos de la muestra analizada.

En la tipificación por la técnica LIFECODES HLA-SSO<sup>®</sup> las sondas se unen a microesferas de poliestireno diseñadas para utilizarse con el sistema Luminex Instrument<sup>®</sup>.

La tecnología Luminex se basa en los principios de la citometría de flujo, y en el uso de microesferas de poliestireno cada una de ellas marcadas con fluorocromos con espectro de emisión único, lo que permite la identificación simultánea de todas ellas.

La amplificación del ADN genómico correspondiente a diferentes exones del gen HLA-B o HLA-DRB, se realiza utilizando cebadores biotinilados. Después de un marcado fluorescente específico del ADN amplificado, la especificidad de la hibridación se reconoce por la doble señal del ADN amplificado y la fluorescencia de la microesfera.

La interpretación se hace mediante el software Match IT<sup>®</sup>. En la **figura 3.1** se muestra un ejemplo de tipaje HLA-B con Luminex y análisis.





Figura 3.1. Ejemplo de tipaje HLA-B con tecnología Luminex Lifecodes

### Proceso de amplificación

Brevemente, el proceso que se sigue es, atemperar la mezcla maestra (Master Mix) hasta que se iguale con la temperatura ambiente (18-30°C). Una vez atemperados se agitan suavemente los reactivos en vórtex durante 10 segundos aproximadamente y se centrifuga brevemente (5–10 segundos) en la microcentrífuga para que el contenido se desplace al fondo del tubo. Guiándose por la **Tabla 3.2**, se preparan los componentes para la amplificación para n+1 reacciones, utilizando de cada componente (excepto el ADN) la cantidad indicada por reacción y se agita suavemente en vórtex. Se pipetea 2 µl de ADN en tubos de PCR. Se distribuye alícuotas de la mezcla ampliada en los tubos de PCR que contienen el ADN genómico. (El volumen final será 25 µl para la reacción de cada muestra).

Tipaje HLA	Master Mix	ADN	TAQ Hot start (Lifecodes)	Agua (exenta de nucleasas)
HLA-B	7,5µl	2µl	0,3µl	15,2µl
HLA-DRB1	7,5µl	1µl	0.3µl	16,2µl

**Tabla 3.2 Guía cantidades para la preparación de la PCR-SSO Lifecodes**

La amplificación se realizó en un termociclador (9700 Thermal Cycler, *Applied Biosystem*) con un programa de amplificación que consta de un primer paso de desnaturalización a 95°C durante 3 minutos, seguido de 12 ciclos de amplificación (95°C durante 15 segundos, 60°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos), 28 ciclos de amplificación (95°C durante 10 segundos, 63°C durante 30 segundos y 72°C durante 2 minutos) y un ciclo final de extensión a 72°C durante 2 minutos.

- Proceso de hibridación

La mezcla de sondas se calienta en bloque calefactor a 55-60°C durante al menos 5-10 minutos, para solubilizar totalmente los componentes de la mezcla. Se trata brevemente (~15 segundos) la mezcla de sondas con ultrasonidos, y se agita en vórtex durante 15 segundos aproximadamente para suspender por completo las microesferas. En cada pocillo de una placa de termociclador de 96 pocillos se dispensa 10 µl de la mezcla adecuada de sondas con 5 µl del producto de amplificación. Se sella la placa con adhesivo térmico para PCR y se hibridan las muestras en el termociclador (97°C durante 2 minutos, 47°C durante 10 minutos, 56°C durante 8 minutos). Se mantiene a 56 °C hasta su uso.

Mientras las muestras hibridan, se prepara una mezcla al 200:1 de solución diluyente y PE-estreptavidina. Se prepara 170 µl de solución diluyente y 0,85 µl de 1 mg/mL PE-estreptavidina por muestra y se mantiene la mezcla en oscuridad y temperatura ambiente hasta el momento de su uso.

Una vez el programa de hibridación se encuentra en el paso final a 56 °C, se dispensan en cada muestra 100 µl de la mezcla preparada de solución diluyente y PE-estreptavidina sin sacar de termociclador. La bandeja de muestras se coloca en la placa de lectura del Luminex para su adquisición y posterior análisis. El análisis e

interpretación de resultados se realizó utilizando el software Mach IT<sup>®</sup>.

### **Tipaje con primers específicos de secuencia (PCR-SSP) ONE LAMBDA**

Las placas de tipaje de ADN Micro SSP de One Lambda (EEUU) proporcionan los primers de oligonucleótidos específicos de la secuencia para la amplificación de los alelos de HLA-B\*57 específicos y HLA-DRB1\*01 específicos. Los primers se presentan liofilizados en pocillos en una placa para añadir las muestras de ADN, *Taq* polimerasa recombinante y una mezcla de dNTPs-tampón formulada especialmente (DMix). Cada placa de tipaje incluye un pocillo de reacción del control negativo y las localizaciones específicas de cada primer se informan con cada lote del producto.

#### **Procedimiento**

- Material

DMix (Solución de amplificación) que contiene PCR buffer (KCl, MgCl<sub>2</sub>, Tris-HCl pH 8.3 y gelatina), glicerol, mezcla de dNTPs y colorante, completando volumen final con agua destilada estéril, *Taq* ADN polimerasa [*GoTaq* 5U/μl (Promega)].

- Técnica

Cada kit de Micro SSP requiere unas cantidades de DMix, ADN y *Taq* polimerasa que se muestran en la **tabla 3.3**.

	DMix	ADN	Taq polimerasa
<b>HLA-B*57</b>	450μl	49μl	2,5μl
<b>HLA-DRB1*01</b>	180μl	19μl	1μl

**Tabla 3.3. Cantidades requeridas para la micro SSP específica de HLAB\*57 y HLA-DRB1\*01.**

Se dispensa la cantidad correspondiente de ADN a la mezcla ya preparada de DMix y la *Taq* polimerasa, se agita 5 segundos en vórtex y se centrifuga a poca velocidad para bajar las gotas que hayan podido quedar adheridas a la pared del tubo.

Cada placa de amplificado dispone de un pocillo de control negativo en el que se dispensan 9  $\mu$ l de la mezcla previo a la dispensación del ADN y 1  $\mu$ l de agua destilada estéril. Se añaden 10  $\mu$ l de la mezcla total a cada uno de los restantes pocillos.

La amplificación se realizó en un termociclador (9700 Thermal Cycler, *Applied Biosystem*) con un programa de amplificación que consta de los siguientes pasos: 96°C durante 130 segundos, 63°C durante 60 segundos, seguido de 5 ciclos de amplificación (96°C durante 10 segundos, 63°C durante 60 segundos), y otros 20 ciclos de amplificación (96°C durante 10 segundos, 59°C durante 50 segundos y 72°C durante 30 segundos).

Los productos amplificados se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa a una concentración del 2,5% y tampón TBE 0,5x (Tris-clorhídrico [Tris-HCl] 44,5 mM, ácido bórico 44,5 mM, EDTA 1 mM pH 8,4) en cubetas de desarrollo horizontal. Para determinar el tamaño del producto amplificado se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (Invitrogen). La electroforesis se realizó con las siguientes condiciones: 120 voltios, 4 minutos.

Por último los geles se tiñeron con bromuro de etidio 0,5  $\mu$ g/ml y se visualizaron y fotografiaron en transiluminador de ultravioleta conectado a un equipo de captura de imágenes (Ultralum). El tipaje se asignó según las bandas amplificadas determinando las especificidades, respecto a la información que suministra el fabricante.

### 3.6. CARACTERIZACIÓN DEL GENOTIPO CCR5 $\Delta$ -32

Para la detección de la delección  $\Delta$  32 del gen CCR5 se empleó una PCR específica de secuencia.

Brevemente, 2,5  $\mu$ l de cada muestra de ADN se añade a un volumen final de 20  $\mu$ l, conteniendo 0,2 mM de mezcla de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 200 ng de cada uno de los cebadores (Forward [5'- GCT CTC TCC CAG GAA TCA-3'] y Reverse [5'- TTC CCG AGT AGC AGA TGA-3']) (Veloso S y col., 2010), 2,5U de *Taq* DNA polimerasa (Promega), 7,5  $\mu$ l de 5x tampón *Taq* DNA polimerasa (Promega) y 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (Promega).

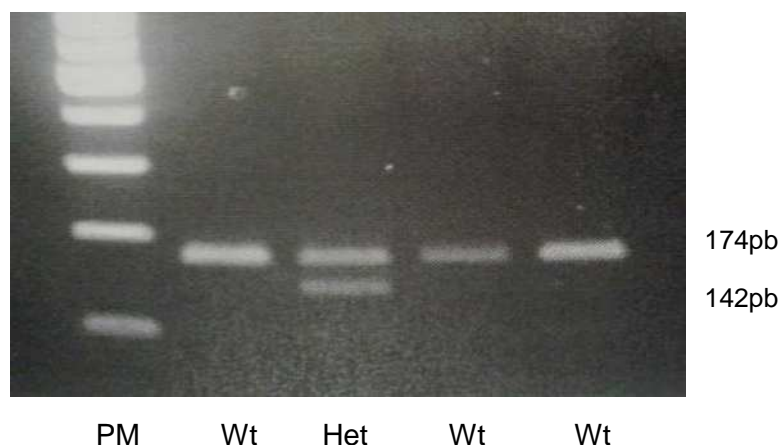
La amplificación se realizó en un termociclador (9700 Thermal Cycler, *Applied Biosystem*) con un programa de amplificación que consta de un primer paso de desnaturalización a 95°C durante 5 minutos, seguido de 5 ciclos de amplificación (94°C durante 45 segundos, 55°C durante 45 segundos y 72°C durante 45 segundos), y otros 35 ciclos de amplificación (94°C durante 45 segundos, 62°C durante 45 segundos y 72°C durante 30 segundos).

Los productos amplificados se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa a una concentración del 2% y tampón TBE 0,5x (Tris-clorhídrico [Tris-HCl] 44,5 mM, ácido bórico 44,5 mM, EDTA 1 mM pH 8,4) en cubetas de desarrollo horizontal. La solución se calentó en microondas hasta total disolución y se dejó solidificar en la cubeta de electroforesis. Las muestras se cargaron en los pocillos del gel con ayuda del tampón de carga (6x) (Sigma, USA). Para determinar el tamaño del producto amplificado se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (DNA ladder 100pb, Invitrogen). La electroforesis se realizó con las siguientes condiciones: 200 voltios, 25 minutos.

Por último los geles se tiñeron con bromuro de etidio 0,5  $\mu$ g/ml y se visualizaron y fotografiaron en transiluminador de luz ultravioleta conectado a un equipo de captura de imágenes (Ultralum).

Los patrones electroforéticos resultantes se muestran en la **figura 3.2**

- Si la muestra es CCR5 wt (*wild type*) homocigota se observará una única banda de 174 pb.
- Si es homocigoto para la delección se observará una banda de 142 pb.
- Si es heterocigoto para la delección se observarán dos bandas, 174 y 142 pb



**Figura 3.2 Análisis de los genotipos CCR5.** Wt: genotipo wt/wt. Het: genotipo  $\Delta 32$ /wt. PM: Marcador de peso molecular.

### 3.7. DETERMINACIÓN DEL POLIMORFISMO CYP2B6 516 G>T

El análisis del polimorfismo CYP2B se realizó con la técnica de PCR cuantitativa a tiempo real y mediante la discriminación alélica con sondas TaqMan<sup>®</sup> (Applied Biosystems) pre-desarrolladas. Esta técnica se basa en la cuantificación de la fluorescencia que emiten los productos de PCR que se crean durante la amplificación.

Para cada reacción se utilizó:

- ADN genómico.....2  $\mu$ l (~20 ng)
- Taqman universal PCR Master Mix (Applied Biosystems)..... 5  $\mu$ l
- Assay Mix C\_7817765\_60 (SNP 516G>T rs3745274) (G marcado con VIC y T marcado con FAM).....0,5  $\mu$ l
- Agua grado biología molecular..... 2,5  $\mu$ l

Las condiciones de la reacción se muestran en la **tabla 3.4**

Paso	Temperatura	Duración	Ciclos
Activación Enzimática	95° C	10 min	1
Desnaturalización	95° C	15 seg	40
Extensión	60° C	1 min	

Tabla 3.4. Condiciones de reacción

Este proceso se realizó con el sistema 7500 Fast Real Time (Applied Biosystems) y se analizó con "Genotyper Software". En la **figura 3.3** se muestra un ejemplo de la gráfica de discriminación alélica con el cual se obtienen los resultados de la técnica.

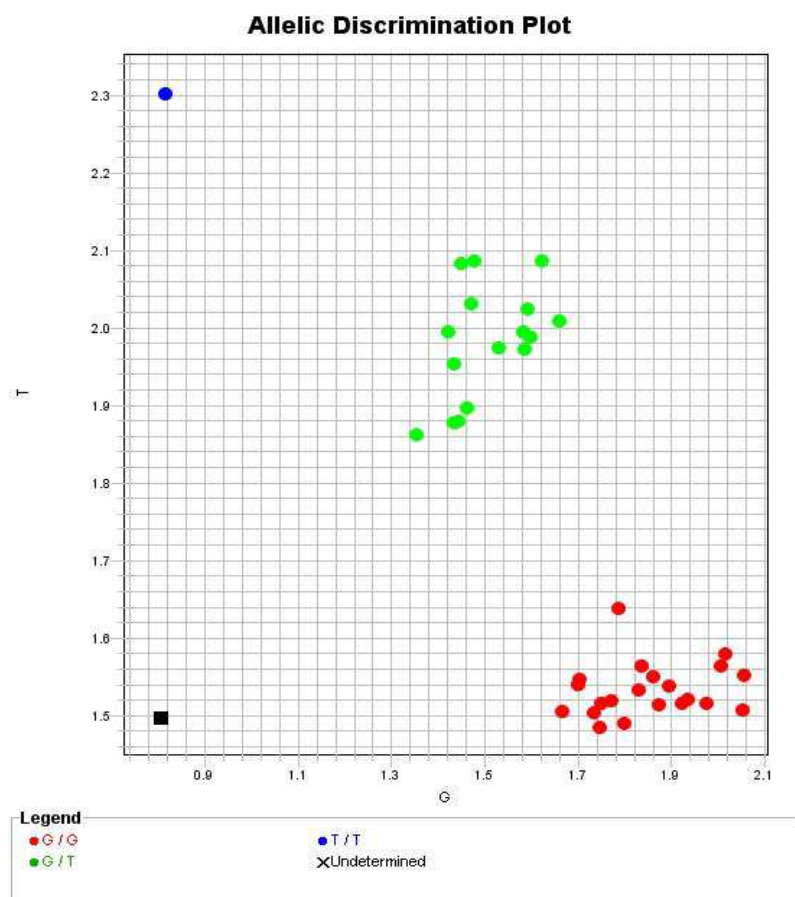


Figura 3.3. Ejemplo de gráfica de discriminación alélica

### 3.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con los programas estadísticos SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versión 22.0 para Mac OS X (SPSS Inc., Chicago IL) y GraphPad Prism versión 5.0 para Mac OS X. Con respecto a las frecuencias alélicas, la significación estadística se estudió mediante el uso de tablas de contingencia 2 x 2 por el test de  $\chi^2$  de Pearson y el test de Mantel-Haenszel, con la corrección de Yates o con el test exacto de Fisher cuando el valor observado para un marcador HLA resultaba menor de cinco. Los valores  $p$  se corrigieron multiplicando por el número de alelos analizados de cada locus (corrección de Bonferroni) (Svejgaard A, 1994), considerándose significativos solamente los valores de  $p$  inferiores a 0,05. Para el análisis de la evolución de los valores de linfocitos T CD4 en el tiempo se utilizó la regresión lineal univariante.



## 4. RESULTADOS

---



#### 4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

En la **tabla 4.1** se muestran los datos demográficos de los pacientes estudiados.

Pacientes con infección por VIH	
<b>Género</b>	
Femenino	194 (15,3 %)
Masculino	1076 (84,7 %)
<b>Edad Media</b>	39 años
<b>Rango</b>	22-78 años
<b>Origen</b>	
España	894 (70,4 %)
Islas Canarias	733 (57,7 %)
Resto España	161 (12,7 %)
Europa/USA	200 (15,7%)
África	78 (6,1%)
América del Sur	93 (7,3%)
Asia	5 (0,4%)

**Tabla 4.1. Características demográficas del grupo de estudio**

En las **tablas 4.2** y **4.3** se muestran las distribuciones de pacientes según su país de origen y provincia de origen en los pacientes autóctonos (en los pacientes canarios no se ha diferenciado provincia de origen).

Inmigrantes (n=376)					
<b>EUROPA / EEUU</b>	<b>Alemania</b>	58 (15,4%)	<b>Guinea Ecuatorial</b>	17 ( 4,5%)	
	<b>Reino Unido</b>	46 (12,2 %)	<b>Nigeria</b>	15 (4,0%)	
	<b>Italia</b>	33 (8,8%)	<b>Ghana</b>	12 (3,2%)	
	<b>Francia</b>	10 (2,7%)	<b>Marruecos</b>	9 (2,4%)	
	<b>Holanda</b>	9 (2,4%)	<b>Sierra Leona</b>	7 (1,9%)	
	<b>Rumanía</b>	7 (1,9%)	<b>Senegal</b>	3 (0,8%)	
	<b>Austria</b>	4 (1,1%)	<b>Mali</b>	2 (0,5%)	
	<b>Irlanda</b>	4 (1,1%)	<b>Liberia</b>	2 (0,5%)	
	<b>Suecia</b>	4 (1,1%)	<b>Togo</b>	1 (0,3%)	
	<b>Portugal</b>	4 (1,1%)	<b>Tanzania</b>	1 (0,3%)	
	<b>Bélgica</b>	3 (0,8%)	<b>Sudáfrica</b>	1 (0,3%)	
	<b>Noruega</b>	3 (0,8%)	<b>Ruanda</b>	1 (0,3%)	
	<b>Rusia</b>	3 (0,8%)	<b>Mauritania</b>	1 (0,3%)	
	<b>Polonia</b>	2 (0,5%)	<b>Guinea Conakry</b>	1 (0,3%)	
	<b>EEUU</b>	2 (0,5%)	<b>Guinea Bissau</b>	1 (0,3%)	
	<b>Suiza</b>	1 (0,3%)	<b>Costa de Marfil</b>	1 (0,3%)	
	<b>Hungría</b>	1 (0,3%)	<b>Camerún</b>	1 (0,3%)	
	<b>Eslovenia</b>	1 (0,3%)	<b>Cabo Verde</b>	1 (0,3%)	
	<b>Dinamarca</b>	1 (0,3%)	<b>Argelia</b>	1 (0,3%)	
	<b>ASIA</b>	<b>India</b>	1 (0,3%)	<b>AMÉRICA DEL SUR</b>	<b>Cuba</b>
<b>Tailandia</b>		1 (0,3%)	<b>Colombia</b>		20 (5,3%)
<b>China</b>		1 (0,3%)	<b>Venezuela</b>		13 (3,5%)
<b>Filipinas</b>		1 (0,3%)	<b>Argentina</b>		8 (2,1%)
<b>Vietnam</b>		1 (0,3%)	<b>Ecuador</b>		7 (1,9%)
			<b>Brasil</b>		5 (1,3%)
			<b>Uruguay</b>		4 (1,1%)
			<b>Chile</b>		3 (0,8%)
			<b>Perú</b>		2 (0,5%)
			<b>Surinam</b>		1 (0,3%)
		<b>Rep. Dominicana</b>	1 (0,3%)		
		<b>Guatemala</b>	1 (0,3%)		

Tabla 4.2. Origen de los pacientes inmigrantes

<b>Autóctonos (n= 894)</b>			
<b>Canarias</b>	733 (82%)	<b>León</b>	2 (0,2%)
<b>Madrid</b>	37 (4,1%)	<b>Melilla</b>	2 (0,2%)
<b>Asturias</b>	12 (1,3 %)	<b>Navarra</b>	2 (0,2%)
<b>Barcelona</b>	12 (1,3 %)	<b>Álava</b>	1 (0,1%)
<b>Málaga</b>	11 (1,2%)	<b>Albacete</b>	1 (0,1%)
<b>Sevilla</b>	10 (1,1%)	<b>Alicante</b>	1 (0,1%)
<b>Baleares</b>	9 (1,0%)	<b>Almería</b>	1 (0,1%)
<b>Pontevedra</b>	8 (0,9%)	<b>Burgos</b>	1 (0,1%)
<b>Valencia</b>	6 (0,7%)	<b>Cáceres</b>	1 (0,1%)
<b>La Coruña</b>	5 (0,6%)	<b>Ciudad Real</b>	1 (0,1%)
<b>Guipúzcoa</b>	5 (0,6%)	<b>Gerona</b>	1 (0,1%)
<b>Valladolid</b>	4 (0,4%)	<b>Huelva</b>	1 (0,1%)
<b>Vizcaya</b>	3 (0,3%)	<b>Huesca</b>	1 (0,1%)
<b>Cádiz</b>	4 (0,4%)	<b>La Rioja</b>	1 (0,1%)
<b>Toledo</b>	3 (0,3%)	<b>Lugo</b>	1 (0,1%)
<b>Cantabria</b>	3 (0,3%)	<b>Murcia</b>	1 (0,1%)
<b>Badajoz</b>	3 (0,3%)	<b>Palencia</b>	1 (0,1%)
<b>Tarragona</b>	2 (0,2%)	<b>Zamora</b>	1 (0,1%)
<b>Córdoba</b>	2 (0,2%)	<b>Zaragoza</b>	1 (0,1%)

**Tabla 4.3. Origen de los pacientes autóctonos**

En la **tabla 4.4** se muestra la vía de transmisión del VIH-1 en los 819 pacientes de los que se dispuso de datos.

Vía de transmisión	Frecuencia	%
HMX/BSX	523	41,2
HTX	187	14,7
UDVP	101	8,0
NO DETERMINADO	3	0,2
SANGUÍNEA	3	0,2
VERTICAL	2	0,2
NO DATOS	451	35,5
<b>Total</b>	<b>1270</b>	<b>100,0</b>

**Tabla 4.4. Vía de transmisión del VIH-1.**

HMX/BSX: Homosexual/Bisexual. HTX: Heterosexual. UDVP: Vía parenteral (usuarios de drogas vía parenteral)

En la **tabla 4.5** se encuentran los subtipos de VIH-1 en nuestra población de estudio. En 364 pacientes no se pudo obtener este dato y en 124 casos la muestra resultó no amplificable, por lo cual no se pudo llegar a la definición del subtipo de VIH-1.

Subtipo	Frecuencia	%
<b>B</b>	681	87,1
<b>CRF02_AG</b>	40	5,1
<b>D</b>	13	1,7
<b>C</b>	11	1,4
<b>G</b>	11	1,4
<b>CRF01_AE</b>	8	1
<b>A</b>	8	1
<b>F</b>	6	0,8
<b>H</b>	2	0,25
<b>K</b>	2	0,25
<b>Total</b>	<b>782</b>	<b>100,0</b>

**Tabla 4.5. Subtipos de VIH-1**

## 4.2. FRECUENCIAS HLA-B

Para el estudio de los alelos HLA-B se valoraron las frecuencias alélicas de los diferentes grupos según su origen y las del grupo control. En la **tabla 4.6** se muestran los resultados totales y en la **tabla 4.7** las frecuencias del grupo español, distinguiendo entre los pacientes de origen canario y los del resto de España.

Se encontraron 32 diferentes alelos HLA-B en la población estudiada. En el grupo español encontramos 29 alelos, 24 en el grupo Europa/EEUU, 21 en el grupo de África, y 25 en el grupo de América del Sur. El grupo de Asia se ha excluido de las comparaciones por el número tan pequeño de pacientes que entraron en el estudio (n=5).

La prevalencia del alelo B\*57:01 en el total de pacientes estudiados es del 5%, inferior a la encontrada en el grupo control (7,4%). Teniendo en cuenta el origen de los pacientes, esta prevalencia es menor en los no españoles ya que en ninguno de los tres grupos la frecuencia es superior al 2,6%. El reducido número de pacientes del grupo asiático no permite valorar la prevalencia del 20% del B\*57:01 ya que se debe únicamente al resultado del tipaje de un paciente.

En los pacientes autóctonos la prevalencia es del 6%, sin diferencias significativas entre canarios y no canarios (6,2% vs. 5,6%). En ningún caso la comparación de los resultados del B\*57:01 entre pacientes y controles, o entre diferentes grupos de pacientes alcanzó significación estadística.

Sí se aprecian diferencias significativas cuando se analizan las frecuencias de otros alelos HLA-B entre los diferentes grupos según su origen.

Alelo B	España 2n=1788 (%)	Europa/EEUU 2n=400 (%)	África 2n=156 (%)	Sur América 2n=186 (%)	Total 2n=2540 (%)	Controles 2n=242 (%)
B*07	100 (11,2)	40 (20)	13 (16,7)	10 (10,8)	163 (12,8)	22 (18,2)
B*08	101 (11,3)	39 (19,5)	6 (7,7)	12 (12,9)	158 (12,4)	16 (13,2)
B*13	16 (1,8)	13 (6,5)	2 (2,6)	4 (4,3)	35 (2,8)	3 (2,4)
B*14	127 (14,2)	15 (7,5)	6 (7,7)	12 (12,9)	160 (12,6)	21 (17,4)
B*15	93 (10,4)	23 (11,5)	19 (24,4)	14 (15,1)	150 (11,8)	17 (14)
B*18	89 (10)	30 (15)	7 (9)	7 (7,5)	134 (10,6)	8 (6,6)
B*27	49 (5,5)	16 (8)	4 (5,1)	4 (4,3)	74 (5,8)	5 (4,2)
B*35	185 (20,7)	43 (21,5)	17 (21,8)	28 (30,1)	273 (21,4)	24 (19,8)
B*37	26 (2,9)	7 (3,5)	0	0	33 (2,6)	2 (1,6)
B*38	57 (6,4)	8 (4)	1 (1,3)	2 (2,2)	69 (5,4)	5 (4,2)
B*39	36 (4)	12 (6)	3 (3,8)	13 (14)	64 (5)	4 (3,4)
B*40	88 (9,8)	26 (13)	0	10 (10,8)	125 (9,8)	11 (9)
B*41	34 (3,8)	2 (1)	1 (1,3)	0	37 (2,8)	6 (5)
B*42	13 (1,5)	2 (1)	6 (7,7)	5 (5,4)	26 (2)	1 (0,8)
B*44	285 (31,9)	62 (31)	11 (14,1)	20 (21,5)	379 (29,8)	33 (27,4)
B*45	31 (3,5)	1 (0,5)	3 (3,8)	4 (4,3)	39 (3)	5 (4,2)
B*46	0	0	0	0	1 (0,1)	0
B*47	7 (0,8)	0	0	1 (1,1)	8 (0,6)	2 (1,6)
B*48	1 (0,1)	0	0	2 (2,2)	3 (0,2)	0
B*49	43 (4,8)	7 (3,5)	5 (6,4)	4 (4,3)	59 (4,6)	12 (10)
B*50	63 (7)	3 (1,5)	1 (1,3)	2 (2,2)	69 (5,4)	5 (4,2)
B*51	147 (16,4)	23 (11,5)	4 (5,1)	11 (11,8)	185 (14,6)	14 (11,6)
B*52	20 (2,2)	5 (2,5)	0	5 (5,4)	30 (0,2)	2 (1,6)
B*53	34 (3,8)	4 (2)	24 (30,8)	4 (4,3)	66 (5,2)	6 (5)
B*54	0	0	0	0	1 (0,1)	0
B*55	23 (2,6)	5 (2,5)	0	2 (2,2)	30 (2,4)	0
B*56	21 (2,3)	4 (2)	1 (1,3)	1 (1,1)	27 (2,2)	3 (2,4)
B*58	35 (3,9)	5 (2,5)	12 (15,4)	4 (4,3)	57 (4,4)	3 (2,4)
B*67	1 (0,1)	0	0	0	1 (0,1)	0
B*73	1 (0,1)	0	0	0	1 (0,1)	0
B*78	1 (0,1)	0	0	1 (1,1)	2 (0,2)	0
B*81	0	0	2 (2,6)	0	2 (0,2)	0
B*57	61 (6,8)	5 (2,5)	8 (10,3)	4 (4,4)	78 (6,1)	10 (8,2)
B*57:01	54 (6)	5 (2,5)	2 (2,6)	2 (2,2)	64 (5)	9 (7,4)
B*57:02	3 (0,3)	0	2 (2,6)	0	5 (0,4)	0
B*57:03	3 (0,3)	0	4 (5,1)	2 (2,2)	9 (0,6)	1 (0,8)
B*57:04	1 (0,1)	0	0	0	1 (0,1)	0

**Tabla 4.6 Frecuencias alélicas HLA-B en el total de la población estudiada**

Los pacientes del grupo asiático no figuran en la tabla por ser solo cinco pacientes, sus alelos HLA-B fueron (B\*15, B\*54), (B\*44, B\*46), (B\*18, B\*38), (B\*57:01, B\*58) y (B\*27, B\*40).



Alelo B	Canarios 2n=1460	No canarios 2n=328	Alelo B	Canarios 2n=1460	No canarios 2n=328
<b>B*07</b>	83 (11,4%)	17 (10,4%)	<b>B*48</b>	1 (0,1%)	0
<b>B*08</b>	81 (11,1%)	20 (12,2%)	<b>B*49</b>	38 (5,2%)	5 (3%)
<b>B*13</b>	13 (1,8%)	3 (1,8%)	<b>B*50</b>	54 (7,4%)	9 (5,5%)
<b>B*14</b>	99 (13,6%)	28 (17,1%)	<b>B*51</b>	121 (16,6%)	26 (15,9%)
<b>B*15</b>	79 (10,8%)	14 (8,5%)	<b>B*52</b>	14 (1,9%)	6 (3,7%)
<b>B*18</b>	61 (8,4%)	28 (17,1%)	<b>B*53</b>	31 (4,2%)	3 (1,8%)
<b>B*27</b>	40 (5,5%)	9 (5,5%)	<b>B*55</b>	19 (2,6%)	4 (2,4%)
<b>B*35</b>	158 (21,6%)	27 (16,5%)	<b>B*56</b>	20 (2,7%)	1 (0,6%)
<b>B*37</b>	24 (3,3%)	2 (1,2%)	<b>B*58</b>	27 (3,7%)	8 (4,9%)
<b>B*38</b>	46 (6,3%)	11 (6,7%)	<b>B*67</b>	1 (0,1%)	0
<b>B*39</b>	29 (4%)	7 (4,3%)	<b>B*73</b>	0	1 (0,6%)
<b>B*40</b>	72 (9,9%)	16 (9,8%)	<b>B*78</b>	1 (0,1%)	0
<b>B*41</b>	17 (2,3%)	17 (10,4%)	<b>B*57</b>	49 (6,7%)	12 (7,3%)
<b>B*42</b>	13 (1,8%)	0	<b>B*57:01</b>	45 (6,2%)	9 (5,5%)
<b>B*44</b>	232 (31,8%)	53 (32,3%)	<b>B*57:02</b>	1 (0,1%)	2 (1,2%)
<b>B*45</b>	30 (4,1%)	1 (0,6%)	<b>B*57:03</b>	2 (0,3%)	1 (0,6%)
<b>B*47</b>	7 (1%)	0	<b>B*57:04</b>	1 (0,1%)	0

**Tabla 4.7 Frecuencias alélicas de HLA-B en el grupo autóctono (canarios/no canarios)**

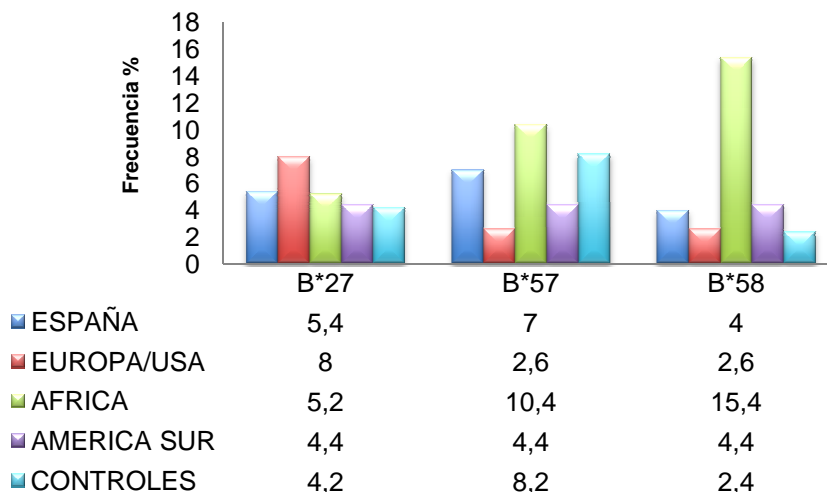
En el grupo de África es donde se encuentra una menor diversidad alélica, tres alelos presentaron frecuencias superiores al 20% (HLA-B\*15, HLA-B\*35 y HLA-B\*53), y representan el 38,1% de la diversidad alélica observada. Al comparar el grupo español con el africano se encuentran diferencias significativas en esos tres alelos puesto que son menos frecuentes en la población española (B\*15: 24,4% vs. 10,4%,  $p=0,0005$ ,  $pc=0,016$ ,  $OR=0,39$ ; B\*53: 30% vs 3,8%,  $p<0,000001$ ,  $OR=0,10$ ; y B\*58: 15,4% vs. 4%,  $p<0,00001$ ,  $OR=0,23$ ). En sentido contrario, otros dos alelos son estadísticamente más frecuentes en la población española respecto a la africana (B\*38: 6,4% vs 1,2%,  $p=0,0009$ ,  $pc=0,028$ ,  $OR=13,1$ ; B\*51: 16,4% vs 5,2%,  $p=0,011$ ,  $pc=0,35$ ,  $OR=0,29$ ). El B\*14 también es más frecuente pero su significación se pierde tras corrección (14,2% vs 7,4%,  $p=0,013$ ,  $pc=0,41$ ,  $OR=1,92$ ).

Con respecto a la comparación del grupo de pacientes españoles con el grupo europeo, se observa una disminución estadísticamente significativa en los

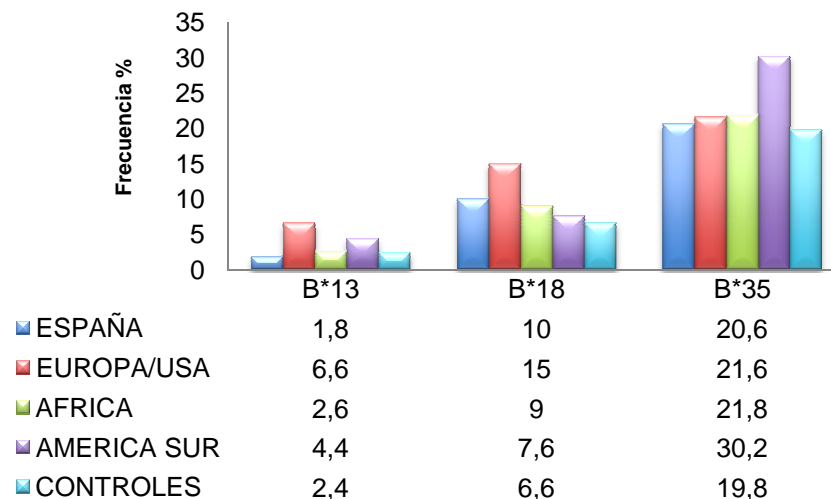
alelos B\*07 y B\*13 en los pacientes españoles (B\*07: 20% vs. 11,2%,  $p=0,0011$   $pc=0,035$ ,  $OR=0,53$ ; B\*13: 6,6% vs. 1,8%,  $p=0,0005$ ,  $pc=0,016$ ,  $OR=0,26$ ). El alelo B\*50 es más frecuente en españoles (7% vs. 1,2%;  $p=0,0033$ ,  $pc=ns$ ), aunque sin significación estadística. Asimismo, en la comparación respecto al grupo africano, la significación respecto al B\*14 también se pierde tras corrección (7,1% vs. 3,8%,  $p=0,013$ ,  $pc=ns$ ,  $OR=1,92$ ).

En la comparación de frecuencias dentro del grupo de pacientes españoles, se encontró que los alelos B\*18 y B\*41 son más frecuentes en los pacientes no canarios que en los canarios (B\*18: 17,2% vs 8,4%,  $p=0,0016$ ,  $pc=0,048$ ,  $OR=0,4$ ; B\*41: 10,4% vs 2,4%  $p=0,000001$ ,  $pc=0,00003$ ,  $OR=0,21$ ). Por el contrario, la frecuencia del alelo B\*45 es superior en los pacientes de origen canario, aunque su significación se pierde tras corrección (4,2 vs. 0,6%,  $p=0,05$ ;  $OR=6,8$ ).

Las frecuencias de los alelos descritos como asociados a una progresión lenta de la infección en el total de los pacientes estudiados fueron del 6,1% para B\*57, 5,8% para B\*27 y 4,4% para B\*58. Las frecuencias de los alelos asociados a progresión rápida fueron de 2,8% para B\*13, 10,6% para B\*18 y 21,4% para B\*35. En la **figuras 4.1 y 4.2** se indica la distribución de estos alelos según el origen de los pacientes.



**Figura 4.1. Frecuencias de alelos de progresión lenta**



**Figura 4.2. Frecuencias de alelos de progresión rápida**

### 4.3. FRECUENCIAS HLA-DRB1

Para el estudio de los alelos HLA-DRB1 se evaluaron las frecuencias alélicas de los diferentes grupos según su origen y las del grupo control. En la **tabla 4.8** se muestran los resultados totales y en la **tabla 4.9** las frecuencias dentro del grupo español distinguiendo entre los pacientes de origen canario y los del resto de España.

La frecuencia del DRB1\*01 asociado a la reacción de hipersensibilidad a la NVP, es del 22,2% en el total de pacientes, siendo la frecuencia de sus alelos de alta resolución DRB1\*01:01, DRB1\*01:02 y DRB1\*01:03 del 12,2%, 8% y 2%, respectivamente. En el grupo africano y americano la frecuencia del alelo DRB1\*01 es menor (inferior al 13,4%), pero sin alcanzar significación estadística al compararla con el grupo control y con el total de pacientes.

Con respecto al resto de comparaciones entre los distintos grupos, tan solo encontramos diferencias significativas en la frecuencia del alelo DRB1\*13. En el grupo europeo/estadounidense su frecuencia está disminuida respecto al total de pacientes (17,6% vs 35,2%,  $p=0,00004$ ,  $P_c=0,0005$ ,  $OR=0,45$ ) y a los controles (17,6% vs. 48,8%,  $p=0,0000002$ ,  $p_c=0,000026$ ;  $OR=0,38$ ). En el grupo canario la frecuencia de este alelo es superior a la del resto de españoles (42,6 % vs 33,3%;  $p=0,039$ ,  $p_c=ns$ ,  $OR=1,46$ ) pero la significación estadística se pierde al corregir por

el número de alelos. No se encontraron otras diferencias en las comparaciones entre los diferentes grupos.

Alelo DRB1	España 2n=1430 (%)	Europa/EEUU 2n=340 (%)	África 2n=136 (%)	Sur América 2n=164 (%)	Total 2n=2076 (%)	Controles 2n=242 (%)
DRB1*03	161 (22,5)	35 (20,6)	21 (30,9)	25 (30,5)	242 (23,4)	26 (21,4)
DRB1*04	189 (26,4)	50 (29,4)	4 (5,9)	21 (25,6)	264 (25,4)	30 (24,8)
DRB1*07	205 (28,7)	43 (25,3)	10 (14,7)	21 (25,6)	279 (26,8)	30 (24,8)
DRB1*08	37 (5,2)	12 (7,1)	6 (8,8)	11 (13,4)	68 (6,6)	8 (6,6)
DRB1*09	9 (1,3)	1 (0,6)	6 (8,8)	6 (7,3)	23 (2,2)	0
DRB1*10	20 (2,8)	5 (2,9)	4 (5,9)	1 (1,2)	30 (2,8)	4 (3,4)
DRB1*11	155 (21,7)	46 (27,1)	17 (25)	19 (23,2)	237 (22,8)	27 (22,4)
DRB1*12	10 (1,4)	7 (4,1)	7 (10,3)	2 (2,4)	27 (2,6)	1 (0,8)
DRB1*13	290 (40,6)	30 (17,6)	26 (38,2)	20 (24,4)	366 (35,2)	59 (48,8)
DRB1*14	33 (4,6)	16 (9,4)	2 (2,9)	5 (6,1)	56 (5,4)	6 (5)
DRB1*15	125 (17,5)	43 (25,3)	20 (29,4)	14 (17,1)	204 (19,6)	19 (15,6)
DRB1*16	24 (3,4)	12 (7,1)	5 (7,4)	8 (9,8)	49 (4,8)	8 (6,6)
DRB1*01	172 (24,1)	40 (23,6)	8 (11,8)	11 (13,4)	231 (22,2)	21 (17,2)
DRB1*01:01	83 (11,6)	33 (19,4)	3 (4,4)	7 (8,5)	126 (12,2)	9 (7,2)
DRB1*01:02	72 (10,1)	4 (2,4)	5 (7,4)	3 (3,7)	84 (8)	9 (7,2)
DRB1*01:03	17 (2,4)	3 (1,8)	0	1 (1,2)	21 (2)	3 (2,4)

**Tabla 4.8. Frecuencias alélicas HLA-DRB1 en el total de la población estudiada.**

Los pacientes del grupo asiático no figuran en la tabla por ser solo cinco, de los cuales tan solo tres estaban tipados para HLA-DRB1, sus alelos HLA-DRB1 fueron (DRB1\*08, DRB1\*12), (DRB1\*15, -) y (DRB1\*08, DRB1\*09).

Alelo DRB1	Canarios	No canarios
	2n=1168	2n=262
<b>DRB1*03</b>	127 (21,7%)	34 (26%)
<b>DRB1*04</b>	150 (25,7%)	39 (29,8%)
<b>DRB1*07</b>	165 (28,3%)	40 (30,5%)
<b>DRB1*08</b>	27 (4,6%)	10 (7,6%)
<b>DRB1*09</b>	6 (1%)	3 (2,3%)
<b>DRB1*10</b>	16 (2,7%)	4 (3,1%)
<b>DRB1*11</b>	124 (21,2%)	31 (23,7%)
<b>DRB1*12</b>	8 (1,4%)	2 (1,5%)
<b>DRB1*13</b>	249 (42,6%)	41 (31,3%)
<b>DRB1*14</b>	27 (4,6%)	6 (4,6%)
<b>DRB1*15</b>	104 (17,8%)	21 (16%)
<b>DRB1*16</b>	18 (3,1%)	6 (4,6%)
<b>DRB1*01</b>	147 (25,1%)	25 (19,1%)
<b>DRB1*01:01</b>	72 (12,3%)	11 (8,4%)
<b>DRB1*01:02</b>	59 (10,1%)	13 (9,9%)
<b>DRB1*01:03</b>	16 (2,7%)	1 (0,8%)

**Tabla 4.9. Frecuencias alélicas de HLA-DRB1 en pacientes autóctonos**

#### 4.4. INFECCIONES OPORTUNISTAS Y HLA

Se estudió la frecuencia de los alelos HLA en las infecciones defintorias de SIDA que analizamos en el presente trabajo, con el objetivo de buscar posibles asociaciones que pudieran indicar predisposición negativa o positiva de algún alelo frente a dichas infecciones.

##### 4.4.1. Candidosis

Se incluyó en este grupo a los pacientes que habían presentado candidosis esofágica, traqueal, bronquial o pulmonar. En las **tablas 4.10** y **4.11** se muestran los datos sobre las frecuencias HLA-B y HLA-DRB1.

Alelo B	Candidosis SI 2n=148	Candidosis NO 2n=818	Alelo B	Candidosis SI 2n=148	Candidosis NO 2n=818
HLA-B*07	7 (9,5%)	54 (13,2%)	HLA-B*47	1 (1,4%)	3 (0,7%)
HLA-B*08	7 (9,5%)	45 (11%)	HLA-B*48	0	1 (0,2%)
HLA-B*13	3 (4,1%)	12 (2,9%)	HLA-B*49	6 (8,1%)	16 (3,9%)
HLA-B*14	4 (5,4%)	59 (14,4%)	HLA-B*50	1 (1,4%)	17 (4,2%)
HLA-B*15	12 (16,2%)	42 (10,3%)	HLA-B*51	16 (21,6%)	67 (16,4%)
HLA-B*18	13 (17,6%)	36 (8,8%)	HLA-B*52	2 (2,7%)	13 (3,2%)
HLA-B*27	9 (12,2%)	25 (6,1%)	HLA-B*53	2 (2,7%)	23 (5,6%)
HLA-B*35	13 (17,6%)	100 (24,4%)	HLA-B*55	0	7 (1,7%)
HLA-B*37	1 (1,4%)	9 (2,2%)	HLA-B*56	1 (1,4%)	8 (2%)
HLA-B*38	5 (6,8%)	24 (5,9%)	HLA-B*58	4 (5,4%)	19 (4,6%)
HLA-B*39	1 (1,4%)	16 (3,9%)	HLA-B*78	0	1 (0,2%)
HLA-B*40	10 (13,5%)	37 (9%)	HLA-B*81	0	1 (0,2%)
HLA-B*41	3 (4,1%)	8 (2%)	HLA-B*57	2 (2,7%)	29 (7%)
HLA-B*42	3 (4,1%)	8 (2%)	HLA-B*57:01	2 (2,7%)	22 (5,4%)
HLA-B*44	19 (25,7%)	126 (30,8%)	HLA-B*57:02	0	3 (0,7%)
HLA-B*45	3 (4,1%)	11 (2,7%)	HLA-B*57:03	0	3 (0,7%)
HLA-B*46	0	1 (0,2%)	HLA-B*57:04	0	1 (0,2%)

**Tabla 4.10 Frecuencia de HLA-B en Candidosis**

Alelo DRB1	Candidosis SI	Candidosis NO
	2n=122	2n=355
HLA-DRB1*03	11 (18%)	74 (20,8%)
HLA-DRB1*04	16 (26,2%)	97 (27,3%)
HLA-DRB1*07	10 (16,4%)	98 (27,6%)
HLA-DRB1*08	2 (3,3%)	25 (7%)
HLA-DRB1*09	0	5 (1,4%)
HLA-DRB1*10	2 (3,3%)	11 (3,1%)
HLA-DRB1*11	11 (23,4%)	88 (23,8%)
HLA-DRB1*12	1 (1,6%)	10 (2,8%)
HLA-DRB1*13	28 (45,9%)	126 (35,5%)
HLA-DRB1*14	4 (6,6%)	15 (4,2%)
HLA-DRB1*15	12 (19,7%)	76 (21,4%)
HLA-DRB1*16	2 (3,3%)	14 (3,9%)
HLA-DRB1*01	15 (24,5%)	79 (22,3%)
HLA-DRB1*01:01	6 (9,8%)	43 (12,1%)
HLA-DRB1*01:02	8 (13,1%)	30 (8,5%)
HLA-DRB1*01:03	1 (1,6%)	6 (1,7%)

**Tabla 4.11. Frecuencias HLA-DRB1 en Candidosis**

Se observó una frecuencia aumentada de candidosis en portadores del alelo HLA-B\*14 pero sin significación estadística tras la corrección (14,4% frente a 5,4%,  $p=0,034$ ;  $pc=ns$ ). Los alelos HLA-B\*18 y B\*27 están menos representados en el grupo que sufrió candidosis pero sin significación estadística.

Con respecto a los alelos HLA-DRB1 se observa algún alelo como el DRB1\*13 en el que la frecuencia de candidosis es mayor y el DRB1\*07 que se encuentra en menor frecuencia pero sin alcanzar significación estadística en ninguno de los casos.

#### 4.4.2. Neumonía por *Pneumocystis jirovecii*

En las **tablas 4.12 y 4.13** se muestran los datos sobre las frecuencias HLA-B y HLA-DRB1.

Alelo B	N. <i>Pneumocystis</i>		Alelo B	N. <i>Pneumocystis</i>	
	SI 2n=116	NO 2n=850		SI 2n=116	NO 2n=850
HLA-B*07	9 (15,5%)	52 (12,2%)	HLA-B*47	0	4 (0,9%)
HLA-B*08	9 (15,5%)	43 (10,1%)	HLA-B*48	0	1 (0,2%)
HLA-B*13	1 (1,7%)	14 (3,3%)	HLA-B*49	0	22 (5,2%)
HLA-B*14	6 (10,3%)	57 (13,4%)	HLA-B*50	3 (5,2%)	15 (3,5%)
HLA-B*15	4 (6,9%)	50 (11,8%)	HLA-B*51	8 (13,8%)	75 (17,6%)
HLA-B*18	6 (10,3%)	43 (10,1%)	HLA-B*52	1 (1,7%)	14 (3,3%)
HLA-B*27	2 (3,4%)	32 (7,5%)	HLA-B*53	1 (1,7%)	24 (5,6%)
HLA-B*35	13 (22,4%)	100 (23,5%)	HLA-B*55	1 (1,7%)	6 (1,4%)
HLA-B*37	2 (3,4%)	8 (1,9%)	HLA-B*56	0	9 (2,1%)
HLA-B*38	6 (10,3%)	23 (5,4%)	HLA-B*58	4 (6,9%)	19 (4,5%)
HLA-B*39	4 (6,9%)	13 (3,1%)	HLA-B*78	0	1 (0,2%)
HLA-B*40	8 (13,8%)	39 (9,2%)	HLA-B*81	0	1 (0,2%)
HLA-B*41	0	11 (2,6%)	HLA-B*57	2 (3,4%)	29 (6,8%)
HLA-B*42	2 (3,4%)	9 (2,1%)	HLA-B*57:01	2 (3,4%)	22 (5,2%)
HLA-B*44	21 (36,2%)	124 (29,2%)	HLA-B*57:02	0	3 (0,7%)
HLA-B*45	2 (3,4%)	12 (2,8%)	HLA-B*57:03	0	3 (0,7%)
HLA-B*46	1 (1,7%)	0	HLA-B*57:04	0	1 (0,2%)

**Tabla 4.12. Frecuencias HLA-B y neumonía por *Pneumocystis jirovecii***

Entre los alelos HLA-B no se encuentran diferencias estadísticamente significativas. Con respecto a los alelos HLA-DRB1 se encuentra una frecuencia aumentada de DRB1\*03 en el grupo de pacientes que han sufrido neumonía por *Pneumocystis jirovecii* y disminuida de HLA-DRB1\*07, aunque ambos sin significación estadística tras la corrección (HLA-DRB1\*03: 34% frente 18,7%,  $p=0,023$ ;  $pc=ns$ ), (HLA-DRB1\*07: 12,8% frente a 27,6%,  $p=0,044$ ;  $pc=ns$ ).



Alelo DRB1	N. <i>Pneumocystis</i>	
	SI 2n=94	NO 2n=738
HLA-DRB1*03	16 (34)	69 (18,7)
HLA-DRB1*04	15 (31,9)	98 (26,6)
HLA-DRB1*07	6 (12,8)	102 (27,6)
HLA-DRB1*08	4 (8,5)	23 (6,2)
HLA-DRB1*09	0	5 (1,4)
HLA-DRB1*10	1 (2,1)	12 (3,3)
HLA-DRB1*11	11 (23,4)	88 (23,8)
HLA-DRB1*12	0	11 (3)
HLA-DRB1*13	17 (36,2)	137 (37,1)
HLA-DRB1*14	3 (6,4)	16 (4,3)
HLA-DRB1*15	9 (19,1)	79 (21,4)
HLA-DRB1*16	2 (4,3)	14 (3,8)
HLA-DRB1*01	10 (21,3)	84 (22,7)
HLA-DRB1*01:01	4 (8,5)	45 (12,2)
HLA-DRB1*01:02	6 (12,8)	32 (8,7)
HLA-DRB1*01:03	0	7 (1,9)

**Tabla 4.13. Frecuencias HLA-DRB1 y neumonía por *Pneumocystis jirovecii***

Se analizó el recuento de linfocitos T CD4 de los pacientes de los que obtuvimos datos, y se distribuyeron en dos grupos dependiendo de si el recuento había bajado o no de 200 cel/ $\mu$ l en algún momento de su evolución. Se encontraron 14 pacientes que habían sufrido infección por *P. jirovecii* en los que en el periodo de estudio de este trabajo no se encontraron datos de cifras de linfocitos T CD4 inferiores a los 200 cel/ $\mu$ l.

El aumento de la frecuencia de DRB1\*03 es similar en ambos grupos, sin embargo la disminución de frecuencia de DRB1\*07 en pacientes que han sufrido la infección afecta principalmente a aquellos en los que el recuento de linfocitos T CD4 ha estado en algún momento por debajo de los 200 cel/ $\mu$ l (**tabla 4.14**).

PACIENTES CD4>200			PACIENTES CD4<200		
Alelo DRB1	SI 2n=28	NO 2n=193	Alelo DRB1	SI 2n=40	NO 2n=170
DRB1*03	5 (35,7%)	36 (18,7%)	DRB1*03	6 (30%)	19 (22,4%)
DRB1*04	5 (35,7%)	54 (28%)	DRB1*04	5 (25%)	24 (28,2%)
DRB1*07	3 (21,4%)	51 (26,4%)	DRB1*07	3 (15%)	27 (31,8%)
DRB1*08	3 (21,4%)	12 (6,2%)	DRB1*08	1 (5%)	4 (4,7%)
DRB1*09	0	4 (2,1%)	DRB1*09	0	1 (1,2%)
DRB1*10	0	7 (3,6%)	DRB1*10	0	2 (2,4%)
DRB1*11	2 (14,3%)	44 (22,8%)	DRB1*11	6 (30%)	19 (22,4%)
DRB1*12	0	5 (2,6%)	DRB1*12	0	2 (2,4%)
DRB1*13	3 (21,4%)	76 (39,4%)	DRB1*13	9 (45%)	27 (31,8%)
DRB1*14	0	5 (2,6%)	DRB1*14	2 (10%)	6 (7,1%)
DRB1*15	3 (21,4%)	44 (22,8%)	DRB1*15	4 (20%)	20 (23,5%)
DRB1*16	1 (7,1%)	6 (3,1%)	DRB1*16	0	3 (3,5%)
DRB1*01	3 (21,4%)	42 (21,8%)	DRB1*01	4 (20%)	16 (18,8%)
DRB1*01:01	1 (7,1%)	25 (13%)	DRB1*01:01	2 (10%)	8 (9,4%)
DRB1*01:02	2 (14,3%)	15 (7,8%)	DRB1*01:02	2 (10%)	4 (4,7%)
DRB1*01:03	0	2 (1%)	DRB1*01:03	0	4 (4,7%)

Tabla 4.14. Frecuencias HLA-DRB1 según el recuento de linfocitos T CD4

#### 4.4.3. Tuberculosis

Se incluyó en este grupo a los pacientes que hubieran sufrido infecciones por *Mycobacterium tuberculosis* o *Mycobacterium bovis* en cualquier localización, pulmonar o extra pulmonar. El total de pacientes fue de 53 (13 mujeres, 40 hombres). En las **tablas 4.15** y **4.16** se muestran los datos sobre las frecuencias HLA-B y HLA-DRB1.

Tan solo se observan diferencias apreciables en la frecuencia de HLA-B\*38 que se encuentra aumentada en pacientes que han padecido tuberculosis, pero sin significación estadística tras la corrección (13,2% frente a 5,1%,  $p=0,048$ ;  $pc=ns$ ).

Alelo B	TB		Alelo B	TB	
	SI 2n=106	NO 2n=860		SI 2n=106	NO 2n=860
HLA-B*07	6 (11,3%)	55 (12,8)	HLA-B*47	0	4 (0,9%)
HLA-B*08	3 (5,7%)	49 (11,4%)	HLA-B*48	0	1 (0,2%)
HLA-B*13	1 (1,9%)	14 (3,3%)	HLA-B*49	0	22 (5,1%)
HLA-B*14	8 (15,1%)	55 (12,8%)	HLA-B*50	4 (7,5%)	13 (3,3%)
HLA-B*15	5 (9,4%)	49 (11,4%)	HLA-B*51	9 (17%)	74 (17,2%)
HLA-B*18	5 (9,4%)	44 (10,2%)	HLA-B*52	1 (1,9%)	14 (3,3%)
HLA-B*27	6 (11,3%)	28 (6,5%)	HLA-B*53	3 (5,7%)	22 (5,1%)
HLA-B*35	12 (22,6%)	101 (23,5%)	HLA-B*55	0	7 (1,6%)
HLA-B*37	3 (5,7%)	7 (1,6%)	HLA-B*56	1 (1,9%)	8 (1,9%)
HLA-B*38	7 (13,2%)	22 (5,1%)	HLA-B*58	2 (3,8%)	21 (4,9%)
HLA-B*39	1 (1,9%)	16 (3,7%)	HLA-B*78	0	1 (0,2%)
HLA-B*40	4 (7,5%)	43 (10%)	HLA-B*81	0	1 (0,2%)
HLA-B*41	1 (1,9%)	10 (2,3%)	HLA-B*57	4 (7,5%)	27 (6,3%)
HLA-B*42	2 (3,8%)	9 (2,1%)	HLA-B*57:01	3 (5,7%)	21 (4,9%)
HLA-B*44	17 (32,1%)	128 (29,8%)	HLA-B*57:02	1 (1,9%)	2 (0,5%)
HLA-B*45	1 (1,9%)	13 (3%)	HLA-B*57:03	0	3 (0,7%)
HLA-B*46	0	1 (0,2%)	HLA-B*57:04	0	1 (0,2%)

Tabla 4.15 Frecuencias HLA-B en Tuberculosis

Alelo DRB1	TB SI	TB NO
	2n=96	2n=736
HLA-DRB1*03	9 (18,8%)	76 (20,7%)
HLA-DRB1*04	14 (29,2%)	99 (26,9%)
HLA-DRB1*07	15 (31,3%)	93 (25,3%)
HLA-DRB1*08	0	27 (7,3%)
HLA-DRB1*09	1 (2,1%)	4 (1,1%)
HLA-DRB1*10	2 (4,2%)	11 (3%)
HLA-DRB1*11	12 (25%)	87 (23,6%)
HLA-DRB1*12	0	11 (3%)
HLA-DRB1*13	20 (41,7%)	134 (36,4%)
HLA-DRB1*14	5 (10,4%)	14 (3,8%)
HLA-DRB1*15	9 (18,8%)	79 (21,5%)
HLA-DRB1*16	1 (2,1%)	15 (4,1%)
HLA-DRB1*01	8 (16,6%)	86 (23,3%)
HLA-DRB1*01:01	3 (6,3%)	46 (12,5%)
HLA-DRB1*01:02	3 (6,3%)	35 (9,5%)
HLA-DRB1*01:03	2 (4,2%)	5 (1,4%)

Tabla 4.16 Frecuencias HLA-DRB1 en Tuberculosis

#### 4.4.4. Infección por citomegalovirus

En 22 pacientes se encontraron enfermedades por CMV en órganos diferentes del hígado, bazo o ganglios linfáticos. Las frecuencias HLA se muestran en las **tablas 4.17 y 4.18**.

Alelo B	CMV		Alelo B	CMV	
	SI 2n=44	NO 2n=922		SI 2n=44	NO 2n=922
HLA-B*07	4 (18,2%)	57 (12,4%)	HLA-B*47	0	4 (0,9%)
HLA-B*08	1 (4,5%)	51 (11,1%)	HLA-B*48	0	1 (0,2%)
HLA-B*13	0	15 (3,3%)	HLA-B*49	1 (4,5%)	21 (4,6%)
HLA-B*14	1 (4,5%)	62 (13,4%)	HLA-B*50	1 (4,5%)	17 (3,7%)
HLA-B*15	1 (4,5%)	53 (11,5%)	HLA-B*51	1 (4,5%)	82 (17,8%)
HLA-B*18	2 (9,1%)	47 (10,2%)	HLA-B*52	0	15 (3,3%)
HLA-B*27	3 (13,6%)	31 (6,7%)	HLA-B*53	3 (13,6%)	22 (4,8%)
HLA-B*35	3 (13,6%)	110 (23,9%)	HLA-B*55	2 (9,1%)	5 (1,1%)
HLA-B*37	0	10 (2,2%)	HLA-B*56	2 (9,1%)	7 (1,5%)
HLA-B*38	2 (9,1%)	27 (5,9%)	HLA-B*58	1 (4,5%)	22 (4,8%)
HLA-B*39	2 (9,1%)	15 (3,3%)	HLA-B*78	0	1 (0,2%)
HLA-B*40	2 (9,1%)	45 (9,8%)	HLA-B*81	0	1 (0,2%)
HLA-B*41	0	11 (2,4%)	HLA-B*57	1 (4,5%)	29 (6,3%)
HLA-B*42	1 (4,5%)	10 (2,2%)	HLA-B*57:01	1 (4,5%)	23 (5%)
HLA-B*44	6 (27,3%)	139 (30,2%)	HLA-B*57:02	0	2 (0,5%)
HLA-B*45	3 (13,6%)	11 (2,4%)	HLA-B*57:03	0	3 (0,7%)
HLA-B*46	1 (4,5%)	0	HLA-B*57:04	0	1 (0,2%)

**Tabla 4.17 Frecuencias HLA-B e infección por Citomegalovirus**

El alelo HLA-B\*45 presentó una frecuencia aumentada en estos pacientes (13,6% frente a 2,4%,  $p=0,021$ ,  $pc=ns$ ) y también el alelo DRB1\*08 (26,7% frente a 5,7%,  $p=0,007$ ,  $pc=ns$ ). Ambas asociaciones pierden la significación estadística tras la corrección por el número de alelos.

Alelo DRB1	CMV SI 2n=30	CMV NO 2n=802
HLA-DRB1*03	4 (26,7%)	81 (20,2%)
HLA-DRB1*04	3 (20%)	110 (27,4%)
HLA-DRB1*07	3 (20%)	105 (26,2%)
HLA-DRB1*08	4 (26,7%)	23 (5,7%)
HLA-DRB1*09	0	5 (1,2%)
HLA-DRB1*10	0	13 (3,2%)
HLA-DRB1*11	5 (33,3%)	94 (23,4%)
HLA-DRB1*12	0	11 (2,7%)
HLA-DRB1*13	5 (33,3%)	149 (37,2%)
HLA-DRB1*14	2 (13,3%)	17 (4,2%)
HLA-DRB1*15	2 (13,3%)	86 (21,4%)
HLA-DRB1*16	1 (6,7%)	15 (3,7%)
HLA-DRB1*01	1 (6,7%)	93 (23,2%)
HLA-DRB1*01:01	1 (6,7%)	48 (12%)
HLA-DRB1*01:02	0	38 (9,5%)
HLA-DRB1*01:03	0	7 (1,7%)

**Tabla 4.18. Frecuencias HLA-DRB1 e infección por Citomegalovirus**

#### 4.4.5. Neumonías recurrentes

Comparando las frecuencias de los alelos HLA-B en pacientes con neumonías recurrentes se observó una frecuencia aumentada del alelo B\*57 (16,7% frente a 5,4%,  $p=0,0099$ ;  $pc=ns$ ) que pierde la significación estadística al aplicar la corrección. Con respecto a HLA-DRB1 se encuentra una frecuencia aumentada de DRB1\*07 (42,9% frente a 24,4%,  $p=0,017$ ;  $pc=ns$ ) y disminuida de DRB1\*03 (2,9% frente a 22%,  $p=0,007$ ;  $pc=ns$ ) aunque ambas pierden la significación tras la corrección (**tablas 4.19 y 4.20**).

Alelo B	Neumonías SI	Neumonías NO	Alelo B	Neumonías SI	Neumonías NO
	2n=72	2n=894		2n=72	2n=894
HLA-B*07	6 (14,3%)	55 (12,5%)	HLA-B*47	0	4 (0,9%)
HLA-B*08	2 (4,8%)	50 (11,3%)	HLA-B*48	0	1 (0,2%)
HLA-B*13	2 (4,8%)	13 (2,9%)	HLA-B*49	4 (9,5%)	18 (4,1%)
HLA-B*14	4 (9,5%)	59 (13,4%)	HLA-B*50	0	18 (4,1%)
HLA-B*15	5 (11,9%)	49 (11,1%)	HLA-B*51	9 (21,4%)	74 (16,8%)
HLA-B*18	3 (7,1%)	46 (10,4%)	HLA-B*52	1 (2,4%)	14 (3,2%)
HLA-B*27	2 (4,8%)	32 (7,3%)	HLA-B*53	3 (7,1%)	22 (5%)
HLA-B*35	7 (16,7%)	106 (24%)	HLA-B*55	0	7 (1,6%)
HLA-B*37	1 (2,4%)	9 (2%)	HLA-B*56	0	9 (2%)
HLA-B*38	3 (7,1%)	26 (5,9%)	HLA-B*58	5 (11,9%)	18 (4,1%)
HLA-B*39	1 (2,4%)	16 (3,6%)	HLA-B*78	0	1 (0,2%)
HLA-B*40	2 (4,8%)	45 (10,2%)	HLA-B*81	0	1 (0,2%)
HLA-B*41	0	11 (2,5%)	HLA-B*57	7 (16,7%)	24 (5,4%)
HLA-B*42	1 (2,4%)	10 (2,3%)	HLA-B*5701	7	17 (3,9%)
HLA-B*44	14 (33,3%)	131 (29,7%)	HLA-B*5702	0	3 (0,7%)
HLA-B*45	2 (4,8%)	12 (2,7%)	HLA-B*5703	0	3 (0,7%)
HLA-B*46	0	1 (0,2%)	HLA-B*5704	0	1 (0,2%)

Tabla 4.19 Frecuencias HLA-B y neumonías recurrentes

Alelo DRB1	Neumonías SI	Neumonías NO
	2n=70	2n=762
HLA-DRB1*03	1 (2,9%)	84 (22%)
HLA-DRB1*04	10 (28,6%)	103 (27%)
HLA-DRB1*07	15 (42,9%)	93 (24,4%)
HLA-DRB1*08	3 (8,6%)	24 (6,3%)
HLA-DRB1*09	1 (2,9%)	4 (1%)
HLA-DRB1*10	0	13 (3,4%)
HLA-DRB1*11	8 (22,9%)	91 (23,9%)
HLA-DRB1*12	1 (2,9%)	10 (2,6%)
HLA-DRB1*13	16 (45,7%)	138 (36,2%)
HLA-DRB1*14	1 (2,9%)	18 (4,7%)
HLA-DRB1*15	6 (17,1%)	82 (21,5%)
HLA-DRB1*16	1 (2,9%)	15 (3,9%)
HLA-DRB1*01	7 (20%)	87 (22,8 %)
HLA-DRB1*0101	6 (17,1%)	43 (11,3%)
HLA-DRB1*0102	1 (2,9%)	37 (9,7%)
HLA-DRB1*0103	0	7 (1,8%)

Tabla 4.20 Frecuencias HLA-DRB1 y neumonías recurrentes

#### 4.4.6. Otras Infecciones

Infecciones por otras Micobacterias. En este grupo se incluyó a pacientes con infecciones por otras especies de micobacterias distintas a las tuberculosas tanto pulmonares como extra pulmonares diseminadas. Se hallaron 10 pacientes con infecciones por otras micobacterias diferentes a las tuberculosas.

Toxoplasmosis. Siete pacientes presentaron toxoplasmosis cerebral.

Histoplasmosis. Se encontraron tres pacientes con histoplasmosis diseminada.

Criptococosis. Se describieron cuatro pacientes con criptococosis extra pulmonar.

Leucoencefalopatía multifocal progresiva. Nueve pacientes presentaron esta enfermedad.

En ninguno de estos grupos se observaron asociaciones positivas o negativas que pudieran determinar la presencia de alelos de protección ni de susceptibilidad asociados a las infecciones estudiadas.

Se analizaron las frecuencias de la delección delta 32 de CCR5, la homocigosidad para HLA-B y los epítomos públicos Bw4/Bw6 en las infecciones descritas, no encontrándose asociación positiva o negativa con ninguna de ellas.

#### 4.5. COINFECCIONES Y HLA

Se estudiaron las coinfecciones por virus B y C de la hepatitis (VHB, VHC). Se obtuvieron datos de 1191 pacientes para el VHB y de 1197 para el VHC.

##### 4.5.1. Coinfección VIH/VHB

El total de pacientes coinfectados (infección actual o pasada) fue de 435. La distribución según origen y las frecuencias de los alelos HLA-B y HLA-DRB1 se muestran en las **tablas 4.21, 4.22 y 4.23**.

	España	Europa /EEUU	África	Sur América	Asia	Total
<b>SI</b>	281 (33,7%)	76 (39,8%)	41 (57,7%)	36 (39,6%)	1 (20,0%)	435 (36,5%)
<b>NO</b>	552 (66,3%)	115 (60,2%)	30 (42,3%)	55 (60,4%)	4 (80,0%)	756 (63,5%)
<b>Total</b>	833	191	71	91	5	1191

**Tabla 4.21. Distribución según origen en pacientes con coinfección VIH-VHB**

Alelo B	VHB		Alelo B	VHB	
	SI 2n=870	NO 2n=1512		SI 2n=870	NO 2n=1512
HLA-B*07	60 (13,8%)	91 (12%)	HLA-B*48	1 (0,2%)	2 (0,3%)
HLA-B*08	59 (13,6%)	91 (12%)	HLA-B*49	25 (5,7%)	33 (4,4%)
HLA-B*13	11 (2,5%)	22 (2,9%)	HLA-B*50	23 (5,3%)	40 (5,3%)
HLA-B*14	53 (12,2%)	94 (12,4%)	HLA-B*51	54 (12,4%)	116 (15,3%)
HLA-B*15	57 (13,1%)	86 (11,4%)	HLA-B*52	7 (1,6%)	22 (2,9%)
HLA-B*18	40 (9,2%)	84 (11,1%)	HLA-B*53	26 (6%)	35 (4,6%)
HLA-B*27	35 (8%)	35 (4,6%)	HLA-B*55	12 (2,8%)	16 (2,1%)
HLA-B*35	78 (17,9%)	173 (22,9%)	HLA-B*56	13 (3%)	12 (1,6%)
HLA-B*37	7 (1,6%)	24 (3,2%)	HLA-B*58	19 (4,4%)	31 (4,1%)
HLA-B*38	18 (4,1%)	50 (6,6%)	HLA-B*67	1 (0,2%)	0
HLA-B*39	24 (5,5%)	39 (5,2%)	HLA-B*78	1 (0,2%)	1 (0,1%)
HLA-B*40	40 (9,2%)	79 (10,4%)	HLA-B*81	1 (0,2%)	1 (0,1%)
HLA-B*41	16 (3,7%)	18 (2,4%)	HLA-B*57	25 (5,7%)	49 (6,4%)
HLA-B*42	9 (2,1%)	14 (1,9%)			
HLA-B*44	135 (31%)	225 (29,8%)	HLA-B*57:01	19 (4,4%)	40 (5,3%)
HLA-B*45	18 (4,1%)	21 (2,8%)	HLA-B*57:02	1 (0,2%)	4 (0,5%)
HLA-B*46	0	1 (0,1%)	HLA-B*57:03	5 (1,1%)	4 (0,5%)
HLA-B*47	2 (0,5%)	6 (0,8%)	HLA-B*57:04	0	1 (0,1%)

**Tabla 4.22. Frecuencias de los alelos HLA-B en coinfección VIH-VHB**



Alelo DRB1	VHB	
	SI 2n=722	NO 2n=1216
HLA-DRB1*03	90 (24,9%)	135 (22,2 %)
HLA-DRB1*04	94 (26%)	154 (25,3%)
HLA-DRB1*07	101 (28%)	164 (27%)
HLA-DRB1*08	26 (7,2%)	35 (5,8%)
HLA-DRB1*09	8 (2,2%)	14 (2,3%)
HLA-DRB1*10	11 (3%)	18 (3%)
HLA-DRB1*11	87 (24,1%)	125 (20,6%)
HLA-DRB1*12	9 (2,5%)	14 (2,3%)
HLA-DRB1*13	116 (32,1%)	232 (38,2%)
HLA-DRB1*14	20 (5,5%)	33 (5,4%)
HLA-DRB1*15	73 (20,2%)	115 (18,9%)
HLA-DRB1*16	20 (5,5%)	26 (4,3%)
HLA-DRB1*01	67 (18,5%)	151 (24,8%)
HLA-DRB1*01:01	34 (9,4%)	86 (14,1%)
HLA-DRB1*01:02	29 (8%)	50 (8,2%)
HLA-DRB1*01:03	4 (1,1%)	15 (2,5%)

**Tabla 4.23. Frecuencias de los alelos HLA-DRB1 en coinfección VIH-VHB.**

No se encontraron diferencias significativas comparando las frecuencias de HLA-B y HLA-DRB1 de este grupo con las del total de pacientes VIH-1 y con las del grupo control. Sí se aprecia que la coinfección VIH-VHB es más frecuente en el grupo de pacientes de origen africano que en el resto de grupos.

#### 4.5.2. Coinfección VIH/VHC

El total de pacientes coinfectados fue de 168. La distribución según origen y las frecuencias de los alelos HLA-B y DRB1 se muestran en las **tablas 4.24, 4.25 y 4.26.**

	España	Europa/ EEUU	África	Sur América	Asia	Total
<b>VHC</b>						
SI	138 (16,5%)	24 (12,5%)	3 (4,2%)	2 (2,2%)	1 (20%)	168 (14%)
NO	700 (83,5%)	168 (87,5%)	68 (95,8%)	89 (97,8%)	4 (80%)	1029 (86%)
Total	838	192	71	91	5	1197

**Tabla 4.24. Distribución según origen en pacientes con coinfección VIH-VHC**

Alelo B	VHC		Alelo B	VHC	
	SI 2n=336	NO 2n=2058		SI 2n=336	NO 2n=2058
HLA-B*07	23 (13,7%)	127 (12,3%)	HLA-B*48	0	3 (0,3%)
HLA-B*08	18 (10,7%)	132 (12,8%)	HLA-B*49	8 (4,8%)	49 (4,8%)
HLA-B*13	3 (1,8%)	30 (2,9%)	HLA-B*50	8 (4,8%)	55 (5,3%)
HLA-B*14	19 (11,3%)	130 (12,6%)	HLA-B*51	21 (12,5%)	155 (15,1%)
HLA-B*15	14 (8,3%)	130 (12,6%)	HLA-B*52	9 (5,4%)	21 (2%)
HLA-B*18	21 (12,5%)	103 (10%)	HLA-B*53	5 (3%)	56 (5,4%)
HLA-B*27	17 (10,1%)	52 (5,1%)	HLA-B*55	2 (1,2%)	27 (2,6%)
HLA-B*35	37 (22%)	216 (21%)	HLA-B*56	8 (4,8%)	17 (1,7%)
HLA-B*37	1 (0,6%)	30 (2,9%)	HLA-B*58	6 (3,6%)	48 (4,7%)
HLA-B*38	15 (8,9%)	53 (5,2%)	HLA-B*67	0	0 (0,1%)
HLA-B*39	7 (4,2%)	55 (5,3%)	HLA-B*78	0	2 (0,2%)
HLA-B*40	15 (8,9%)	103 (10%)	HLA-B*81	0	2 (0,2%)
HLA-B*41	8 (4,8%)	25 (2,4%)	HLA-B*57	9 (5,4%)	67 (6,5%)
HLA-B*42	2 (1,2%)	21 (2%)			
HLA-B*44	53 (31,5%)	307 (29,8%)	HLA-B*57:01	7 (4,2%)	54 (5,2%)
HLA-B*45	6 (3,6%)	32 (3,1%)	HLA-B*57:02	2 (1,2%)	3 (0,3%)
HLA-B*46	0	1 (0,1%)	HLA-B*57:03	0	9 (0,9%)
HLA-B*47	0	8 (0,8%)	HLA-B*57:04	0	1 (0,1%)

**Tabla 4.25. Frecuencias de los alelos HLA-B en coinfección VIH-VHC**

Alelo DRB1	VHC	
	SI 2n=286	NO 2n=1654
HLA-DRB1*03	38 (26,6%)	187 (22,6 %)
HLA-DRB1*04	38 (26,6%)	208 (25,2%)
HLA-DRB1*07	33 (23,1%)	231 (27,9%)
HLA-DRB1*08	9 (6,3%)	53 (6,4%)
HLA-DRB1*09	2 (1,4 %)	20 (2,4%)
HLA-DRB1*10	5 (3,5%)	25 (3%)
HLA-DRB1*11	34 (23,8%)	180 (21,8%)
HLA-DRB1*12	5 (3,5%)	19 (2,3%)
HLA-DRB1*13	47 (32,9%)	303 (36,6%)
HLA-DRB1*14	8 (5,6%)	45 (5,4%)
HLA-DRB1*15	29 (20,3%)	157 (19%)
HLA-DRB1*16	10 (7%)	36 (4,4%)
HLA-DRB1*01	28 (19,6%)	190 (23%)
HLA-DRB1*01:01	16 (11,2%)	103 (12,5%)
HLA-DRB1*01:02	8 (5,6%)	72 (8,7%)
HLA-DRB1*01:03	4 (2,8%)	15 (1,8%)

**Tabla 4.26. Frecuencias de los alelos HLA-DRB1 en coinfección VIH-VHC**

Se encontró una frecuencia aumentada del alelo HLA-B\*27 en el grupo de coinfectados (10,1% vs 5,1%;  $p=0,0090$ ,  $pc=ns$ ) frente al grupo total de infectados por VIH-1 (10,1% vs 5,8%;  $p=0,0000005$ ,  $pc=0,0015$ ;  $OR=3,7$ ) y frente al grupo control (10,1% vs 4,2%;  $p=0,0003$ ,  $pc=0,009$ ;  $OR=5,3$ ). Los alelos HLA-B\*52 (5,4% vs 2%;  $p=0,034$ ,  $pc=ns$ ) y HLA-B\*56 (4,8% vs 1,7%;  $p=0,033$ ,  $pc=ns$ ) también presentan una frecuencia aumentada en el grupo coinfectado, aunque la significación estadística se pierde tras corregir por el número de alelos en ambos casos. No se apreciaron diferencias significativas entre las frecuencias de HLA-DRB1.

#### 4.5.3. Coinfección VIH/VHB//VHC

Se encontraron 85 pacientes coinfectados con los tres virus. La distribución por géneros difiere de la encontrada en el total de pacientes, estando aumentado el porcentaje de mujeres (24,7% vs 15,3%) frente al de hombres (75,3% vs 84,7%). La distribución según el origen se muestra en la **tabla 4.27**. Las frecuencias de HLA-B y HLA-DRB1 se muestran en las **tablas 4.28 y 4.29**.

Origen	n=85
España	71 (83%)
Europa/USA	13 (15%)
África	1 (1,2%)

Tabla 4.27. Distribución según origen en pacientes con coinfección VIH-VHB-VHC

Alelo B	VIH+VHB+VHC				
	SI 2n=170	NO 2n=1356	Alelo B	SI 2n=170	NO 2n=1356
HLA-B*07	16 (18,8%)	84 (12,4%)	HLA-B*45	3 (3,5%)	17 (2,5%)
HLA-B*08	9 (10,6%)	83 (12,2%)	HLA-B*49	3 (3,5%)	27 (4%)
HLA-B*13	3 (3,5%)	22 (1,6%)	HLA-B*50	6 (7,1%)	38 (5,6%)
HLA-B*14	11 (12,9%)	87 (12,8%)	HLA-B*51	10 (11,8%)	109 (16,1%)
HLA-B*15	8 (9,4%)	80 (11,8%)	HLA-B*52	3 (3,5%)	17 (2,5%)
HLA-B*18	10 (11,8%)	74 (10,9%)	HLA-B*55	1 (1,2%)	15 (2,2%)
HLA-B*27	11 (12,9%)	29 (4,3%)	HLA-B*56	5 (5,9%)	9 (1,3%)
HLA-B*35	18 (21,2%)	156 (23%)	HLA-B*58	1 (1,2%)	28 (4,1%)
HLA-B*37	1 (1,2%)	24 (3,5%)	HLA-B*78	0	1 (0,1%)
HLA-B*38	7 (8,2%)	42 (6,2%)	HLA-B*81	0	1 (0,1%)
HLA-B*39	4 (4,7%)	36 (5,3%)	HLA-B*57	1 (1,2%)	42 (6,2%)
HLA-B*40	8 (9,4%)	71 (10,5%)	HLA-B*57:01	1 (1,2%)	35 (5,2%)
HLA-B*41	44 (4,7%)	13 (1,9%)	HLA-B*57:02	0	2 (0,3%)
HLA-B*42	1 (1,2%)	13 (1,9%)	HLA-B*57:03	0	4 (0,6%)
HLA-B*44	26 (30,6%)	199 (29,4%)	HLA-B*57:04	0	1 (0,1%)

Tabla 4.28. Frecuencias de los alelos HLA-B en coinfección VIH-VHB-VHC

La frecuencia de HLA-B\*27 se encuentra elevada significativamente en comparación con el grupo de pacientes sin coinfección alguna (12,9% vs 4,3%;  $p=0.0060$ ,  $pc=ns$   $OR=3,1$ ) y también en comparación con el grupo control (12,9% vs 4,1%;  $p=0,022$ ,  $pc=ns$ ), aunque la significación en ambos casos se pierde la realizar la corrección por el número de alelos. No se aprecian diferencias significativas en las frecuencias de HLA-DRB1 de estos pacientes frente al resto del grupo de infectados por VIH-1, ni frente a los controles.

Alelo DRB1	VIH+VHB+VHC	
	SI 2n=138	NO 2n=1074
HLA-DRB1*03	19 (27,5%)	117 (21,8%)
HLA-DRB1*04	19 (27,5%)	133 (24,8%)
HLA-DRB1*07	18 (26,1%)	149 (27,7%)
HLA-DRB1*08	4 (5,8%)	31 (5,8%)
HLA-DRB1*09	1 (1,4%)	13 (2,4%)
HLA-DRB1*10	3 (4,3%)	17 (3,2%)
HLA-DRB1*11	17 (24,6%)	111 (20,7%)
HLA-DRB1*12	2 (2,9%)	12 (2,2%)
HLA-DRB1*13	22 (31,9%)	209 (38,9%)
HLA-DRB1*14	3 (4,3%)	28 (5,2%)
HLA-DRB1*15	11 (15,9%)	97 (18,1%)
HLA-DRB1*16	6 (8,7%)	21 (3,9%)
HLA-DRB1*01	13 (18,8%)	136 (25,3)
HLA-DRB1*01:01	6 (8,7%)	75 (14%)
HLA-DRB1*01:02	6 (8,7%)	49 (9,1%)
HLA-DRB1*01:03	1 (1,4%)	12 (2,2%)

Tabla 4.29. Frecuencias de los alelos HLA-DRB1 en coinfección VIH-VHB-VHC

#### 4.6. SARCOMA DE KAPOSÍ Y HLA

En el grupo de pacientes estudiados a lo largo de su evolución se diagnosticó a 36 pacientes de Sarcoma de Kaposi en diferentes localizaciones. En las **tablas 4.30** y **4.31** se muestran las frecuencias de HLA-B y HLA-DRB1. No se encuentran asociaciones positivas o negativas con respecto al HLA-B. En el caso de HLA-DRB1 la frecuencia de HLA-DRB1\*04 está disminuida en pacientes que presentaron Sarcoma de Kaposi en algún momento de su evolución (6,9% vs 28,7%,  $p=0,020$ ,  $pc=ns$ ) aunque la significación se pierde al someterse a corrección.

Alelo B	KAPOSI		Alelo B	KAPOSI	
	SI 2n=72	NO 2n=894		SI 2n=72	NO 2n=894
HLA-B*07	6 (16,7%)	55 (12,3%)	HLA-B*48	0	1 (0,2%)
HLA-B*08	4 (11,1%)	48 (10,7%)	HLA-B*47	0	4 (0,9%)
HLA-B*13	0	15 (3,4%)	HLA-B*48	0	1 (0,2%)
HLA-B*14	3 (8,3%)	60 (13,4%)	HLA-B*49	3 (8,3%)	19 (4,3%)
HLA-B*15	2 (5,6%)	52 (11,6%)	HLA-B*50	3 (8,3%)	15 (3,4%)
HLA-B*18	3 (8,3%)	46 (10,3%)	HLA-B*51	6 (16,7%)	77 (17,2%)
HLA-B*27	3 (8,3%)	31 (6,9%)	HLA-B*52	0	15 (3,4%)
HLA-B*35	8 (22,2%)	105 (23,5%)	HLA-B*53	1 (2,8%)	24 (5,4%)
HLA-B*37	2 (5,6%)	8 (1,8%)	HLA-B*55	2 (5,6%)	5 (1,1%)
HLA-B*38	3 (8,3%)	26 (5,8%)	HLA-B*56	1 (2,8%)	8 (1,8%)
HLA-B*39	1 (2,8%)	16 (3,6%)	HLA-B*58	2 (5,6%)	21 (4,7%)
HLA-B*40	3 (8,3%)	44 (9,8%)	HLA-B*78	0	1 (0,2%)
HLA-B*41	1 (1,9%)	10 (2,3%)	HLA-B*81	0	1 (0,2%)
HLA-B*42	1 (1,9%)	10 (2,2%)	HLA-B*57	3 (7,5%)	28 (6,3%)
HLA-B*44	11 (30,6%)	134 (30%)	HLA-B*57:01	2 (5,6%)	22 (4,9%)
HLA-B*45	1 (2,8%)	13 (2,9%)	HLA-B*57:02	1 (1,9%)	2 (0,5%)
HLA-B*46	0	1 (0,2%)	HLA-B*57:03	0	3 (0,7%)
HLA-B*47	0	4 (0,9%)	HLA-B*57:04	0	1 (0,2%)

Tabla 4.30. Frecuencias HLA-B en Sarcoma de Kaposi

Alelo DRB1	KAPOSI	
	SI 2n=58	NO 2n=774
HLA-DRB1*03	6 (20,7%)	79 (20,4 %)
HLA-DRB1*04	2 (6,9%)	111 (28,7%)
HLA-DRB1*07	11 (37,9%)	97 (25,1%)
HLA-DRB1*08	2 (6,9%)	25 (6,5%)
HLA-DRB1*09	1 (3,4%)	4 (1%)
HLA-DRB1*10	2 (6,9%)	11 (2,8%)
HLA-DRB1*11	5 (17,2%)	94 (24,3%)
HLA-DRB1*12	0	11 (2,8%)
HLA-DRB1*13	12 (41,4%)	142 (36,7%)
HLA-DRB1*14	1 (3,4%)	18 (4,7%)
HLA-DRB1*15	5 (17,2%)	83 (21,4%)
HLA-DRB1*16	3 (10,3%)	13 (3,4%)
HLA-DRB1*01	8 (27,5%)	86 (22,2%)
HLA-DRB1*01:01	5 (17,2%)	44 (11,4%)
HLA-DRB1*01:02	3 (10,3%)	35 (9%)
HLA-DRB1*01:03	0	7 (1,8%)

Tabla 4.31. Frecuencias HLA-DRB1 en Sarcoma de Kaposi

Se analizaron las frecuencias de la delección delta 32 de CCR5, la homocigosidad para HLA-B y los epítomos públicos Bw4/Bw6 en los pacientes con sarcoma de Kaposi no encontrándose asociación positiva o negativa.

#### 4.7. EVOLUCIÓN DEL RECUENTO DE LINFOCITOS T CD4 y HLA

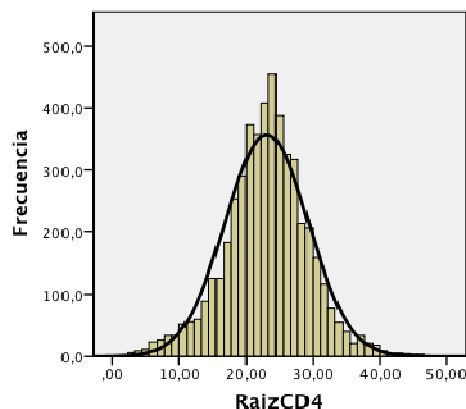
Para el estudio de la posible influencia del HLA en la evolución de los recuentos de linfocitos T CD4, se seleccionaron los pacientes que habían permanecido asintomáticos y no habían recibido tratamiento desde el momento del diagnóstico hasta el momento de corte que supuso la revisión de sus historias clínicas y la realización de este trabajo. A estos pacientes los denominamos como “asintomáticos sin tratamiento”.

Del total de 793 pacientes de los que obtuvimos datos clínicos encontramos un total de 311 que habían permanecido asintomáticos. Dentro de este grupo seleccionamos los que en ningún momento habían recibido tratamiento antirretroviral. La cifra final de este grupo fue de 41 pacientes. Todos ellos tenían tres o más determinaciones de linfocitos T CD4, y como mínimo una determinación al año durante su evolución.

En este grupo se analizaron las cifra de linfocitos T CD4 y su posible relación con los diferentes alelos HLA-B y HLA-DRB1. Para cada paciente se definió la posesión o no, de cada uno de los alelos HLA-B y DRB1. A su vez se estudió la evolución de la cifra de linfocitos T CD4 de acuerdo a la homocigosidad, heterocigosidad en HLA-B y subgrupos Bw4/Bw6 definidos según la secuencia de residuos de aminoácidos entre las posiciones 77 y 83 de las proteínas de HLA-B (epítomos supertípicos o públicos: Bw4 homocigotos, Bw6 homocigotos y Bw4/Bw6 heterocigotos).

Para el análisis de la evolución en el tiempo de los recuentos de linfocitos T CD4 se realizó una transformación (raíz cuadrada de CD4) para normalizar la distribución de la muestra (Public Health England, 2008), ya que tras la realización de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, la distribución se mostraba en el límite de la normalidad ( $p=0,065$ ) y se prefirió realizar la transformación para unos resultados de mayor garantía estadística ( $p=0,435$ ) (**figura 4.3**). La evolución de los recuentos en el tiempo se realizó mediante una regresión lineal univariante. El valor de la pendiente se utilizó como indicativo del incremento o descenso de los valores de

linfocitos T CD4, mientras que el valor de la  $p$  indica la significación estadística de las variaciones. Se efectuaron tantas regresiones como alelos presentaban los pacientes. Se obtuvieron valores de pendientes y valores de significación.

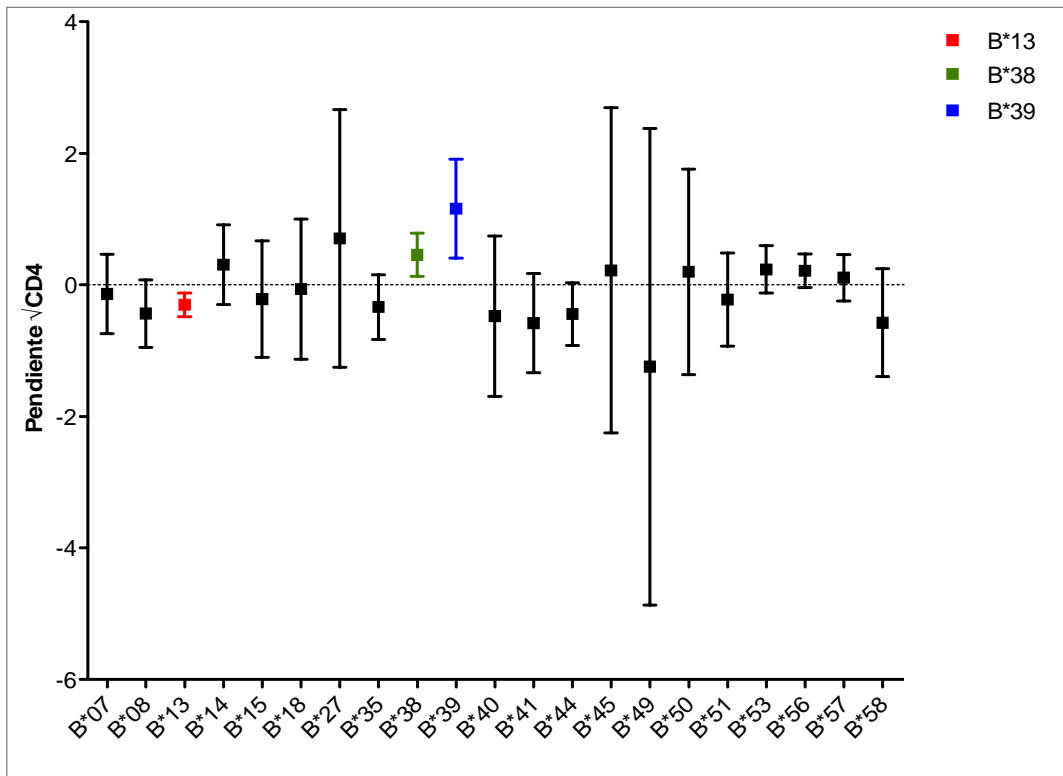


**Figura 4.3 Distribución de la muestra tras la corrección**

Valores de pendientes positivos significan elevaciones, que pueden ser significativas o no a lo largo del tiempo dependiendo de la  $p$  obtenida. Valores de pendiente cercanos a cero nos indican mantenimiento sin aumentos ni disminuciones a lo largo del tiempo y valores de pendiente negativos indican disminuciones de los valores a lo largo del tiempo. En **la figura 4.4** se muestran las pendientes de evolución de linfocitos T CD4 según el tipaje HLA-B.

Los pacientes que poseen los alelos HLA-B\*07, B\*08, B\*13, B15, B\*18, B\*35, B\*40, B\*41, B\*44, B\*49, B\*51 y B\*58 presentaron pendientes negativas (disminuciones a lo largo del tiempo). En los casos de B\*18 y B\*15 presentaron una pendiente mínima que se aproxima a cero, indicando un mantenimiento de los valores. De este grupo “descendente” tan sólo el alelo B\*13 presentó una disminución significativa ( $p=0,003$ ).



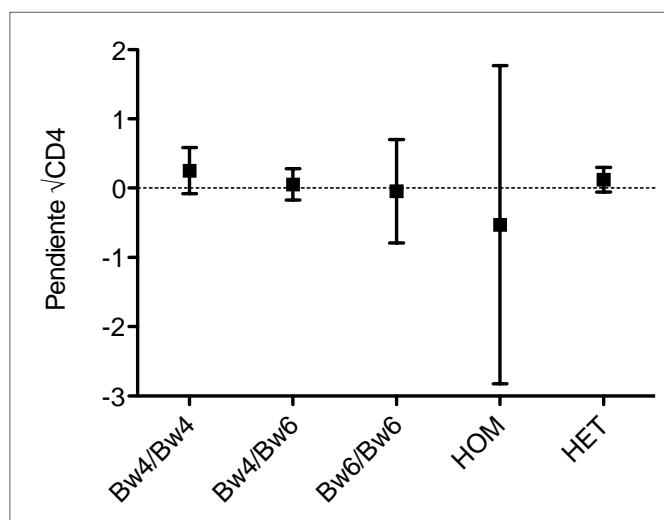


**Figura 4.4. Pendiente estimada de la evolución del recuento de linfocitos T CD4 para los pacientes con los distintos alelos HLA-B.**

El alelo B\*42 (media pendiente =-0,950) se ha suprimido de la figura debido a que en su evolución solo se poseen datos de recuento de linfocitos T CD4 durante un año.

Los pacientes con alelos B\*14, B\*27, B\*38, B\*39, B\*45, B\*50, B\*53, B\*56 y B\*57 presentaron pendientes positivas, en los casos de B\*57 y B\*56 la pendiente era próxima a cero. De este grupo con pendiente ascendente, los pacientes con los alelos B\*38 y B\*39 presentaban aumentos significativos ( $p=0,008$  y  $p=0,006$ ).

En la **figura 4.5** muestran las pendientes de evolución de linfocitos T CD4 según los grupos Bw4/Bw6 y la homo/heterocigosidad en HLA-B.



**Figura 4.5. Pendiente estimada de la evolución del recuento de linfocitos T CD4 para los pacientes según los grupos Bw4/Bw6 y Homocigotos/ Heterocigotos para HLA-B**

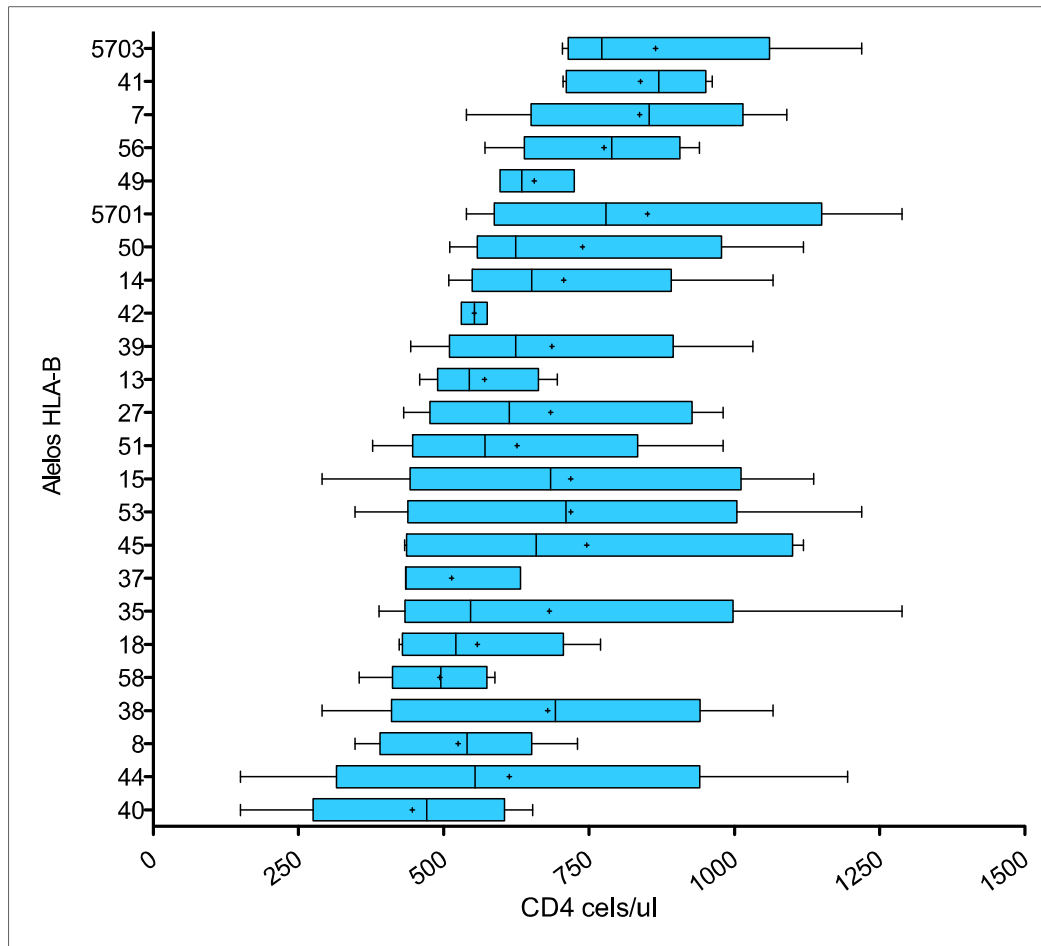
Los pacientes Bw4/Bw4 presentan una pendiente positiva (ascendente) mientras que los Bw4/Bw6 la pendiente es positiva pero prácticamente igual a cero y los Bw6/Bw6 pendiente negativa (descendente) pero también muy próxima a cero. Se analizaron los pacientes homocigotos/heterocigotos para HLA-B, apreciándose una pendiente negativa en el caso de los homocigotos, mientras que esta es positiva muy cercana a cero en los heterocigotos. En ninguno de estos casos los ascensos/disminuciones fueron significativos.

También se obtuvieron datos del total de pacientes de los que obtuvimos recuentos de linfocitos T CD4 (siempre incluyendo los que tenían más de tres determinaciones y al menos una determinación al año).

Se realizó un análisis de la media de los recuentos de linfocitos T CD4 durante el tiempo del que poseemos datos de evolución, según sus tipajes HLA-B y HLA-DRB1. Se dividió el estudio entre el grupo de los asintomáticos sin tratamiento y el resto de pacientes.

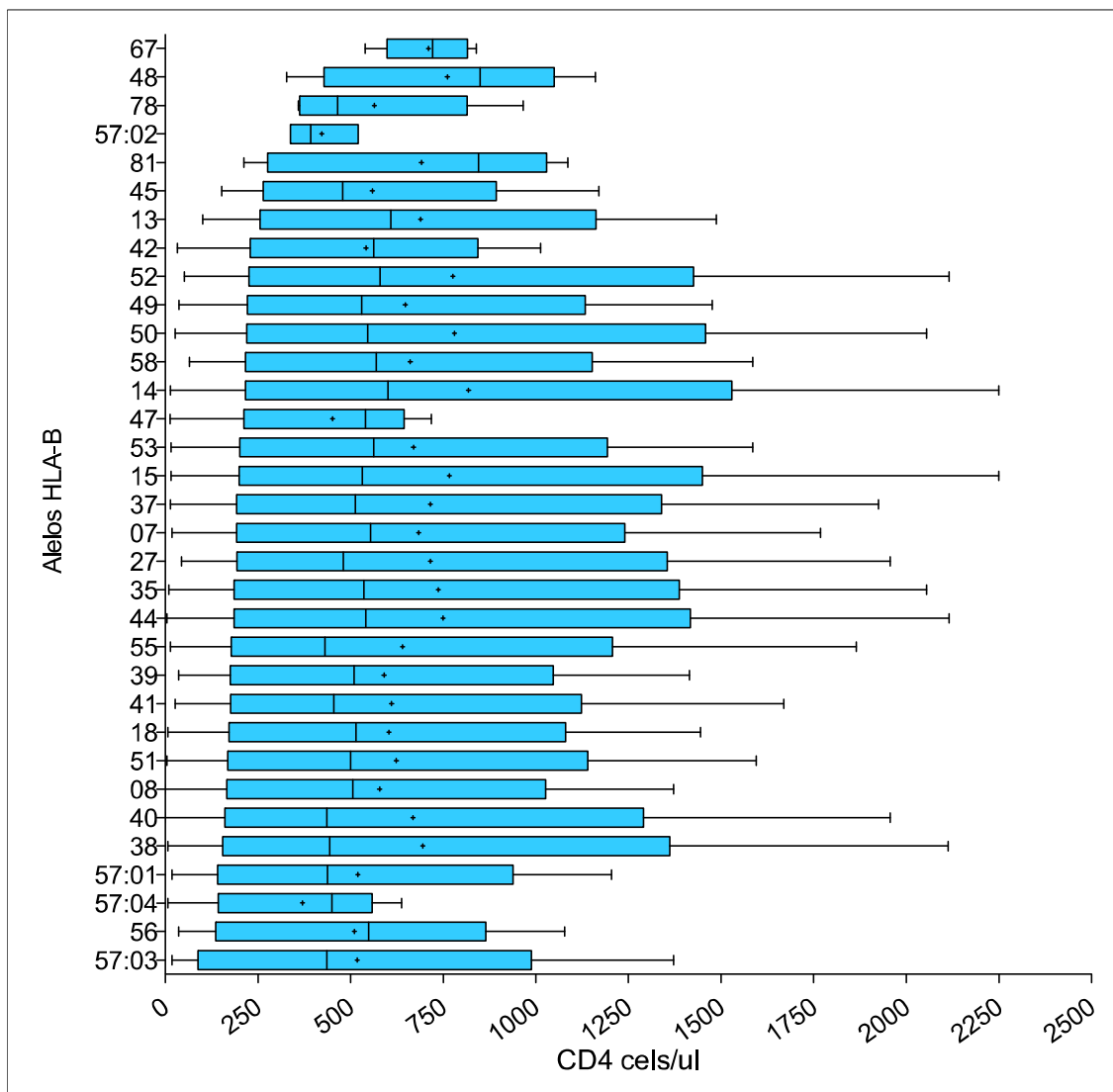
Los pacientes del grupo de asintomáticos sin tratamiento que presentaron una media de recuentos más elevados, fueron aquellos portadores de los alelos HLA-B\*57 (B\*57:03 y B\*57:01) y B\*07. Por el contrario los que presentaron medias más disminuidas fueron los portadores de los alelos HLA-B\*40 y B\*58.

Con respecto al grupo restante de pacientes, los portadores de los alelos HLA-B\*14, B\*50 y B\*48 tenían las medias más elevadas y los portadores de B\*57:02 y B\*57:04 las más disminuidas (En las **figuras 4.6** y **4.7** se muestran los diagramas *Box and whiskers* con los datos).



**Figura 4.6. Recuentos de linfocitos T CD4 en pacientes asintomáticos sin tratamiento según su HLA-B**

El tamaño de la caja indica el recorrido intercuartílico, la línea media vertical indica la mediana, el símbolo “+” indica el valor de la media, las líneas exteriores indican los valores máximos y mínimos.



**Figura 4.7. Recuentos de linfocitos T CD4 en no pertenecientes al grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento según su HLA-B**

El tamaño de la caja indica el recorrido intercuartílico, la línea media vertical indica la mediana, el símbolo "+" indica el valor de la media, las líneas exteriores indican los valores máximos y mínimos.

Las frecuencias alélicas del grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento se muestran en la **tabla 4.32** y en la **tabla 4.33** las del resto de pacientes (n=551).

Pacientes asintomáticos sin tratamiento			
Alelo B	2n=82	Alelo B	2n=82
HLA-B*07	4 (9,8%)	HLA-B*42	1 (2,4%)
HLA-B*08	3 (7,3%)	HLA-B*44	19 (46,3%)
HLA-B*13	2 (4,9%)	HLA-B*45	2 (4,9%)
HLA-B*14	4 (9,8%)	HLA-B*49	1 (2,4%)
HLA-B*15	5 (12,2%)	HLA-B*50	2 (4,9%)
HLA-B*18	3 (7,3%)	HLA-B*51	6 (14,6%)
HLA-B*27	2 (4,9%)	HLA-B*53	5 (12,2%)
HLA-B*35	4 (9,8%)	HLA-B*56	2 (4,9%)
HLA-B*37	1 (2,4%)	HLA-B*58	1 (2,4%)
HLA-B*38	5 (12,2%)	HLA-B*57	4 (9,7%)
HLA-B*39	2 (4,9%)		
HLA-B*40	3 (7,3%)	HLA-B*57:01	3 (7,3%)
HLA-B*41	1 (2,4%)	HLA-B*57:03	1 (2,4%)

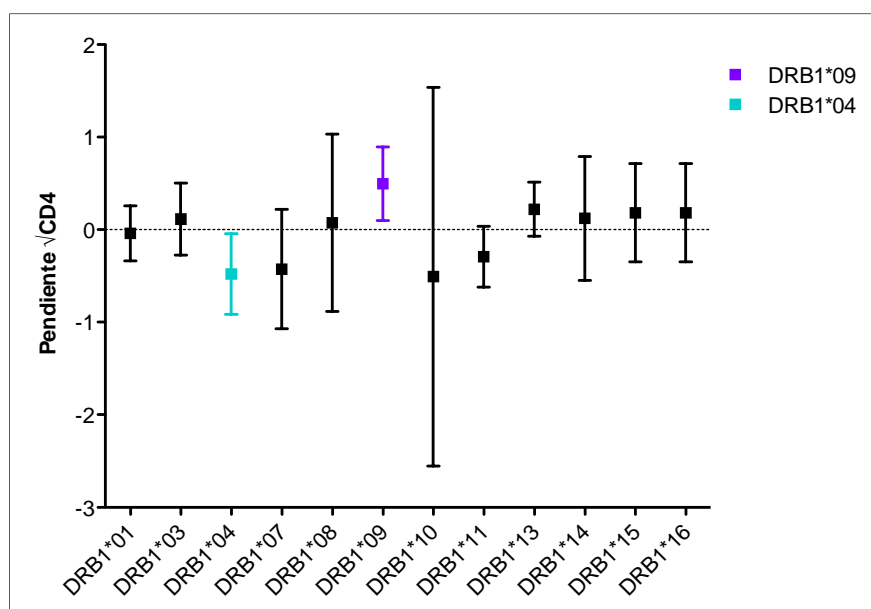
**Tabla 4.32. Frecuencias de alelos HLA-B en grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento**

Resto de pacientes			
Alelos B	2n=1102	Alelos B	2n= 1102
HLA-B*07	76 (13,8%)	HLA-B*48	1 (0,2%)
HLA-B*08	60 (10,9%)	HLA-B*49	31 (5,6%)
HLA-B*13	15 (2,7%)	HLA-B*50	29 (5,3%)
HLA-B*14	69 (12,5%)	HLA-B*51	89 (16,2%)
HLA-B*15	65 (11,8%)	HLA-B*52	14 (2,5%)
HLA-B*18	58 (10,5%)	HLA-B*53	26 (4,7%)
HLA-B*27	37 (6,7%)	HLA-B*55	11 (2,0%)
HLA-B*35	112 (20,3%)	HLA-B*56	10 (1,8%)
HLA-B*37	16 (2,9%)	HLA-B*58	25 (4,5%)
HLA-B*38	31 (5,6%)	HLA-B*67	1 (0,2%)
HLA-B*39	26 (4,7%)	HLA-B*78	2 (0,4%)
HLA-B*40	58 (10,5%)	HLA-B*81	2 (0,4%)
HLA-B*41	16 (2,9%)	HLA-B*57	26 (4,7%)
HLA-B*42	12 (2,2%)	HLA-B*57:01	20 (3,6%)
HLA-B*44	164 (29,8%)	HLA-B*57:02	1 (0,2%)
HLA-B*45	18 (3,3%)	HLA-B*57:03	4 (0,7%)
HLA-B*47	2 (0,4%)	HLA-B*57:04	1 (0,2%)

**Tabla 4.33. Frecuencias de alelos HLA-B en grupo de resto de pacientes**

La frecuencia del alelo B\*44 es mayor en el grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento (46% vs 29,8%,  $p=0,045$ ;  $pc=ns$ ). También se encuentra una mayor frecuencia de HLA-B\*53 (12,2% vs 4,7%) pero sin significación estadística.

Con respecto a los alelos de clase II HLA-DRB1 se aprecian diferencias al analizar las pendientes en pacientes que portan el alelo HLA-DRB1\*09, en los que la pendiente es ascendente, siendo este aumento significativo ( $p=0,020$ ). En los pacientes que poseen el alelo HLA-DRB1\*04 la pendiente es negativa y la disminución también fue significativa ( $p= 0,032$ ). Con respecto a los portadores de resto de alelos existen pendientes tanto positivas como negativas muy próximas a cero (**figura 4.8**).

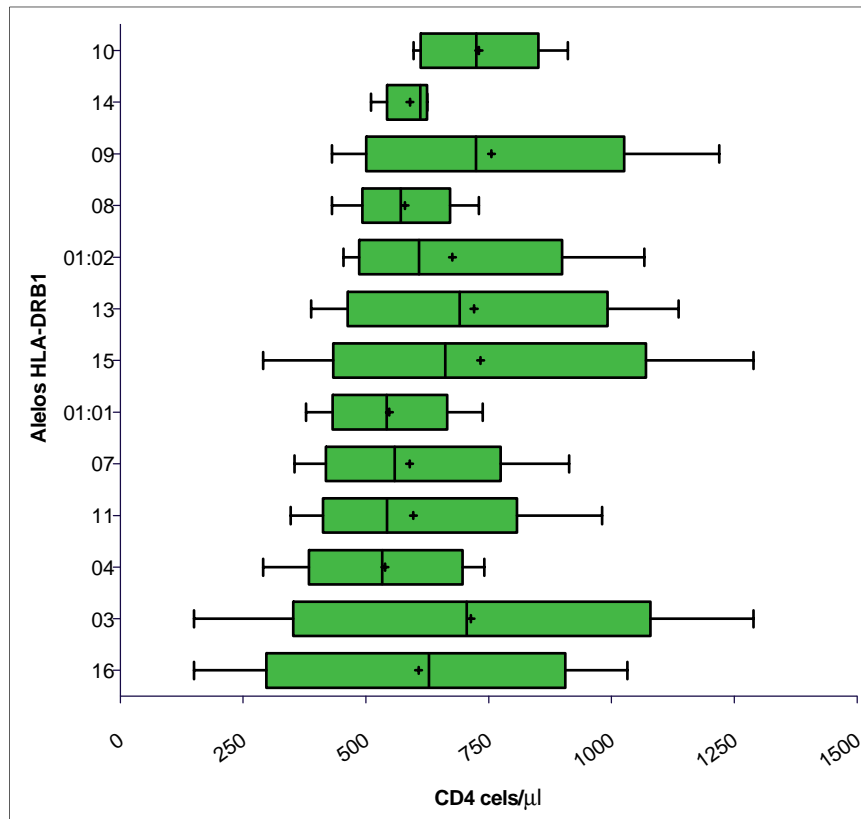


**Figura 4.8. Pendiente estimada de la evolución del recuento de linfocitos T CD4 para los pacientes con los distintos alelos HLA-DRB1**

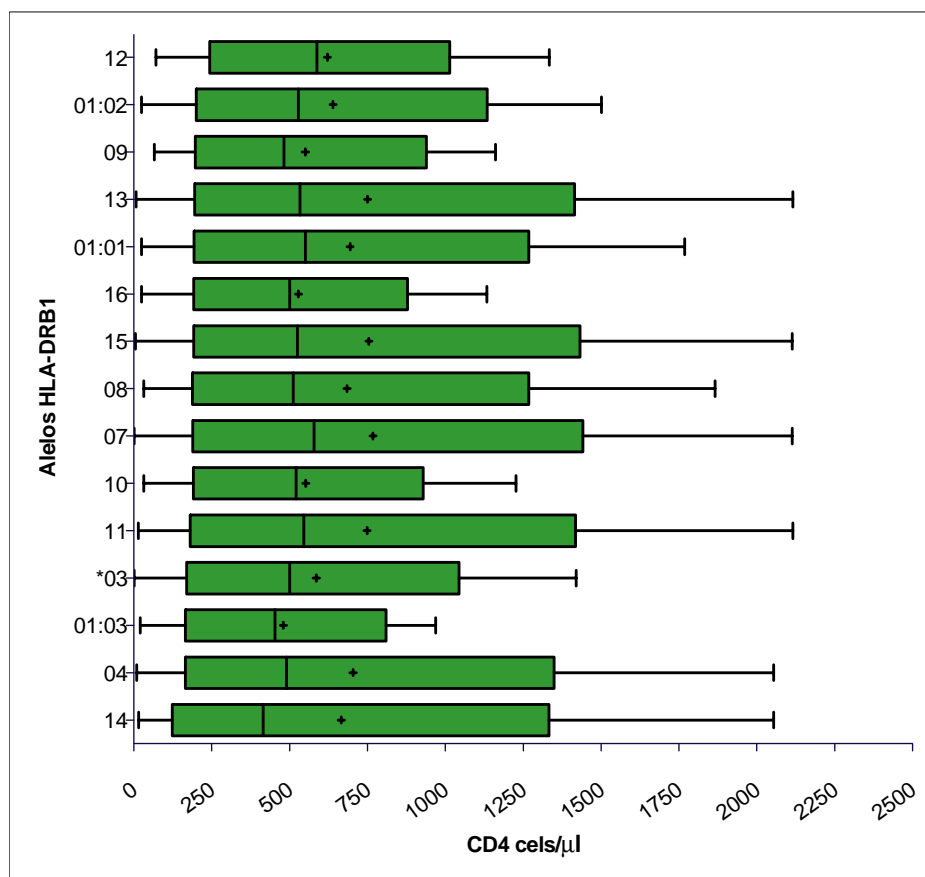
En el análisis de los recuentos de linfocitos T CD4 y HLA-DRB1, encontramos que en el grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento los pacientes con una media de CD4 más elevada fueron aquellos portadores de los alelos HLA-DRB1\*15 y DRB1\*09. Por el contrario los que presentaron medias menores fueron los portadores de los alelos HLA- DRB1\*04, DRB1\*01:01 y DRB1\*08.

Con respecto al grupo restante de pacientes, los portadores de los alelos HLA-DRB1\*07, DRB1\*11 y DRB1\*13 tenían las medias de CD4 más elevadas y los

portadores de HLA-DRB1\*01:03, DRB1\*16 y B\*57:04 las más disminuidas (en las figuras 4.9 y 4.10 se muestran los diagramas *Box and whiskers* con los datos).



**Figura 4.9. Recuentos de CD4 en pacientes asintomáticos sin tratamiento según su HLA-DRB1.** El tamaño de la caja indica el recorrido intercuartílico, la línea media vertical indica la mediana, el símbolo “+” indica el valor de la media, las líneas exteriores indican los valores máximos y mínimos.



**Figura 4.10. Recuentos de CD4 en no pertenecientes al grupo de asintomáticos sin tratamiento según su HLA-DRB1.**

El tamaño de la caja indica el recorrido intercuartílico, la línea media vertical indica la mediana, el símbolo “+” indica el valor de la media, las líneas exteriores indican los valores máximos y mínimos.

Respecto al tipaje HLA-DRB1 en las **tablas 4.34 y 4.35** se muestran las frecuencias alélicas del grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento frente al resto.

La frecuencia de HLA-DRB\*16 se encuentra aumentada en el grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento (15,8% vs 3,5%;  $p=0,0094$ ,  $pc=ns$ ) aunque la significación se pierde al corregir por el número de alelos.



<b>Pacientes asintomáticos sin tratamiento</b>	
<b>Alelos DRB1</b>	<b>2n=76</b>
HLA-DRB1*03	10 (26,3%)
HLA-DRB1*04	7 (18,4%)
HLA-DRB1*07	10 (26,3%)
HLA-DRB1*08	2 (5,3%)
HLA-DRB1*09	2 (5,3%)
HLA-DRB1*10	2 (5,3%)
HLA-DRB1*11	5 (13,2%)
HLA-DRB1*13	15 (39,5%)
HLA-DRB1*14	1 (2,6%)
HLA-DRB1*15	10 (26,3%)
HLA-DRB1*16	6 (15,8%)
HLA-DRB1*01	6 (5,8%)
HLA-DRB1*01:01	4 (10,5%)
HLA-DRB1*01:02	2 (5,3%)

Tabla 4.34. Frecuencias del alelos HLA-B en el grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento

<b>Resto de pacientes</b>	
<b>Alelos DRB1</b>	<b>2n=960</b>
HLA-DRB1*03	110 (22,9%)
HLA-DRB1*04	131 (27,3%)
HLA-DRB1*07	137 (28,5%)
HLA-DRB1*08	30 (6,3%)
HLA-DRB1*09	9 (1,9%)
HLA-DRB1*10	15 (3,1%)
HLA-DRB1*11	108 (22,5%)
HLA-DRB1*12	14 (2,9%)
HLA-DRB1*13	159 (33,1%)
HLA-DRB1*14	23 (4,8%)
HLA-DRB1*15	105 (21,9%)
HLA-DRB1*16	17 (3,5%)
HLA-DRB1*01	102 (21,3%)
HLA-DRB1*01:01	57 (11,9%)
HLA-DRB1*01:02	36 (7,5%)
HLA-DRB1*01:03	9 (1,9%)

Tabla 4.35. Frecuencia de alelos HLA-DRB1 en resto de pacientes

Con respecto a la delección delta 32 del CCR5 el número de pacientes progresores lentos de los que se disponía del genotipo fue tan sólo de 26, siendo 22 WT y cuatro heterocigotos para la mutación delta 32. Este pequeño número impidió poder realizar el análisis de la evolución del recuento de Linfocitos T CD4.

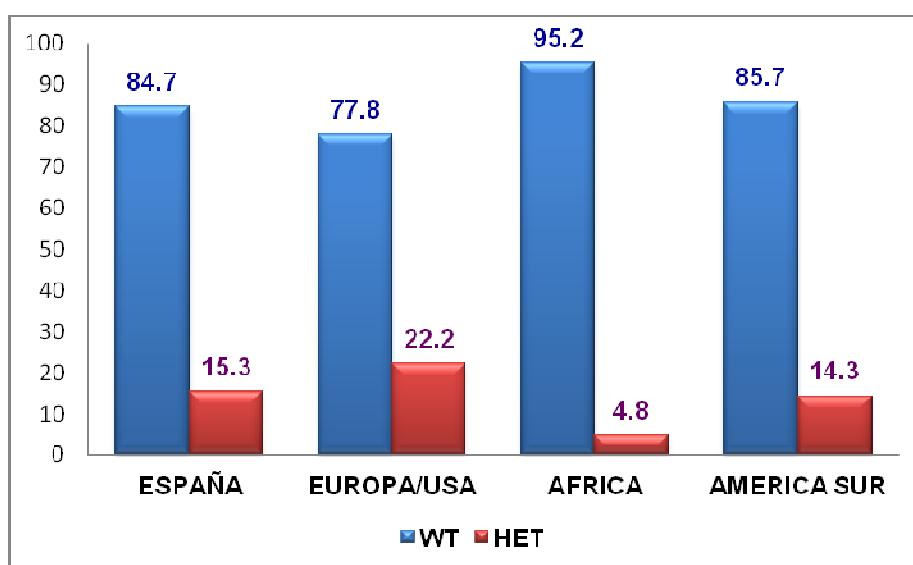
#### 4.8. CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPO CCR5 Δ 32

Las frecuencias del alelo delta 32 en los pacientes estudiados y clasificados según su origen se muestran en la **tabla 4.36** y **figura 4.11**. La frecuencia total de pacientes con el alelo delta 32 fue del 15,4%, aunque no se encontró ningún individuo homocigoto para la mutación.

	España	Europa/USA	África	Sur América	Asia	Total
<b>WT</b>	199 (84,7%)	35 (77,8%)	20 (95,2%)	18 (85,7%)	2 (100%)	274 (84,6%)
<b>HET</b>	36 (15,3%)	10 (22,2%)	1 (4,8%)	3 (14,3%)	0	50 (15,4%)
<b>Total</b>	235	45	21	21	2	324

**Tabla 4.36. Frecuencias de los genotipos CCR5 según el origen de los pacientes**

Las frecuencias del alelo delta 32 dentro del grupo español fueron del 13,9% para canarios (n=195) y del 22,5% para el resto de españoles (n=40).



**Figura 4.11. Distribución de los genotipos CCR5 según el origen de los pacientes**

Se estudiaron las frecuencia de la mutación en relación a las infecciones, coinfecciones y sarcoma de Kaposi no encontrándose ninguna relación significativa.

#### 4.9. HLA-DRB1 y REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD A NEVIRAPINA

Se estudiaron las frecuencias de HLA-B y HLA-DRB1 en pacientes que habían sufrido RHS a NVP.

Se analizaron las frecuencias de HLA-B y DRB1 de los 161 pacientes en los que se conocía su exposición previa a NVP. En 20 de estos pacientes se documentaron reacciones de hipersensibilidad. Existen alelos con frecuencias disminuidas, mostrando una tendencia sin alcanzar significación estadística, como el HLA-B\*15, que no fue encontrado en ninguno de los pacientes con reacción frente a NVP (**Tablas 4.37 y 4.38**).

El alelo DRB1\*01 presentó una frecuencia aumentada en los pacientes que habían presentado reacciones (40% frente a 17,9%,  $p=0,048$ ,  $pc=ns$ ), aunque tras la corrección se pierde la significación estadística.

No se encontraron otras asociaciones positivas ni negativas que indicasen mayores frecuencias en los casos de reacciones de hipersensibilidad. Tampoco se apreciaron asociaciones con los subtipos de reacciones cutáneas y/o sistémicas. Las frecuencias se muestran en las **tablas 4.39 y 4.40**.

Alelo B	Reacción a NVP		Alelo B	Reacción a NVP	
	SI 2n=40	NO 2n=282		SI 2n=40	NO 2n=282
HLA-B*07	4 (20%)	21 (14,9%)	HLA-B*47	0	1 (0,7%)
HLA-B*08	2 (10%)	6 (4,3%)	HLA-B*48	0	0
HLA-B*13	1 (5%)	2 (1,4%)	HLA-B*49	2 (10%)	9 (6,4%)
HLA-B*14	2 (10%)	17 (12,1%)	HLA-B*50	2 (10%)	5 (3,5%)
HLA-B*15	0	14 (9,9%)	HLA-B*51	2 (10%)	24 (17%)
HLA-B*18	2 (10%)	12 (8,5%)	HLA-B*52	0	6 (4,3%)
HLA-B*27	0	10 (7,1%)	HLA-B*53	2 (10%)	5 (3,5%)
HLA-B*35	5 (25%)	39 (27,7%)	HLA-B*55	1 (5%)	5 (3,5%)
HLA-B*37	0	5 (3,5%)	HLA-B*56	1 (5%)	4 (2,8%)
HLA-B*38	2 (10%)	7 (5%)	HLA-B*58	0	4 (2,8%)
HLA-B*39	2 (10%)	5 (3,5%)	HLA-B*78	1 (5%)	0
HLA-B*40	1 (5%)	15 (10,6%)	HLA-B*81	0	2 (1,4%)
HLA-B*41	0	3 (2,1%)	HLA-B*57	0	9 (6,4%)
HLA-B*42	2 (10%)	3 (2,1%)	HLA-B*5701	0	9 (6,4%)
HLA-B*44	6 (30%)	45 (31,9%)	HLA-B*5702	0	0
HLA-B*45	0	4 (2,8%)	HLA-B*5703	0	0
HLA-B*46	0	0	HLA-B*5704	0	0

Tabla 4.37. Frecuencia de los alelos HLA-B en pacientes con y sin reacción a NVP

Alelo B	Reacción a NVP		Alelo B	Reacción a NVP	
	CUTÁNEA 2n=20	DRESS 2n=20		CUTÁNEA 2n=20	DRESS 2n=20
HLA-B*07	2 (20%)	2 (20%)	HLA-B*42	1 (10%)	1 (10%)
HLA-B*08	2 (20%)	0	HLA-B*44	2 (20%)	4 (40%)
HLA-B*13	0	1 (10%)	HLA-B*47	0	1 (0,7%)
HLA-B*14	1 (10%)	1 (10%)	HLA-B*49	1 (10%)	1 (10%)
HLA-B*15	0	0	HLA-B*50	2 (20%)	0
HLA-B*18	1 (10%)	1 (10%)	HLA-B*51	1 (10%)	1 (10%)
HLA-B*35	4 (40%)	1 (10%)	HLA-B*53	0	2 (20%)
HLA-B*38	1 (10%)	1 (10%)	HLA-B*55	0	1 (10%)
HLA-B*39	0	2 (20%)	HLA-B*56	1 (5%)	0
HLA-B*40	0	1 (10%)	HLA-B*78	1 (10%)	0

Tabla 4.38. Frecuencia de los alelos HLA-B según el tipo de reacción a NVP

Alelo DRB1	Reacción a NVP	
	SI 2n=40	NO 2n=258
HLA-DRB1*03	4 (20%)	22 (17,1%)
HLA-DRB1*04	6 (30%)	31 (24%)
HLA-DRB1*07	4 (20%)	37 (28,7%)
HLA-DRB1*08	2 (10%)	7 (5,4%)
HLA-DRB1*09	2 (10%)	2 (1,6%)
HLA-DRB1*10	1 (5%)	2 (1,6%)
HLA-DRB1*11	2 (10%)	36 (27,9%)
HLA-DRB1*12	0	5 (3,9%)
HLA-DRB1*13	7 (35%)	45 (34,9%)
HLA-DRB1*14	0	9 (7%)
HLA-DRB1*15	3 (15%)	31 (24%)
HLA-DRB1*16	1 (5%)	8 (6,2%)
HLA-DRB1*01	8 (40%)	23 (17,9%)
HLA-DRB1*01:01	5 (25%)	17 (13,2%)
HLA-DRB1*01:02	3 (15%)	5 (3,9%)
HLA-DRB1*01:03	0	1 (0,8%)

Tabla 4.39. Frecuencia de los alelos HLA-DRB1 en pacientes con y sin reacción a NVP

Alelo DRB1	Reacción a NVP	
	CUTÁNEA 2n=20	DRESS 2n=20
HLA-DRB1*03	4 (40%)	0
HLA-DRB1*04	2 (20%)	4 (40%)
HLA-DRB1*07	2 (20%)	2 (20%)
HLA-DRB1*08	1 (10%)	1 (10%)
HLA-DRB1*09	0	2 (20%)
HLA-DRB1*10	0	1 (10%)
HLA-DRB1*11	1 (10%)	1 (10%)
HLA-DRB1*13	3 (30%)	3 (30%)
HLA-DRB1*15	3 (30%)	0
HLA-DRB1*16	1 (5%)	0
HLA-DRB1*01	3 (30%)	5 (50%)
HLA-DRB1*01:01	2 (20%)	3 (30%)
HLA-DRB1*01:02	1 (10%)	2 (20%)

Tabla 4.40. Frecuencia de los alelos HLADRB1 según el tipo de reacción a NVP

#### 4.10. CYP2B6 Y REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD A NEVIRAPINA

De 161 pacientes en tratamiento con NVP en los que se estudió el polimorfismo CYP2B6 516G>T, presentaron reacciones adversas de algún tipo frente al fármaco un total de 20 pacientes. En 10 casos la reacción se limitó a reacciones cutáneas de intensidad variable. Los 10 pacientes restantes presentaron síndrome DRESS (*Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms*) con diferente afectación que en todos los casos incluía rash cutáneo, fiebre y afectación hepática. En la **tabla 4.41**, se muestran las frecuencias genotípicas en pacientes con y sin reacción frente a NVP.

La frecuencia del genotipo T/T está significativamente aumentada en el grupo de pacientes que presentaron reacciones, siendo del 35% frente al 1,4% en los pacientes que no sufrieron reacción alguna ( $p=0,000004$ ,  $pc=0,000012$ ; OR 35,5; Riesgo en expuestos 77,78%, Riesgo en no expuestos 8,55%; Fracción etiológica en expuestos 89%). Según el tipo de reacción se aprecia que el genotipo T/T es más frecuente en los pacientes que sufrieron tan solo reacciones cutáneas, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa (**tabla 4.42**).

REACCIÓN FRENTE A NVP			
	SI	NO	<i>p</i>
<b>G/G</b>	7 (35%)	71 (50,4%)	0,17
<b>G/T</b>	6 (30%)	68 (48,2%)	0,12
<b>T/T</b>	7 (35%)	2 (1,4%)	0,000004

**Tabla 4.41. Frecuencias CYP2B6 en pacientes con y sin RHS frente a NVP**

TIPO DE REACCIÓN		
	CUTÁNEA	DRESS
<b>G/G</b>	3 (30%)	4 (40%)
<b>G/T</b>	2 (20%)	4 (40%)
<b>T/T</b>	5 (50%)	2 (20%)

**Tabla 4.42. Frecuencias CYP2B6 dependiendo del tipo de reacción adversa**

También se analizó el estatus de los pacientes con reacciones con respecto a la infección por VHC o VHB, por el posible factor de riesgo adicional que para la afectación hepática podría constituir (**tabla 4.43**). Dentro de los pacientes con afectación hepática se encontraron dos con VHB y ninguno con VHC. En el total de pacientes que habían sufrido reacción a NVP tan solo un paciente presentaba infección por VHC-VHB y reacción de tipo cutáneo. Con respecto al género de los pacientes con reacción encontramos 16 hombres y 4 mujeres y la distribución por el tipo de reacción fue la misma (dos cutáneas y dos sistémicas entre las mujeres por ocho cutáneas y ocho sistémicas entre los hombres).

		REACCIÓN A NVP					
		CUTÁNEA	DRESS				
VHC	SI	2 (20%)	0	VHB	SI	4 (40%)	2 (20%)
	NO	8 (80%)	10 (100%)		NO	6 (60%)	8 (80%)

**Tabla 4.43. Infección por VHC y VHB en pacientes con reacción a NVP**

En la **tabla 4.44** se muestran las frecuencias según el origen de los pacientes. No se encuentran grandes variaciones en lo que respecta al genotipo T/T, que tiene una mayor frecuencia en los grupos de pacientes de América del Sur y África (16,7% y 12,5% respectivamente). En el grupo español es del 5% y no se encontró ningún paciente en el grupo de individuos de origen europeo/estadounidense. En el grupo de España se separaron los pacientes de origen canario y del resto de España, encontrándose que todos los individuos con genotipo T/T eran canarios (**tabla 4.45**).

La frecuencia del alelo 516T fue del 28,5% en el total de pacientes estudiados; 28,9% en el grupo español (canarios 30,1% y no canarios 23,8%), 37,5% en el grupo de América del Sur, 31,25% en el grupo africano y 20,45% en el grupo de Europa/EEUU.

	España n=119	Europa/USA n=22	África n=8	Sur América n=12	Total n=161
<b>G/G</b>	56 (47,1%)	13 (59,1%)	4 (50%)	5 (41,7%)	78 (48,4%)
<b>G/T</b>	57 (47,9%)	9 (40,9%)	3 (37,5%)	5 (41,7%)	74 (46%)
<b>T/T</b>	6 (5 %)	0	1 (12,5%)	2 (16,7%)	9 (5,6%)

Tabla 4.44. Frecuencias de los genotipos del CYP2B6 según el origen de los pacientes

	Canario n=98	No canario n=21
<b>G/G</b>	45 (45,9%)	11 (52,4%)
<b>G/T</b>	47 (48%)	10 (47,6%)
<b>T/T</b>	6 (6,1%)	0

Tabla 4.45. Frecuencias de los genotipos del CYP2B6 según el origen dentro del grupo español



## 5. DISCUSIÓN

---



Este trabajo es fruto de la colaboración entre la Unidad de Inmunología y la Unidad de Enfermedades Infecciosas y Medicina Tropical del CHUIMI, que se inició en el año 2007 con la realización del tipaje HLA-B\*57:01 en pacientes susceptibles de ser tratados con ABC. La realización de esta determinación se efectuaba mediante el tipaje completo del gen HLA-B. En la actualidad existen métodos más sencillos y económicos que informan tan solo la presencia o ausencia del alelo sin la información del tipaje completo. Gracias a la información adicional que nos proporcionó el tipaje HLA-B se proyectó el estudio del presente trabajo. Se planteó si la presencia de determinados alelos HLA-B podía estar asociada a ciertos patrones de progresión, a susceptibilidad/protección frente a las principales enfermedades infecciosas o neoplásicas asociadas a la infección por VIH-1 así como a las coinfecciones por VHB y VHC. Posteriormente se decidió ampliar el estudio con la determinación de la delección delta 32 del CCR5.

La asociación del desarrollo de reacciones de hipersensibilidad frente a EFV en pacientes que portaban el alelo HLA-DRB1\*01:01 aunque estaba menos documentada que la reacción frente a ABC, empezó a adquirir interés con el paso del tiempo. En nuestra Unidad esta determinación se comenzó a realizar en el año 2008, lo que nos proporcionó información de las frecuencias totales de HLA-DRB1 en los pacientes. Los estudios sobre las asociaciones de alelos HLA y reacciones adversas producidas por fármacos antiretrovirales aumentaron y se describieron nuevas asociaciones en diferentes grupos geográficos o étnicos. La asociación del alelo HLA-DRB1\*01:01 se extendió a reacciones producidas por la NVP. Este fármaco presenta efectos secundarios que, a lo largo del tiempo, han condicionado que su uso haya disminuido a pesar de su buena eficacia y precio muy asequible. Un aspecto adicional podría ser la presión de la industria farmacéutica para el empleo de nuevos fármacos. Los estudios farmacogenéticos sobre la NVP se han ido desarrollando en los últimos años, aunque aún se desconoce el mecanismo involucrado en el desarrollo de sus reacciones adversas. La investigación sobre los posibles mecanismos de acción de las reacciones llevaron al estudio de las vías de metabolización de los fármacos y a sus posibles variabilidades genéticas. Así, se describieron polimorfismos en los distintos citocromos que participan en los procesos de metabolización de los antiretrovirales, encontrándose asociaciones con los niveles de fármacos en plasma y con reacciones de hipersensibilidad. El polimorfismo del CYP2B6 516G>T ha sido uno de los que se ha relacionado de

forma más clara con el desarrollo de RHS frente a NVP, por lo que se decidió investigar en un subgrupo de pacientes para evaluar su utilidad y la posibilidad de un futuro uso en la práctica clínica.

La población de las Islas Canarias presenta un bagaje genético heterogéneo debido a la variedad del origen de sus pobladores fundacionales y al elevado porcentaje de población inmigrante residente. Existen datos arqueológicos que indican que las islas han estado habitadas desde hace más de 2.500 años (Tejera A, 1992), aunque el origen preciso de los primeros pobladores aun se desconoce. Diferentes estudios apuntan hacia una relación estrecha con la cultura bereber del noroeste de África. Tras un periodo en el que solo se produjeron contactos ocasionales, en el siglo XV se produjo la invasión de las islas por parte de europeos, principalmente de origen español y normando (Rando JC y col, 1999). Tras esta invasión, a las islas llegaron numerosas oleadas de inmigrantes españoles y portugueses, pero incluso después de siglos de estas migraciones, el origen genético aborigen aun se conserva en la actualidad (Flores C y col., 2003). Diferentes estudios coinciden en una combinación “genética” en la actualidad, del 60-70% de origen europeo, 20-30% de origen del norteafricano y un 5-10% de origen subsahariano (Pinto F y col., 1994; García-Laorden MI y col., 2001). Durante las últimas dos décadas se ha incrementado de forma notable la población residente en la isla de Gran Canaria procedente del Norte de Europa (especialmente de Alemania y Reino Unido) y, durante la última década, también se ha producido un importante flujo migratorio desde el África subsahariana. Por todo ello, esta agregación genética, hace que el estudio de la población considerada en este trabajo pueda presentar un interés especial.

### **TIPAJE HLA-B Y B\*57:01 EN PACIENTES VIH**

La prevalencia del HLA-B\*57:01 en nuestra serie de pacientes fue del 5,0 %. Un estudio previo de tipo multicéntrico dentro de España, había descrito una prevalencia del alelo de 6,1%, aunque este trabajo incluía a 74 centros españoles ninguno de ellos estaba en la isla de Gran Canaria (Arrizabalaga J y col, 2009).

Datos de trabajos realizados en diez países europeos, incluyendo a España, estimaban que la prevalencia de HLA-B\*57:01 en el total de Europa era de 4,98%,

siendo mayor su prevalencia en la población caucásica y menor en la población negra (Orkin C y col, 2010). Nuestros resultados son similares a los llevados a cabo en otros países como Reino Unido (4,77%), Francia (5,25%) o Irlanda (4,8%) con mayor prevalencia de pacientes de raza negra (Zucman D y col, 2007; Orkin C y col, 2010).

Analizando las posibles diferencias entre los pacientes canarios y el resto de pacientes de origen español, no se observaron diferencias en lo que respecta a la prevalencia del HLA-B\*57:01 (6,2% en canarios vs. 5,6% en no canarios). Las frecuencias de los grupos de origen no español son inferiores, no superando en ningún caso el 2,6%. En los pacientes cuyo origen fue Europa y Estados Unidos encontramos una inesperada baja frecuencia (2,6%) ya que la mayoría de los europeos que viven en Gran Canaria proceden de Alemania, Reino Unido e Italia y en estos países se han descrito frecuencias claramente superiores (6,3% en italianos y 7,2 en alemanes 7,9 %) (Orkin C y col., 2010).

Existen pocos estudios que describan las frecuencias del alelo HLA-B\*57:01 en países del centro y sur de América, pero se han informado de frecuencias del 2% en mestizos de México (Sánchez-Girón F y col., 2011), 2,2% en chilenos (Poggi H y col., 2010) y 3,1% en brasileños (Crovella S y col., 2011). En el presente estudio, la frecuencia encontrada en pacientes de América del Sur y Centro América fue del 2,2%. La mezcla de orígenes de la serie de nuestro hospital podría explicar las ligeras diferencias entre los estudios realizados en el resto de España y los de nuestro área.

La elaboración de modelos coste efectivos en relación a la determinación del HLA-B\*57:01, necesita del conocimiento previo de su prevalencia en las diferentes poblaciones. Tan solo en grupos donde la frecuencia de este alelo es muy baja la realización del test que informe de su presencia puede no ser coste-efectiva (Schackman BR y col., 2008; Hughes DA y col., 2004; Park WB y col., 2009). En nuestro trabajo se observa la existencia de una frecuencia alta en el grupo español y en el total de los pacientes analizados. La determinación, aun incluyendo los grupos con frecuencias más bajas, continuaría siendo coste efectiva tal y como se ha descrito en informes realizados en otros países europeos (Nieves D y col, 2010; Hughes DA y col., 2004; Wolf E y col., 2010). Un reciente meta-análisis demuestra la excelente exactitud de la determinación de HLA-B\*57:01 para confirmar la

hipersensibilidad a ABC corroborando las recomendaciones existentes sobre su realización (Cargnin S y col., 2014).

La relativa complejidad y costo del tipaje HLA-B\*57:01 llevó al desarrollo de alternativas como la descrita en 2008 por Colombo S y col., En su estudio describieron un polimorfismo en el complejo P5 del HLA (gen HCP5) que se encuentra en desequilibrio de ligamiento con HLA-B\*57:01. En varios estudios posteriores se investigó el potencial de esta prueba, que resulta más sencilla de realizar y con un precio menor. Sin embargo el hecho de que el desequilibrio de ligamiento no sea completo y pueda variar según las distintas poblaciones hace reconsiderar su uso como sustituto de la determinación de B\*57:01 (Sánchez-Girón F y col.; Galván CA y col., 2011). En un trabajo reciente realizado en población gallega se determinó este polimorfismo, observando una frecuencia del 7,6% (Rodríguez-Da Silva y col., 2015), superior a la descrita para el HLA-B\*57:01 en el resto de población española. Esto podría deberse tanto a las características propias de la cohorte estudiada como al diferente método empleado.

En las comparaciones entre grupos de distintos orígenes, encontramos diferencias significativas, previamente descritas en múltiples trabajos de genética comparativa poblacional. La única comparación adicional de interés sería dentro del grupo de pacientes españoles diferenciando entre los de origen canario y no canario. En nuestro estudio se aprecian diferencias significativas en los alelos B\*18 y B\*41, aunque al carecer datos sobre otros loci y haplotipos, no es posible sacar conclusiones, como sí se ha realizado en estudios de poblaciones de origen similar como las del archipiélago de Madeira (Arnáiz-Villena A y col., 2009).

## **HLA E INFECCIONES**

Las infecciones han sido a lo largo de la evolución una de las principales causas de mortalidad y evolutivamente han ejercido una gran presión selectiva que ha provocado que los genes implicados en la respuesta inmune sean los más numerosos y polimórficos del genoma humano. La capacidad de los genes HLA de modular tanto la respuesta innata como la adaptativa, interaccionando tanto con los receptores de las células NK como con los receptores del linfocitos T, ha centrado el interés de múltiples estudios que describen numerosas asociaciones (Blackwell JM

y col., 2009). En nuestro trabajo se han estudiado las posibles asociaciones con respecto a diez infecciones definitorias de SIDA.

### Candidosis

La mayor frecuencia de HLA-B\*14 encontrada en nuestro estudio en pacientes con candidosis debería tomarse con cautela ya que si se compara con la frecuencia de este alelo en el total de pacientes estudiados (12,6%) y en los controles sanos (17,4 %) esta se encuentra entre ambas.

Excepto en estudios realizados en pacientes con síndrome poliendocrino autoinmune, uno de cuyos componentes principales es la candidosis mucocútanea crónica, no se encuentran trabajos en los que se describan frecuencias de HLA en pacientes con este diagnóstico tanto de forma aislada como dentro del contexto de la infección por VIH. En alguno de estos trabajos se muestra una mayor frecuencia del alelo HLA-DRB1\*01 analizando la candidosis aisladamente dentro del contexto del síndrome autoinmune (Halonen M y col., 2002), asociación que no se reproduce en nuestra serie donde tan solo en clase II se encuentra un discreto aumento en la frecuencia de HLA-DRB1\*07 pero sin significación estadística.

### Neumonía por *Pneumocystis jirovecii*

La disminución del número absoluto de linfocitos T CD4 es el principal factor de riesgo para desarrollar una infección por *Pneumocystis jirovecii*. Aproximadamente el 90% de casos de esta enfermedad aparecen en pacientes en los que el recuento de linfocitos T CD4 es inferior a 200 cel/ $\mu$ l (Huang L y Crothers K, 2009). En nuestro trabajo se analizaron las frecuencias HLA-B y HLA-DRB1 de los pacientes que habían sufrido neumonía por *Pneumocystis jirovecii* en algún momento. Los datos sobre las frecuencias HLA-B no diferían entre los pacientes con y sin infección, pero sí se observaron diferencias con respecto a los alelos HLA-DRB1. Se investigó la frecuencia de infección en pacientes atendiendo a si habían tenido o no en algún momento de su evolución los niveles de linfocitos T CD4 por debajo del dintel de los 200 cel/ $\mu$ l. A destacar la disminución de la frecuencia de

DRB1\*07 en el grupo de pacientes infectados por *P. jirovecii*, que era aun mayor en los que en algún momento habían tenido un recuento de linfocitos T CD4 inferior a 200 cel/ $\mu$ l, lo que puede indicarnos que este alelo podría ser un factor protector frente al desarrollo de la infección.

### Tuberculosis

Se observó un aumento de la frecuencia del alelo HLA-B\*38 en pacientes con tuberculosis (13,2% frente a un 5,1%). Esta asociación aunque perdiendo la significación tras la corrección por el número de alelos podría resultar de interés ya que no parece haber sido descrita previamente.

En un trabajo realizado en el sur de la India se encontró que el HLA-B\*57 y el género influían en la aparición de tuberculosis en individuos infectados por el VIH. Así, la incidencia de tuberculosis fue significativamente menor entre mujeres (25,4% frente a 50,8%) (Jagannathan L y col., 2011). En nuestra serie esos datos no se reproducen y, de hecho, las frecuencias son las contrarias, encontrándose ligeramente elevada la frecuencia en mujeres (15,9% frente a 10% en varones) aunque sin significación estadística. Con respecto al alelo B\*57 no se observaron diferencias significativas en nuestro estudio. Asociaciones encontradas con respecto a HLA clase II y la susceptibilidad y resistencia a la tuberculosis en la población general tampoco se encontraron en nuestra serie, refrendando la teoría de que las variaciones étnicas y/o geográficas juegan un papel primordial en las discrepancias que entre diferentes estudios se describen. (Duarte R y col., 2011; Delgado JC y col., 2002; Raghavan S y col., 2009).

### Citomegalovirus

La infección por CMV está claramente asociada al aumento de la mortalidad en sujetos inmunocomprometidos. Se han realizado numerosos estudios sobre la influencia que el HLA podía tener en pacientes trasplantados, tanto de órgano sólido como de medula ósea. Diferentes estudios han descrito asociaciones con determinados alelos HLA de clase II como el DRB1\*07 en el caso de los trasplantes renales, en los que se demostró que la compatibilidad entre donante y receptor de



este alelo incrementaba el riesgo de enfermedad por CMV en el receptor (Blanco G y col., 1992; Kraat YJ y col., 1993). Por otro lado, en trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos se encontró que HLA-DR15 y HLA-DR7 incrementaban el riesgo de reactivación de CMV en pacientes que habían recibido trasplante con un estatus CMV+ previo a su realización mientras que el HLA-B\*51 presentaba un efecto protector (Chen Y y col., 2001). Otros datos posteriores señalan, en pacientes chinos, la asociación de HLA-DRB1\*09 con una incidencia aumentada de infección y enfermedad por CMV tras trasplante de progenitores hematopoyéticos (Du J y col., 2007), y, en pacientes turcos se describían los alelos HLA-B\*14, HLA-DRB1\*01 y HLA-DRB1\*13 como significativamente más frecuentes en reactivaciones de CMV (Acar K y col., 2014).

En nuestra serie con respecto a los alelos HLA-B encontramos que el alelo HLA-B\*45 presentaba una frecuencia aumentada en pacientes con infección, esta asociación, aunque al corregir por el número de alelos se perdía la significación estadística, indica una tendencia no encontrada en otras poblaciones. Con respecto al alelo B\*51 descrito previamente como alelo protector, en nuestra serie también se muestra esa tendencia (4,5% en infección frente a 17,8% en los restantes) aunque no de forma significativa.

El aumento de frecuencia del alelo HLA-DRB1\*08 se ha encontrado en otros estudios sobre infecciones virales independientes de la infección por VIH-1 como el caso del virus del Dengue (Malavige GN y col., 2011), pero no se encuentra ninguna referencia con respecto al CMV.

### Neumonías recurrentes

Se encontraron en el grupo de neumonías recurrentes asociaciones de riesgo y protección entre los alelos HLA-B y HLA-DRB1, aunque la interpretación de los mismos resulta difícil por la ya complicada entidad que constituye el criterio de SIDA de neumonías recurrentes, tanto por la diversidad de la que puede ser su etiología como en su definición como tal, ya que en esta categoría entra también el diagnóstico de presunción. Aun así los datos podrían tomarse en consideración y ampliar el estudio con datos de la filiación de las neumonías. Los alelos HLA-B\*57 y

HLA-DRB1\*07 se encontraron con una frecuencia elevada en pacientes de este grupo, mientras que el alelo HLA-DRB1\*13 mostró una frecuencia disminuida.

No se encuentran en la bibliografía revisada trabajos que tomen como conjunto para su análisis genético esta entidad.

### Otras infecciones

Con respecto a la toxoplasmosis cerebral se han descrito asociaciones con HLA-DRB1\*08 y HLA-DQB1\*04:02 en pacientes argentinos (Habegger A, 2005). En nuestra serie además de tener un número reducido de esta entidad, no se encontró ninguna asociación con los alelos HLA estudiados.

En un estudio realizado con 152 pacientes con leucoencefalopatía progresiva multifocal se encontró una frecuencia aumentada del alelo HLA-B\*18 y disminuida del HLA-A\*03, aunque ninguna de las asociaciones fue significativa (Gheuens S y col., 2010). Otro trabajo realizado en población escandinava y alemana se centró en el estudio de los alelos HLA de clase II, encontrando una asociación negativa entre la infección por JC poliomavirus y la presencia del alelo HLA-DRB1\*15 y, por el contrario, una asociación positiva con el alelo HLA-DQB1\*06:03 (Sundqvist E y col., 2014). En nuestro grupo de estudio el número de pacientes de los que obtuvimos datos de su diagnóstico de leucoencefalopatía progresiva multifocal fueron tan solo nueve y no hallamos en ellos ninguna asociación con los alelos HLA estudiados.

## **COINFECCIONES**

Hay una clara asociación entre la transmisión de la infección del VHB y VHC y la del VIH-1 tanto por vía sexual como parenteral y además, la cronificación de estas infecciones es mayor en pacientes infectados por VIH. Existen numerosos estudios sobre las asociaciones HLA con las infecciones por VHB y VHC. El alelo HLA-B\*08 se ha asociado a ausencia de respuesta a la vacunación en poblaciones caucásicas indicando una respuesta inmune no eficiente frente al antígeno en sus portadores (Thio CL y col., 2003). Los alelos de clase II HLA-DRB1\*13 y DRB1\*11/DRB1\*12 se han asociado a aclaramiento del VHB y a persistencia viral respectivamente (Singh R y col., 2007). En nuestro grupo de estudio no

encontramos diferencias significativas en las frecuencias encontradas tanto en HLA-B como en HLA-DRB1. Tan solo reseñar la mayor frecuencia de pacientes con infección actual o pasada por VHB en el grupo de origen africano (57,7% frente al 33,7% del grupo español, 39,8% del grupo europeo y el 39,6% del grupo americano).

La infección aguda por el VHC presenta una evolución a infección crónica en un alto porcentaje de pacientes y una minoría es capaz de eliminar el virus durante la fase aguda de la infección. Estudios realizados en este campo describieron el efecto protector contra la cronificación de la infección en determinados alelos como el HLA-B\*27, HLA-B\*39 y HLA-B\*62 (Hrabrer P y col., 2007). El HLA-B\*27 también se asoció con cargas virales bajas y progresión lenta de la infección por VIH (Kaslow RA y col., 1996).

El hallazgo en nuestro estudio de una frecuencia elevada de este alelo en el grupo de pacientes coinfectados VIH-1/VHC podría explicarse como un fenómeno positivo en el sentido que estos pacientes siguen una progresión lenta y su tasa de evolución y fallecimientos es menor que el resto de los casos.

Otros estudios han asociado el alelo B\*57 con el aclaramiento espontáneo de HCV y no describían el efecto del HLA-B\*27 (Kim AY y col., 2011; Kuniholm MH y col., 2010) por lo que este efecto podría depender de la cohorte estudiada.

En la experiencia de nuestro centro, los pacientes portadores del alelo HLA-B\*27 tienen una mejor evolución con respecto a la infección VIH-1 y a sus enfermedades asociadas, se producen mas fenómenos autoinmunes pero los pacientes presentan una mejor evolución inmunológica y viral.

A diferencia de la infección por el VHB la frecuencia en el grupo africano fue considerablemente menor a la de otros grupos excepto el grupo americano que presentó la menor frecuencia con un 2,2%.

Entre los pacientes de nuestro estudio que presentaban una triple infección, se dio la circunstancia del aumento de frecuencia de mujeres en comparación con la distribución total de la muestra. El alelo HLA-B\*27 se encontró en una frecuencia aumentada en comparación con los pacientes sin coinfecciones y también respecto al grupo control, aunque este aumento no es estadísticamente significativo tras la corrección por el número de alelos.

## HLA Y SARCOMA DE KAPOSI

Varios estudios, realizados hace más de tres décadas, sugirieron la relación entre HLA y sarcoma de Kaposi (Friedman-Kien AE y col., 1982; Pollack MS y col., 1983) aunque los datos nunca fueron corroborados. A finales de los años 80, se describió una menor frecuencia de HLA-B8 y una mayor de B35 y B12 en pacientes con infección por VIH y Sarcoma de Kaposi (Scorza-Smeraldi R y col., 1986; Jeanet M y col., 1989). Un trabajo más reciente indica como alelo de riesgo el HLA-B\*14:01 y como alelo protector el HLA- B\*27:05 (Aissani B y col., 2014). En los pacientes estudiados en nuestro grupo no se aprecian diferencias en las frecuencias de HLA-B que indiquen relación alguna.

Con respecto a los alelos HLA-DRB1 se encontró una menor frecuencia de HLA-DRB1\*04 en pacientes con sarcoma de Kaposi. Ya en el año 1995 se describió en una serie de 49 pacientes de origen judío un descenso en la frecuencia de HLA-DR4 aunque, de forma similar a nuestros datos, ese descenso no fue estadísticamente significativo (Strichman-Almashanu L y col., 1995). En otros estudios se asoció el alelo DRB1\*01 con una mayor susceptibilidad al sarcoma de Kaposi (Mann DL y col., 1990; Klein MR y col., 1994), aunque en nuestro estudio esa asociación no se detecta.

## CCR5

La mutación delta 32 del CCR5 fue descrita por primera vez en 1996 como un factor que confería protección frente a la infección por VIH (Liu R y col., 1996; Samson M y col., 1996). La aparición de la delección parece que surgió hace unos 2.000 años con un rango plausible de 375 hasta 4.800 años. Múltiples líneas de investigación sugieren la hipótesis de su nacimiento en Escandinavia y su posterior dispersión hacia Islandia, Francia, las costas del Mediterráneo y Rusia a través de los viajes realizados por los vikingos (Lucotte G, 2001). Esto explicaría el que la mutación se confine prácticamente a individuos de origen o descendientes de europeos (Martinson JJ y col., 1997).

Las frecuencias del alelo delta 32 encontrada en nuestro estudio no difieren de forma significativa de las encontradas en otros trabajos realizados en nuestro país. Así, en un estudio realizado en 2010 en una cohorte de 184 individuos con

infección VIH-1 la frecuencia fue de 21,7% de individuos heterocigotos y no se encontró ningún individuo homocigoto (Veloso S y col., 2010). En nuestra serie la frecuencia es algo menor (15,4%) lo cual podría explicarse por la baja frecuencia que presenta el grupo de origen africano. Si se tiene en cuenta tan solo a los pacientes españoles de origen no canario, la frecuencia es del 22,5%, muy similar a la descrita en el trabajo indicado. En un estudio realizado en individuos con infección por VIH-1 en una población italiana, la frecuencia fue del 7,5% y tampoco se encontraron individuos homocigotos (Trecarichi E y col., 2006). No existen muchos trabajos realizados en población de América del sur. Un estudio en población brasileña la frecuencia fue de 4,2%, no observando ningún individuo homocigoto (Teixeira SL y col., 2009) y del 3,5 % en un estudio realizado en Colombia, sin ningún homocigoto para la mutación (Marquet S y col., 1999). En el grupo de este origen en nuestro trabajo, la frecuencia encontrada fue muy superior (14,3%) a la descrita en estos grupos de países latinoamericanos, aunque los datos deben ser tomados con cautela debido al bajo número de pacientes estudiados (n=21). Con respecto al grupo de pacientes de origen africano la frecuencia del alelo fue de 4,8%. Varios estudios han reflejado la baja frecuencia de la mutación en población africana; de hecho en muchos estudios no se encuentra ningún individuo con la mutación (Sabeti PC y col., 2005; Ma L y col., 2005). En nuestro estudio la frecuencia de la mutación en el grupo africano fue del 4,8% lo que corresponde a un único individuo de los 21 pacientes africanos estudiados para esta mutación. El paciente procedía de Guinea Ecuatorial y se podría especular sobre un posible ascendiente español que explicase la aparición de la mutación.

## **EVOLUCIÓN CD4**

Estudios realizados a principios de esta década confirmaron que la base molecular de las asociaciones del HLA con la progresión de la infección por VIH-1 está localizada en aminoácidos situados en el bolsillo de unión de HLA de clase I. Los individuos denominados “controladores” poseen la capacidad de mantener niveles estables de linfocitos T CD4 sin tratamiento antirretroviral y sin desarrollar enfermedad clínica y han sido la base de los estudios genéticos para definir las posibles asociaciones con alelos del sistema HLA (International HIV Controllers Study, 2010). Las asociaciones a progresiones lentas de la enfermedad son

consistentes en diferentes estudios y así los alelos B\*57, B\*27, B\*14, C\*08, B\*52 y A\*25 se han implicado como factores “controladores” de la evolución de la enfermedad. Las asociaciones más robustas se encontraron entre los alelos de HLA-B, al igual que los alelos asociados a progresiones más rápidas de la enfermedad como B\*13, B\*18, y B\*35 (Huang X y col., 2009; International HIV Controllers Study, 2010; Goulder PJR y Walker BD, 2012;). En el presente trabajo encontramos que dentro del grupo de pacientes asintomáticos y que no habían sido tratados con fármacos antirretrovirales a lo largo del periodo de estudio existían pacientes que portaban determinados alelos HLA-B que presentaron pendientes de evolución del recuento de linfocitos T CD4 a lo largo del tiempo positivas, como los ya descritos B\*27, B\*57 y B\*14, aunque los que presentaron pendientes positivas con evoluciones estadísticamente significativas fueron los que portaron los alelos B\*38 y B\*39, alelos muy similares por ser ambos splits del B16. En un trabajo sobre pacientes españoles no progresores, donde se estudiaban distintos factores genéticos del hospedador (HLA, CCR5, CCL3L1, HCP5), se concluía que los haplotipos B\*57:01-C\*06:03, B\*27:05-C\*01:02 y B\*38:01-C\*12:03 eran los que mayor efecto tenían en la no progresión (Salgado M y col, 2011). Al no haberse realizado el tipaje del HLA-C en nuestra serie, no podemos confirmar esas asociaciones de haplotipos, pero nuestros resultados parecen estar en concordancia con dicho estudio. Por el contrario la única referencia hallada respecto al B\*39 es la de un estudio realizado en el estado de Zulia, Venezuela, en el que se encontró una frecuencia disminuida del mismo entre los pacientes infectados por VIH-1 y que se encontraban en estados avanzados de la enfermedad (Hassanhi MS y col., 1995).

Por otro lado los pacientes con pendientes de evolución en el tiempo del recuento de linfocitos T CD4 negativas se correspondieron con muchos de los alelos previamente descritos como de peor evolución como B\*13, B\*35, B\*51 y B\*58. La disminución fue significativa en la evolución del recuento de linfocitos T CD4 en el caso de pacientes que portaban el alelo B\*13.

La homocigosidad en HLA de clase I puede reducir el repertorio de interacciones del VIH-1 dependientes de HLA y por tanto dar lugar a una evolución más acelerada de la enfermedad (Tang J y col., 1999). También se han publicado trabajos que afirman que la homocigosidad no confiere una desventaja en la evolución de pacientes en China (Zhang H y col., 2013). En nuestro estudio se

aprecia una tendencia a la disminución en la pendiente de evolución de linfocitos T CD4 de los individuos homocigotos para HLA-B pero sin significación estadística.

Los alelos pertenecientes al grupo Bw4 se han asociado a niveles bajos de carga viral y a progresiones lentas a SIDA (Flores-Villanueva PO y col., 2001; Kiepiela P y col., 2004) mientras que la homocigosidad en Bw6 se ha asociado a evoluciones mas rápidas y graves de la infección, ya que la interacción entre el epítipo Bw4 y los receptores de las células NK produce una lisis de las células infectadas por VIH-1 (Huang X y col., 2009; López-Vázquez A y col., 2005). En nuestro grupo de estudio los pacientes homocigotos para Bw4 presentaban una pendiente en la evolución de los linfocitos T CD4 positiva, mientras que los individuos heterocigotos y homocigotos para Bw6 presentaban pendientes prácticamente iguales a cero. Ninguno de estos datos fue estadísticamente significativo aunque muestra una tendencia similar a la descrita en estudios previos.

La contribución de los alelos HLA de clase II en la presentación peptídica y en el control de patógenos humanos ha sido objeto de una menor cantidad de estudios y no existe en la actualidad consenso con respecto a las asociaciones positivas o negativas con la evolución de la infección. Los alelos HLA-DRB1\*15:02 y HLA-DRB1\*03:01 se han asociado a control y progresión de la enfermedad respectivamente (Ranasinghe S y col., 2013). Estudios anteriores habían definido la posesión de HLA-DQB1\*06 con una disminución lenta de los linfocitos T CD4, ésta asociación fue confirmada independientemente del desequilibrio de ligamiento con el alelo HLA-DRB1\*15 (Vyakaman A y col., 2004). El alelo HLA-DRB1\*13:03 se ha asociado a cargas virales reducidas en pacientes con infección por VIH-1 en una cohorte de Sudáfrica (Julg B y col., 2011). Estudios realizados en India encontraron un incremento del alelo HLA-DRB1\*09:02 en pacientes infectados por VIH-1 en contraste con un grupo control (Shankarkumar U y col., 2010). En nuestro trabajo encontramos que el alelo HLA-DRB1\*09 muestra en sus portadores una pendiente de evolución de linfocitos T CD4 positiva de forma significativa mientras el alelo HLADRB1\*04 tendría el efecto contrario también de forma significativa. Con respecto a las asociaciones previamente descritas tan solo podemos indicar que los pacientes que portaban el alelo HLA-DRB1\*15 mostraron las medias de linfocitos T CD4 mas altas a lo largo de la evolución del estudio tanto en el grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento como en el resto de pacientes.

Las moléculas de HLA presentan epítomos (fragmentos de proteínas del VIH) necesarios para el reconocimiento inmunológico y posterior ataque de los linfocitos T CD8. Mutaciones en las zonas de los epítomos presentados por parte del virus representan la adaptación que el VIH realiza frente al HLA (Kawashima Y y col., 2009). Esto puede cambiar la visión que se tiene de la evolución del VIH y su dependencia del HLA. La adaptación del virus frente a las respuestas de los linfocitos T CD8 pueden cambiar las asociaciones actualmente establecidas entre determinados alelos HLA y la velocidad de progresión de la enfermedad. Existen datos que muestran que hace 25 años el alelo HLA-B\*51 se mostraba como “protector” en pacientes de Japón (Kaslow RA y col., 1996; O’Brien y col., 2001) y actualmente esto ya no ocurre así (Kawashima Y y col., 2009).

A pesar de lo limitado del estudio, debido a su carácter retrospectivo y al reducido número de pacientes en el grupo seleccionado como individuos con una evolución lenta de la enfermedad, podemos concluir que los resultados son concordantes con los descritos en trabajos previos y refuerzan la utilidad que podría tener el conocer el tipaje HLA-B. Este dato podría ayudar a optimizar el seguimiento de la progresión de la infección sumándose a los ya claramente establecidos subgrupos de pacientes con mayor riesgo de progresión como son varones, pacientes de mayor edad, usuarios de drogas por vía parenteral, y pacientes que presentan coinfecciones por virus de la hepatitis C y B (Jaén A y col., 2008).

### **HLA-DRB1\*01 y CYP2B6 en las reacciones frente a NVP**

La NVP es un fármaco ampliamente empleado en el tratamiento de la infección por VIH-1, especialmente, en países en vías de desarrollo y en mujeres embarazadas. Sin embargo su uso se ha limitado mucho debido al alto porcentaje de efectos secundarios que presenta.

El primer estudio que publicó una asociación del HLA con las reacciones producidas por la NVP fue realizado en Australia en el año 2005 y se describió la asociación con el alelo HLA-DRB1\*01:01 (Martin AM y col., 2005). Trabajos posteriores confirmaron esta asociación pero también se describieron asociaciones con otros alelos de clase I como el HLA-B\*14:02 y HLA-C\*08 en población de la isla de Cerdeña (Littera R y col., 2006) y el HLA-B\*35:05 y HLA-C\*04 en Tailandia



(Chantarangsu S y col., 2009; Likanonsakul S y col., 2009). Esta diversidad de resultados podría explicarse en cierto modo por el desequilibrio de ligamiento que dichos alelos presentan en forma de los haplotipos extendidos HLA-B\*14-HLA-C\*08-HLADRB1\*01 y HLA-B\*35-HLA-C\*04. Desde la descripción de las primeras asociaciones se produjo un interés creciente en confirmar los alelos asociados a las RHS frente a NVP. De especial interés fue es estudio llevado a cabo por la farmacéutica Boehringer-Ingelheim que comercializa el antirretroviral y que incluía 276 casos de RHS y 567 controles de distintas etnias y localizaciones (Yuan J y col., 2011) y que confirmó las asociaciones previamente descritas con HLA-C\*04, B\*35 y DRB1\*01. Un reciente metanálisis que recopiló un total de 13 estudios, concluye que el alelo HLA-C\*04 estaría asociado a RHS en poblaciones de diferente origen, mientras que el HLA-B\*35 y HLA-DRB1\*01 estarían asociados en población tailandesa y caucásica respectivamente (Cornejo Castro E y col., 2015).

En nuestra cohorte no apreciamos asociación con los alelos HLA-B y tan solo se observó una frecuencia disminuida del alelo HLA- B\*15 en los pacientes con RHS, que aun sin poseer significación estadística, podría indicar una posible asociación protectora que debiera estudiarse en una cohorte de mayor tamaño. Un trabajo presentado en un congreso reciente (Pavlos R y col., 2014), que continúa el estudio iniciado por Yuan J y col., asoció el alelo HLA-B\*15 a una protección frente a la RHS en pacientes caucásicos y asiáticos.

Con respecto a los alelos HLA de clase II, en nuestro estudio encontramos una frecuencia aumentada del alelo HLA-DRB1\*01 en pacientes con RHS, tanto DRB1\*01:01 como DRB1\*01:02. Teniendo en cuenta el tipo de reacción, se observa la tendencia ya descrita en los trabajos que asocian la presencia del alelo DRB1\*01:01 con hepatitis (Philips E y col., 2010; Yuan J y col., 2011), sin embargo el reducido número de casos no nos permite encontrar significación en esta asociación. Existen otros estudios que, por el contrario, encuentran asociación entre las manifestaciones cutáneas de las RHS y el alelo DRB1\*01 (Vitezica ZG y col., 2008).

Los estudios sobre las vías de metabolización de la NVP y su relación con los efectos adversos fueron posteriores a los estudios sobre el HLA. En 2011, Yuan S y col. describieron que las variantes del CYP2B6 podían afectar al riesgo de efectos adversos a la NVP. El genotipo de metabolizador lento CYP2B6 516 G>T fue descrito como asociado en mayor medida a reacciones cutáneas. Este dato se

confirma en nuestro estudio, donde encontramos mayor cantidad de reacciones cutáneas en los grupos de pacientes que portaban el alelo sobre todo cuando este se encontraba en homocigosis. La frecuencia del genotipo CYP2B6 516T/T en nuestra serie fue de 5,6%, pero varía notablemente según el origen de los pacientes. Así, en el grupo procedente de Europa no encontramos ningún individuo que lo presente y por el contrario encontramos hasta un 16,7% en el grupo de pacientes procedentes de América del Sur. Se ha descrito que el alelo 516T se encuentra con una alta frecuencia en poblaciones sub-saharianas (45,5%) y afro americanas (46,7%), en comparación con poblaciones de origen hispano (27,3%), europeas (21,4%) y asiáticas (17,4%) (Nyakutira C y col. 2008; Mehlotra RK y col, 2007; Rakhmanina NY y van den Anker JN, 2010). En la serie del presente trabajo la frecuencia total fue del 28,5%, encontrándose la mayor frecuencia en el grupo de América del sur (37,5%) y la menor en el grupo europeo (20,45%). Los pacientes de origen canario se encuentran en una situación intermedia entre estos grupos, ya que se encuentra una frecuencia total del alelo 516T del 30,1%, superior al 25% descrito en población española (Arenaz I y col., 2010). Sin embargo en nuestro grupo no se aprecian diferencias respecto a los pacientes homocigotos CYP2B6 516T/T, que tienen una frecuencia del 6,1% en los pacientes canarios, similar al 5,5% descrito en población española en el trabajo señalado.

Se han descrito como riesgo adicional para el desarrollo de afectación hepática asociada con el tratamiento con NVP las coinfecciones por virus de la hepatitis B y C (Stern JO y col., 2003; Sanne I y col., 2005). En los pacientes que presentaron reacciones en nuestro estudio no encontramos un aumento significativo de afectación hepática en portadores del virus de la hepatitis C y/o B. Otras asociaciones con efectos adversos hepáticos han sido descritas, como el género femenino y los recuentos más elevados de linfocitos T CD4 (Stern JO y col., 2003). En nuestro grupo de estudio la distribución por género de los pacientes que habían sufrido algún tipo de reacción no presentó ninguna variación, tanto en el grupo general de reacciones como en las que incluían efectos adversos de tipo hepático. Con respecto al recuento de linfocitos T CD4 este punto no pudo ser confirmado al carecer de los datos exactos de los recuentos de los pacientes en el momento del inicio de la terapia con NVP.

A diferencia de la RHS producida por el ABC que está asociada a un único alelo de clase I, la reacciones frente a NVP parecen ser inmunológicamente más

complejas ya que sus manifestaciones tanto cutáneas como sistémicas se han asociado a diferentes alelos HLA tanto de clase I como de clase II así como a polimorfismos del CYP2B6. La aparición de la reacción cutánea parece requerir una acumulación de NVP, tal como sugiere el hecho de que estas reacciones estén asociadas con la presencia de genotipos metabolizadores lentos. El hecho de que el alelo HLA-C\*04 haya sido frecuentemente asociado con la RHS en distintas poblaciones, indicaría que la reacción estaría mediada por linfocitos T CD8 que interaccionarían con las moléculas de HLA de clase I. En nuestra serie no se realizó el tipaje del locus HLA-C, pero a través del desequilibrio de ligamiento que existe entre el locus B y C, se podrían inferir los pacientes que portan el alelo HLA-C\*04, ya que estos se encuentran en fuerte desequilibrio de ligamiento con el alelo HLA-B\*35, y así encontramos que el alelo HLA-B\*35 está más elevado en los pacientes presentaron reacción cutánea frente los que presentaron reacción sistémica (40% frente a 10%). En el primer estudio GWAS (Genome-wide association study; estudio de asociación del genoma completo) realizado, se han descrito otros genes que podrían estar implicados en la RHS a NVP (Chantarangsu y col., 2011). En este estudio se encontró asociación con la región 6p21.3, que además de los genes HLA contiene el gen *CCHR*, que ha sido asociado a susceptibilidad a psoriasis y podría estar implicado en la proliferación de queratinocitos. Este hecho podría explicar la baja sensibilidad de las asociaciones HLA descritas (34% en caucásicos para el HLA-C\*04) (Haas DW y col., 2012), ya que se estaría obviando el papel que otros genes pudieran tener y que serían también necesarios para que la reacción se produjera.

Las reacciones sistémicas y hepáticas, es posible se produzcan por un mecanismo de acción diferente, a través de linfocitos T CD4+ y HLA de clase II. Se han realizado modelos de unión a NVP a los distintos alelos de HLA asociados a la RHS, y según éstos la NVP se uniría de forma no covalente tanto con DRB\*01:01 como con DRB1\*01:02, esta unión se realiza de forma más fuerte en ausencia de péptidos en el bolsillo de unión, sugiriendo un reconocimiento directo de la NVP por el TCR (Pavlos y col., 2014).

A la vista de los resultados observados en el presente trabajo, se puede especular sobre el papel de los alelos DRB1\*01:01 y DRB1\*01:02 en la RHS, ya que ambos alelos presentan una alta homología y es posible que las escasas diferencias de secuencia entre ellos no lleguen a ser determinantes para permitir la unión de la

NVP al bolsillo de presentación de péptidos. Los alelos DRB1\*01:01 y DRB1\*01:02 difieren tan sólo en 2 aas de toda su secuencia (DRB1\*01:01 tiene un valina en la posición 85 y glicina en la 86, mientras que DRB1\*01:02 tiene alanina en la posición 85 y valina en la 86), y difieren de todo el resto de alelos DRB1, excepto con DRB1\*10:01 y con el alelo poco frecuente DRB1\*11:30 (presumiblemente inexistente en la población española), en las posiciones 11, 13 y 31 que se encuentran en el bolsillo de unión a péptidos (Donfack J y col., 2000). Es posible que los aas presentes en estas tres posiciones, individualmente o en conjunto, sean determinantes para que se pueda dar la unión y presentación de los antígenos de la NVP tan solo en los alelos DRB1\*01:01, DRB1\*01:02 y DRB1\*10:01 (aunque en nuestra serie tan sólo hemos encontrado un paciente con reacción con este último alelo, que tiene una frecuencia del 5% en pacientes con reacción frente al 1,6% en pacientes sin ella).

Existe un conjunto de trabajos en los que el análisis de las posibles asociaciones HLA y enfermedad se realiza en base a una clasificación funcional de los alelos de DR, teniendo en cuenta el polimorfismo en los aas 70, 71 y 74 de la cadena  $\beta$ , presentes en el bolsillo 4 (Ou D y col., 1998). Este tipo de análisis se ha utilizado en estudios de asociación en enfermedades autoinmunes y alérgicas (Gibert M y col., 2003; Torres-Galván y col., 2000). Según esta clasificación, los alelos DRB1\*01:01, DRB1\*01:02, DRB1\*04:01, DRB1\*04:04, DRB1\*04:05, DRB1\*04:08, DRB1\*10:01, DRB1\*14:02 y los menos frecuentes DRB1\*01:04 y DRB1\*14:21 pertenecerían al mismo grupo funcional 'A', de los 7 grupos establecidos. En nuestra serie, además del aumento de DRB1\*01, también se encuentra ligeramente aumentada la frecuencia de DRB1\*04 y DRB1\*10. A pesar de que no se ha realizado el tipaje de alta resolución, se puede intuir que al pertenecer a este grupo funcional 'A' el 75% de los pacientes con reacción de hipersensibilidad frente a 43,5% de los pacientes sin reacción, un análisis realizado sobre la base de la clasificación funcional de los alelos HLA-DRB1 también detectaría una asociación significativa.

Hasta el momento tan sólo existe un trabajo en la bibliografía que haya estudiado la respuesta celular *in vitro* provocada por NVP, y cuyos resultados confirmarían la implicación de tanto los linfocitos T CD4 como CD8, en las RHS

determinadas por medio de la producción de interferón-gamma medido por ensayos Elispot y de citometría de flujo (Keane NM y col., 2014).

El integrar la determinación de este polimorfismo en la práctica clínica en pacientes que vayan a iniciar tratamiento con EFV o NVP es un tema controvertido. En individuos CYP2B6/\*6/\*6 (516TT) homocigotos se ha planteado iniciar terapia con una dosis reducida de EFV, que podría eliminar muchos de los problemas que a nivel de sistema nervioso central este fármaco produce y también disminuiría el riesgo de desarrollar resistencias (Sukasem C, 2013).

En el presente trabajo, a pesar de la reducida muestra de pacientes con reacciones adversas, encontramos una fuerte asociación a la hora de desarrollar efectos secundarios frente a la NVP en individuos portadores del polimorfismo 516G>T en homocigosis. Por ello, se debiera plantear la cuestión sobre si su determinación previa a la administración sería necesaria. La combinación de la determinación de HLA-DRB1\*01 y CYP2B6\*6 en nuestra serie nos informa de 14/20 pacientes con reacción frente a la NVP en los que con ambas determinaciones podríamos haber establecido el mayor riesgo de padecerlas. Aunque este trabajo se haya centrado en las reacciones frente a NVP, la implantación del polimorfismo CYP2B6 también beneficiaría a aquellos pacientes en tratamiento con EFV en los que ayudaría a la mejor dosificación de este fármaco como ya se ha descrito en estudios previos y que ha demostrado ser coste efectivo (Martín AS y col., 2014).



## **6. CONCLUSIONES**

---





1- La prevalencia del alelo HLA-B\*57:01 en los pacientes con infección por VIH-1 de Gran Canaria es del 5%. Teniendo en cuenta el origen de los pacientes, esta prevalencia es menor en los pacientes no españoles. En los pacientes de origen español la prevalencia es del 6%, muy similar a la publicada en pacientes de otras regiones de España (6,5%).

2- Al analizar las frecuencias genotípicas de HLA-B y HLA-DRB1 en nuestra muestra de pacientes, no se encuentran asociaciones estadísticamente significativas con la susceptibilidad o protección frente a infecciones, sarcoma de Kaposi, y sí se encuentra el alelo HLA-B\*27 en una frecuencia aumentada de forma estadísticamente significativa en pacientes con coinfección por virus VIH-1 y virus de la hepatitis C.

3- Asociaciones previamente descritas de determinados alelos HLA con la progresión de la infección de VIH se reproducen en este estudio determinando la variación del número de linfocitos CD4 a lo largo del tiempo.

4- Se ha encontrado una asociación cercana a la significación estadística del alelo DRB1\*01 con la hipersensibilidad a la nevirapina, que se manifiesta preferentemente como reacciones sistémicas.

5- El genotipo TT del polimorfismo CYP2B6-516 se encuentra asociado con alta significación con la hipersensibilidad a la nevirapina, especialmente con las reacciones cutáneas.

6- De todo lo aquí expuesto, concluimos que la presencia del alelo HLA-DRB1\*01 y especialmente el genotipo TT del polimorfismo CYP2B6-516, parecen jugar un papel relevante en la predisposición a reacciones de hipersensibilidad a la nevirapina en nuestra población. La alta frecuencia en que dichos alelos están presentes en la población de Gran Canaria, hace considerar que ambas determinaciones se deberían realizar en la práctica clínica previa al tratamiento antirretroviral en pacientes con infección por VIH, de la misma forma que ya se viene realizando de manera generalizada con la determinación del alelo HLA-B\*57:01.



## 7 . BIBLIOGRAFÍA

---



Acar K, Akı SZ, Ozkurt ZN, Bozdayı G, Rota S, Türköz Sucak G. Factors Associated with Cytomegalovirus Reactivation Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Human Leukocyte Antigens Might Be Among the Risk Factors. *Turk J Haematol.* 2014; 31:276-285.

Adkins JC, Noble S. Efavirenz. *Drugs.* 1998;56:1055-64.

Aissani B, Boehme AK, Wiener HW, Shrestha S, Jacobson LP, Kaslow RA. SNP screening of central MHC-identified HLA-DMB as a candidate susceptibility gene for HIV-related Kaposi's sarcoma. *Genes Immun.* 2014;15:424-9.

Alcamí J, Laín de Lera T, Folgueira L, Pedraza MA, Jacqué JM, Bachelierie F, Noriega AR, Hay RT, Harrich D, Gaynor RB. Absolute dependence on kappa B responsive elements for initiation and Tat mediated amplification of HIV transcription in blood CD4 T lymphocytes. *EMBO J.* 1995;14:1552–60.

Alcami J, Coiras M. Inmunopatogenia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011; 29 :216–226.

Arenaz I, Vicente J, Fanlo A, Vásquez P, Medina JC, Conde B, González-Andrade F, Sinués B. Haplotype structure and allele frequencies of CYP2B6 in Spaniards and Central Americans. *Fundam Clin Pharmacol.* 2010; 24:247-53.

Arenzana-Seisdedos F. Viral entry as therapeutic target. Current situation of entry inhibitors. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26:5–11.

Arnaiz-Villena A, Reguera R, Ferri A, Barbolla L, Abd-El-Fatah-Khalil S, Bakhtiyarova N, Millan P, Moscoso J, Mafalda A, Serrano-Vela JI. The peopling of Madeira Archipelago (Portugal) according to HLA genes. *Int J Immunogenet.* 2009; 36:9-14.

Arrizabalaga J, Rodríguez-Alcántara F, Castañer JL, Ocampo A, Podzamczak D, Pulido F, Riera M, Sanz J, Pascual-Bernaldez M, Dal-Re R; EPI109839 Study Group. Prevalence of HLA-B\*5701 in HIV-infected patients in Spain (results of the EPI Study). *HIV Clin Trials*. 2009; 10:48-51.

Baltimore D. Viral-RNA dependent DNA polymerase. *Nature*. 1970; 226:1209-11.

Barco EÁ, Rodríguez Nóvoa S. The Pharmacogenetics of HIV Treatment: A Practical Clinical Approach. *J Pharmacogenom Pharmacoproteomics*. 2013; 4:116-

Barner A, Myers M. Nevirapine and rashes. *Lancet* 1998; 351:1133-

Barre-Sinoussi F. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983; 220:868-71.

Blackwell JM, Jamieson SE, Burgner D. HLA and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2009; 22:370-85.

Blanco G, Josien R, Douillard D, Bignon JD, Cesbron A, Souillou JP. The influence of HLA A-B-DR matching on cytomegalovirus disease after renal transplantation: evidence that HLA-DR7-matched recipients are more susceptible to cytomegalovirus disease. *Transplantation*. 1992; 54:871-874.

Blanpain C, Migeotte I, Lee B, Vakili J, Doranz BJ, Govaerts C, Vassart G, Doms RW, Parmentier M. CCR5 binds multiple CC-chemokines: MCP-3 acts as a natural antagonist. *Blood*. 1999; 94:1899-1905.

Brumme ZL, Chopera DR, Brockman MA. Modulation of HIV reservoirs by host HLA: bridging the gap between vaccine and cure. *Current Opinion in Virology*. 2012; 2:599-605.

Buttó S, Suligoi B, Fanales-Belasio E, Raimondo M. Laboratory diagnostics for HIV infection. *Ann Ist Super Sanità*. 2010; 46:24–33.

Cargnin S, Jommi C, Canonico PL, Genazzani AA, Terrazzino S. Diagnostic accuracy of HLA-B\*57:01 screening for the prediction of abacavir hypersensitivity and clinical utility of the test: a meta-analytic review. *Pharmacogenomics*. 2014; 7:963-76.

Carrington M, Dean M, Martin MP, O'Brien SJ. Genetics of HIV-1 infection: chemokine receptor CCR5 polymorphism and its consequences. *Human Molecular Genetics*, 1999; 8:1939-1945.

Chantarangsu S, Mushiroda T, Mahasirimongkol S, Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, Manosuthi W, Tantisiriwat W, Charoenyingwattana A, Sura T, Chantratita W, Nakamura Y. HLA-B\*3505 allele is a strong predictor for nevirapine-induced skin adverse drug reactions in HIV-infected Thai patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2009; 19:139-46.

Chantarangsu S, Mushiroda T, Mahasirimongkol S, Kiertiburanakul S, Sungkanuparph S, Manosuthi W, Tantisiriwat W, Charoenyingwattana A, Sura T, Takahashi A, Kubo M, Kamatani N, Chantratita W, Nakamura Y. Genome-wide association study identifies variations in 6p21.3 associated with nevirapine-induced rash. *Clin Infect Dis*. 2011; 53:341-8.

Chen Y, Rocha V, Bittencourt H, Scieux C, Loiseau P, Espérou H, Devergie A, Guardiola P, Socié G, Chevret S, Charron D, Gluckman E, Ribaud P. Relationship between HLA alleles and cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Blood*. 2001; 98:500-1.

Chessman D, Kostenko L, Lethborg T, Purcell AW, Williamson NA, Chen Z, Kjer-Nielsen L, Mifsud NA, Tait BD, Holdsworth R, Almeida CA, Nolan D, Macdonald WA, Archbold JK, Kellerher AD, Marriott D, Mallal S, Bharadwaj M,

Rossjohn J, McCluskey J. Human leukocyte antigen class I-restricted activation of CD8+ T cells provides the immunogenetic basis of a systemic drug hypersensitivity. *Immunity*. 2008; 6:822-32.

Coiras M, López-Huertas MR, Sánchez del Cojo M, Mateos E, Alcamí J. Dual role of host cell factors in HIV-1 replication: restriction and enhancement of the viral cycle. *AIDS Rev*. 2010; 12:103–12

Collins KL, Chen BK, Kalams SA, Walker BD, Baltimore D. HIV-1 Nef protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature*. 1998; 391:397–401.

Colombo S, Rauch A, Rotger M, Fellay J, Martinez R, Fux C, Thurnheer C, Günthard HF, Goldstein DB, Furrer H, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. The HCP5 single-nucleotide polymorphism: a simple screening tool for prediction of hypersensitivity reaction to abacavir. *J Infect Dis* 2008; 198: 864-867.

Cornejo Castro EM, Carr DF, Jorgensen AL, Alfirevic A, Pirmohamed M. HLA-alleleotype associations with nevirapine-induced hypersensitivity reactions and hepatotoxicity: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Pharmacogenet Genomics*. 2015; 25:186-98

Crovella S, Biller L, Santos S, Salustiano A, Brandao L, Guimaraes R, Segat L, Lima Filho JL, Arraes LC. Frequency of HLA B\*5701 allele carriers in abacavir treated-HIV infected patients and controls from northeastern *Brazil*. *Clinics*. 2011; 66:1485-1488.

Deeks SG, Walker BD. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. *Immunity*. 2007; 27:406-16.

Delgado JC, Baena A, Thim S, Goldfeld AE. Ethnic-specific genetic associations with pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis*. 2002; 186:1463-8.



Delgado R. Características virológicas del VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29:58–65.

Donfack J, Tsalenko A, Hoki DM, Parry R, Solway J, Leser L, Ober C: HLA-DRB1\*01 alleles are associated with sensitization to cockroach allergens. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 960-966

Du J, Liu J, Gu J, Zhu P. HLA-DRB1\*09 is associated with increased incidence of cytomegalovirus infection and disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13:1417-21.

Duarte R, Carvalho C, Pereira C, Bettencourt A, Carvalho A, Villar M, Domingos A, Barros H, Marques J, Pinho Costa P, Mendonça D, Martins B. HLA class II alleles as markers of tuberculosis susceptibility and resistance. *Rev Port Pneumol*. 2011; 17:15-9.

Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Butto S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanita*. 2010; 46:5–14.

Flores C, Maca-Meyer N, Pérez JA, González AM, Larruga JM, Cabrera VM. A predominant European ancestry of paternal lineages from Canary Islanders. *Ann Hum Genet* 2003; 67:138-152.

Flores-Villanueva PO, Yunis EJ, Delgado JC, Vittinghoff E, Buchbinder S, Leung JY, Ugliero AM, Clavijo OP, Rosenberg ES, Kalams SA, Braun JD, Boswell SL, Walker BD, Goldfeld AE. Control of HIV-1 viremia and protection from AIDS are associated with HLA-Bw4 homozygosity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98:5140-5.

Friedman-Kien AE, Laubenstein LJ, Rubinstein P, Buimovici-Klein E, Marmor M, Stahl R, Spigland I, Kim KS, Zolla-Pazner S. Disseminated Kaposi's

sarcoma in homosexual men. *Ann Intern Med.* 1982; 96:693-700.

Galván CA, Elbarcha OC, Fernández EJ, Beltramo DM, Soria NW. Rapid HCP5 single-nucleotide polymorphism genotyping: a simple allele-specific PCR method for prediction of hypersensitivity reaction to Abacavir. *Clin Chim Acta.* 2011; 412:1382-1384.

Gao F, Bailes E, Robertson DL, Chen Y, Rodenburg CM, Michael SF, Cummins LB, Arthur LO, Peeters M, Shaw GM, Sharp PM, Hahn BH. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature.* 1999; 397:436–41.

Gao X, Nelson GW, Karacki P, Martin MP, Phair J, Kaslow R, Goedert JJ, Buchbinder S, Hoots K, Vlahov D, O'Brien SJ, Carrington M. Effect of a single amino acid change in MHC class I molecules on the rate of progression to AIDS. *N Engl J Med.* 2001; 344:1668-75.

García-Laorden MI, Manzanedo A, Figuerola A, Sánchez-García F, Rodríguez-Gallego C. Mannose-binding lectin polymorphisms in a Canary Islands (Spain) population. *Genes Immun.* 2001; 2:292-294.

Gatanaga H, Yazaki H, Tanuma J, Honda M, Genka I, Teruya K, Tachikawa N, Kikuchi Y, Oka S. HLA-Cw8 primarily associated with hypersensitivity to nevirapine. *AIDS* 2007; 21: 264-5.

Gell, PGH, Coombs, RRA (1963). *The classification of allergic reactions underlying disease*. London: Blackwell .

Gheuens S, Fellay J, Goldstein DB, Koralnik IJ. Role of human leukocyte antigen class I alleles in progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neurovirol.* 2010; 1:41-7.

Gibert M, Balandraud N, Touinssi M, Mercier P, Roudier J, Reviron D. Functional categorization of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis: the

protective effect. *Hum Immunol.* 2003; 64:930-5

Gorry PR, Zhang C, Wu S, Kunstman K, Trachtenberg E, Phair J, Wolinsky S, Gabuzda D. Persistence of dual-tropic HIV-1 in an individual homozygous for the *CCR5*  $\Delta$  32 allele. *Lancet.* 2002; 359:1832-1834

Goulder PJR, Walker BD. HIV and HLA Class I: An Evolving Relationship. *Immunity.* 2012; 37:426-440.

Haas DW, Ribaud HJ, Kim RB, Tierney C, Wilkinson GR, Gulick RM, Clifford DB, Hulgand T, Marzolini C, Acosta EP. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS.* 2004; 18:2391–2400.

Haas DW, Gebretsadik T, Mayo G, Menon UN, Acosta EP, Shintani A, Floyd M, Stein CM, Wilkinson GRA. Associations between CYP2B6 polymorphisms and pharmacokinetics after a single dose of nevirapine or efavirenz in African americans. *J Infect Dis.* 2009; 199:872-80.

Haas DW, Mootsikapun P, Ruxrungtham K, Podzamczar D; Nevirapine Toxicogenomics Study Team. Clinical perspectives on human genetic screening to prevent nevirapine toxicity. *Per Med.* 2012 ; 9:773-782.

Habegger de Sorrentino A, López R, Motta P, Marinic K, Sorrentino A, Iliovich E, Rubio AE, Quarleri J, Salomón H. HLA class II involvement in HIV-associated Toxoplasmic encephalitis development. *Clin Immunol.* 2005; 115:133-7.

Habegger de Sorrentino A, Pardo R, Marinic K, Duarte SC, Lotero C. KIR-HLA clase i y tuberculosis pulmonar en población amerindia del Chaco, Argentina. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014; 32:565-9

Halonen M, Eskelin P, Myhre AG, Perheentupa J, Husebye ES, Kämpe O, Rorsman F, Peltonen L, Ulmanen I, Partanen J. AIRE mutations and human

leukocyte antigen genotypes as determinants of the autoimmune polyendocrinopathy-candidosis-ectodermal dystrophy phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87:2568-74.

Harrer EG, Bergmann S, Eismann K, Rittmaier M, Goldwisch A, Müller SM, Spriewald BM, Harrer T. A conserved HLA B13-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope in Nef is a dominant epitope in HLA B13-positive HIV-1-infected patients. *AIDS.* 2005; 19:734-5.

Hassanhi MS, Rivera SE, Fuenmayor AM, Márquez GC, Salas D, de Avila LM, Sanabria A, de Ruiz Z. Relationship between HLA antigens and the HIV infection in patients from the state of Zulia. *Sangre (Barc).* 1995;2:109-13

Henry A. F. Stephens. HIV-1 diversity versus HLA class I polymorphism. *Trends Immunol.* 2005; 26:41-7

Hervey PS, Perry CM. Abacavir: a review of its clinical potential in patients with HIV infection. *Drugs.* 2000; 60:447-79

Hetherington S, Hughes AR, Mosteller M, Shortino D, Baker KL, Spreen W, Lai E, Davies K, Handley A, Dow DJ, Fling ME, Stocum M, Bowman C, Thurmond LM, Roses AD. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet.* 2002; 359:1121-1122.

Hraber P, Kuiken C, Yusim K. Evidence for human leukocyte antigen heterozygote advantage against hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2007; 46: 1713–1721.

Huang L, Crothers K. HIV-associated opportunistic pneumonias. *Respirology* 2009; 14: 474-485 .

Huang X, Ling H, Feng L, Ding X, Zhou Q, Han M, Mao W, Xiong H. Human leukocyte antigen profile in HIV-1 infected individuals and AIDS patients from Chongqing, China. *Microbiol Immunol.* 2009; 53: 512-523.

Hughes DA, Vilar FJ, Ward CC, Alfirevic A, Park BK, Pirmohamed M. Cost-effectiveness analysis of HLA B\*5701 genotyping in preventing abacavir hypersensitivity. *Pharmacogenetics*. 2004; 14: 335–342.

Illing PT, Vivian JP, Dudek NL, Kostenko L, Chen Z, Bharadwaj M, Miles JJ, Kjer-Nielsen L, Gras S, Williamson NA, Burrows SR, Purcell AW, Rossjohn J, McCluskey J. Immune self-reactivity triggered by drug-modified HLA-peptide repertoire. *Nature*. 2012; 486: 554-8.

International HIV Controllers Study et al. The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. *Science*. 2010; 6010: 1551-7.

Jaén A, Esteve A, Miro JM, Tural C, Montoliu A, Ferrer E, Riera M, Segura F, Force L, Sued O, Vilaró J, García I, Masabeu A, Altès J, Coltet B, Podzamczak D, Murillas J, Navarro G, Gatell JM, Casabona J; PISCIS Study Group. Determinants of HIV progression and assessment of the optimal time to initiate highly active antiretroviral therapy: PISCIS Cohort (Spain). *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008; 47: 212–20.

Jagannathan L, Chaturvedi M, Satish B, Satish KS, Desai A, Subbakrishna DK, Satishchandra P, Pitchappan R, Balakrishnan K, Kondaiah P, Ravi V. HLA-B57 and gender influence the occurrence of tuberculosis in HIV infected people of south India. *Clin Dev Immunol*. 2011; 2011:549023.

Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. (2003). Respuestas innatas inducidas contra la infección. En: *Inmunobiología* (2ª ed.). Barcelona: Masson.

Jeannot M, Sztajzel R, Carpentier N, Hirschel B, Tiercy JM. HLA antigens are risk factors for development of AIDS. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1989; 2:28-32.

Jiang ZF, An JB, Sun YP, Mittal KK, Lee TD. Association of HLABw35 with tuberculosis in the Chinese. *Tissue Antigens*. 1983; 22:86–8.

Julg B, Moodley ES, Qi Y, Ramduth D, Reddy S, Mncube Z, Gao X, Goulder PJ, Detels R, Ndung'u T, Walker BD, Carrington M. Possession of HLA class II DRB1\*1303 associates with reduced viral loads in chronic HIV-1 clade C and B infection. *J Infect Dis*. 2011; 6:803-9.

Kaslow RA, Carrington M, Apple R, Park L, Muñoz A, Saah AJ, Goedert JJ, Winkler C, O'Brien SJ, Rinaldo C, Detels R, Blattner W, Phair J, Erlich H, Mann DL. Influence of combinations of human major histocompatibility complex genes on the course of HIV-1 infection. *Nat Med*. 1996; 2:405–411.

Kawai J, Ando A, Sato T, Nakatsuji T, Tsuji K, Inoko H. Analysis of gene structure and antigen determinants of DR2 antigens using Dr gene transfer into mouse L cells. *J Immunol*. 1989; 142:312-317

Kawashima Y, Pfafferott K, Frater J, Matthews P, Payne R, Addo M, Gatanaga H, Fujiwara M, Hachiya A, Koizumi H, Kuse N, Oka S, Duda A, Prendergast A, Crawford H, Leslie A, Brumme Z, Brumme C, Allen T, Brander C, Kaslow R, Tang J, Hunter E, Allen S, Mulenga J, Branch S, Roach T, John M, Mallal S, Ogwu A, Shapiro R, Prado JG, Fidler S, Weber J, Pybus OG, Klenerman P, Ndung'u T, Phillips R, Heckerman D, Harrigan PR, Walker BD, Takiguchi M, Goulder P. Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I. *Nature*. 2009; 458: 641-5.

Keane NM, Pavlos RK, McKinnon E, Lucas A, Rive C, Blyth CC, Dunn D, Lucas M, Mallal S, Phillips E. HLA Class I restricted CD8+ and Class II restricted CD4+ T cells are implicated in the pathogenesis of nevirapine hypersensitivity. *AIDS*. 2014; 28:1891-901.

Keele BF, Van Heuverswyn F, Li Y, Bailes E, Takehisa J, Santiago ML, Bibollet-Ruche F, Chen Y, Wain LV, Liegeois F, Loul S, Ngole EM, Bienvenue Y, Delaporte E, Brookfield JF, Sharp PM, Shaw GM, Peeters M, Hahn BH.

Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1. *Science*. 2006; 313:523–6.

Kiepiela P, Leslie AJ, Honeyborne I, Ramduth D, Thobakgale C, Chetty S, Rathnavalu P, Moore C, Pfafferott KJ, Hilton L, Zimbwa P, Moore S, Allen T, Brander C, Addo MM, Altfeld M, James I, Mallal S, Bunce M, Barber LD, Szinger J, Day C, Klenerman P, Mullins J, Korber B, Coovadia HM, Walker BD, Goulder PJ. Dominant influence of HLA-B in mediating the potential co-evolution of HIV and HLA. *Nature*. 2004; 432: 769-75.

Kim AY, Kuntzen T, Timm J, Nolan BE, Baca MA, Reyor LL, Berical AC, Feller AJ, Johnson KL, Schulze zur Wiesch J, Robbins GK, Chung RT, Walker BD, Carrington M, Allen TM, Lauer GM. Spontaneous control of HCV is associated with expression of HLA-B-57 and preservation of targeted epitopes. *Gastroenterology*. 2011; 140:686–696.

Klein MR, Keet IP, D'Amaro J, Bende RJ, Hekman A, Mesman B, Koot M, de Waal LP, Coutinho RA, Miedema F. Associations between HLA frequencies and pathogenic features of human immunodeficiency virus type 1 infection in seroconverters from the Amsterdam cohort of homosexual men. *J Infect Dis*. 1994; 169: 1244-9.

Klingerberg M. Pigments of rat liver microsomes. *Arch Biochem Biophys*. 1958; 75:376-86.

Kraat YJ, Christiaans MHL, Nieman FHM, van den Berg-Loonen PM, van Hooff JP, Bruggeman CA. Increased frequency of CMV infection in HLA-DR7 matched renal allograft recipients. *Lancet*. 1993; 341:494-495

Kuniholm MH, Gao X, Xue X, Kovacs A, Marti D, Thio CL, Peters MG, Greenblatt RM, Goedert JJ, Cohen MH, Minkoff H, Gange SJ, Anastos K, Fazzari M, Young MA, Strickler HD, Carrington M. The relation of HLA genotype to hepatitis C viral load and markers of liver fibrosis in HIV-infected and HIV-uninfected women. *J Infect Dis*. 2011; 203:1807-14.

Kuniholm MH, Kovacs A, Gao X, Xue X, Marti D, Thio CL, Peters MG, Terrault NA, Greenblatt RM, Goedert JJ, Cohen MH, Minkoff H, Gange SJ, Anastos K, Fazzari M, Harris TG, Young MA, Strickler HD, Carrington M. Specific human leukocyte antigen class I and II alleles associated with hepatitis C virus viremia. *Hepatology* 2010; 51:1514–1522.

Lakshmi V, Rakh S, Radha BA, Hari Sai Priya V, Pantula V, Jastyi S, Suman Latha G, Murthy KJ. Role of HLA-B51 and HLA-B52 in susceptibility to pulmonary tuberculosis. *Infect Genet Evol.* 2006; 6:436–9.

Laurichesse JJ, Taieb A, Capoulade-Metay C, Katlama C, Villes V, Drobacheff-Thiebaud MC, Raffi F, Chêne G, Theodorou I, Leport C; ANRS C08 Aproco-Copilote Study Group. Is long-term virological response related to CCR5  $\Delta$ 32 deletion in HIV-1-infected patients started on highly active antiretroviral therapy? *HIV Med.* 2010; 11:239–244.

Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, Uttayamakul S, Prasithsirikul W, Tunthanathip P, Nakayama EE, Shioda T. HLA-Cw\*04 allele associated with nevirapine-induced rash in HIV-infected Thai patients. *AIDS Res Ther.* 2009; 6:22.

Littera R, Carcassi C, Masala A, Piano P, Serra P, Ortu F, Corso N, Casula B, La Nasa G, Contu L, Manconi PE. HLA-dependent hypersensitivity to nevirapine in Sardinian HIV patients. *AIDS.* 2006; 20:1621–1626.

Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, MacDonald ME, Stuhlmann H, Koup RA, Landau NR. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell.* 1996; 86:367-377.

López-Vázquez A, Miña-Blanco A, Martínez-Borra J, Njobvu PD, Suárez-Álvarez B, Blanco-Gelaz MA, González S, Rodrigo L, López-Larrea C.



Interaction between KIR3DL1 and HLA-B\*57 supertype alleles influences the progression of HIV-1 infection in a Zambian population. *Hum Immunol.* 2005 ; 66:285-9

Lucas A, Nolan D, Mallal S. HLA-B\*5701 screening for susceptibility to abacavir hypersensitivity. *J Antimicrob Chemother.* 2007; 59:591-593.

Lucotte G, Distribution of the CCR5 gene 32-bp deletion in West Europe. A hypothesis about the possible dispersion of the mutation by the Vikings in historical times. *Hum. Immunol.* 2001; 62 :933–936.

Ma L, Marmor M, Zhong P, Ewane L, Su B, Nyambi P: Distribution of CCR2-64I and SDF1-3'A Alleles and HIV Status in 7 Ethnic Populations of Cameroon. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005; 40:89–95.

Mahungu T, Smith C, Turner F, Egan D, Youle M, Johnson M, Khoo S, Back DJ, Owen A. Cytochrome P450 2B6 516G-T is associated with plasma concentrations of nevirapine at both 200 mg twice daily and 400 mg once daily in an ethnically diverse population. *HIV Med* 2009; 10:310–317.

Malavige GN, Rostron T, Rohanachandra LT, Jayaratne SD, Fernando N, De Silva AD, Liyanage M, Ogg G. HLA class I and class II associations in dengue viral infections in a Sri Lankan population. *PLoS One.* 2011; 6:e20581.

Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C, Sayer D, Castley A, Mamotte C, Maxwell D, James I, Christiansen FT. Association between presence of HLA-B\*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet.* 2002; 359:727-32.

Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, Tomazic J, Jägel-Guedes E, Rugina S, Kozyrev O, Cid JF, Hay P, Nolan D, Hughes S, Hughes A, Ryan S, Fitch N, Thorborn D, Benbow A; PREDICT-1 Study Team. HLA-B\*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med.* 2008; 358: 568-579.

Mann DL, Murray C, O'Donnell M, Blattner WA, Goedert JJ. HLA antigen frequencies in HIV-1-related Kaposi's sarcoma. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1990; 3 Suppl 1: S51-5.

Marquet S, Sánchez FO, Arias M, Rodríguez J, París SC, Skamene E, Schurr E, García LF. Variants of the human NRAMP1 gene and altered human immunodeficiency virus infection susceptibility. *J Infect Dis*. 1999; 5:1521-5.

Marsh SGE, Bodmer JG. HLA class II region nucleotide sequences. *Tissue Antigens* 1995; 45: 258-280.

Martin AM, Nolan D, James I, Cameron P, Keller J, Moore C, Phillips E, Christiansen FT, Mallal S. Predisposition to nevirapine hypersensitivity associated with HLA-DRB1\*0101 and abrogated by low CD4 T-cell counts. *AIDS* 2005; 19:97-99.

Martín AS, Gómez AI, García-Berrocal B, Figueroa SC, Sánchez MC, Calvo Hernández MV, Gonzalez-Buitrago JM, Valverde Merino MP, Tovar CB, Martín AF, Isidoro-García M. Dose reduction of efavirenz: an observational study describing cost-effectiveness, pharmacokinetics and pharmacogenetics *Pharmacogenomics*. 2014; 15:997-1006.

Martinson JJ, Chapman NH, Rees DC, Liu YT, Clegg JB. Global distribution of the CCR5 gene 32-basepair deletion. *Nat Genet*. 1997; 16:100-103.

McNicholl J. Host Genes and HIV: The Role of the Chemokine Receptor Gene CCR5 and Its Allele. *Emerging Infectious Diseases*. 1997; 3: 261-271.

Mehlotra RK, Bockarie MJ, Zimmerman PA. CYP2B6 983T.C polymorphism is prevalent in West Africa but absent in Papua New Guinea: implications for HIV/AIDS treatment. *Br J Clin Pharmacol*. 2007; 64:391–395.

Michael NL, Nelson JA, Kewal Ramani VN, Chang G, O'Brien SJ,

Mascola JR, Volsky B, Louder M, White GC 2nd, Littman DR, Swanstrom R, O'Brien TR. Exclusive and persistent use of the entry correceptor CXCR4 by human immunodeficiency virus type 1 from a subject homozygous for *CCR5* delta32. *J Virol*. 1998; 72: 6040-6047.

Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad y Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III, ISIII. Vigilancia epidemiológica del VIH/SIDA en España. Registro nacional de casos de sida. Actualización junio 2014.

Neil SJ, Zang T, Bieniasz PD. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature*. 2008; 451:425–30.

Nelson GW, Kaslow R, Mann DL. Frequency of HLA allele-specific peptide motifs in HIV-1 proteins correlates with the allele's association with relative rates of disease progression after HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 94: 9802-9807.

Nieves Calatrava D, Calle-Martín L, Iribarren-Loyarte JA, Rivero-Román A, García-Bujalance L, Pérez-Escolano I, Brosa-Riestra M. Cost-effectiveness analysis of HLA-B\*5701 typing in the prevention of hypersensitivity to abacavir in HIV+ patients in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28: 590-595.

Norcross MA, Luo S, Lu L, Boyne MT, Gomarteli M, Rennels AD, Woodcock J, Margulies DH, McMurtrey C, Vernon S, Hildebrand WH, Buchli R. Abacavir induces loading of novel self-peptides into HLA-B\*57: 01: an autoimmune model for HLA-associated drug hypersensitivity. *AIDS*. 2012; 26:F21-9.

Nyakutira C, Roshammar D, Chigutsa E, Chonzi P, Ashton M, Nhachi C, Masimirembwa C. High prevalence of the CYP2B6 516G→T(\*6) variant and effect on the population pharmacokinetics of efavirenz in HIV/AIDS outpatients in Zimbabwe. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008;64:357–365.

O'Brien SJ, Gao X, Carrington M. HLA and AIDS: a cautionary tale.

*Trends Mol. Med.* 2001; 7:379–381.

Orkin C, Wang J, Bergin C, Molina JM, Lazzarin A, Cavassini M, Esser S, Gómez Sirvent JL, Pearce H. An epidemiologic study to determine the prevalence of the HLA-B\*5701 allele among HIV-positive patients in Europe. *Pharmacogenet Genomics.* 2010; 20: 307-314.

Orkin C, Sadiq ST, Rice L, Jackson F. Prospective epidemiological study of the prevalence of human leukocyte antigen (HLA)-B\*5701 in HIV-1-infected UK subjects. *HIV Medicine* 2010; 11: 187-192.

Ostrov DA, Grant BJ, Pompeu YA, Sidney J, Harndahl M, Southwood S, Oseroff C, Lu S, Jakoncic J, de Oliveira CA, Yang L, Mei H, Shi L, Shabanowitz J, English AM, Wriston A, Lucas A, Phillips E, Mallal S, Grey HM, Sette A, Hunt DF, Buus S, Peters B. Drug hypersensitivity caused by alteration of the MHC-presented self-peptide repertoire. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109: 9959-64.

Ou D, Mitchell LA, Tingle AJ. A new categorization of HLA-DR alleles on a functional basis. *Human Immunol* 1998; 59: 665-676.

Palazón JF. Cofactores genéticos del huésped en la vulnerabilidad a la infección por VIH-1 y progresión del sida. *AIDS Cyber J.* 2003; 6: 15-24.

Park WB, Choe PG, Song KH, Lee S, Jang HC, Jeon JH, Park SW, Park MH, Oh MD, Choe KW. Should HLA-B\*5701 screening be performed in every ethnic group before starting abacavir?. *Clin Infect Dis.* 2009; 48: 365-367.

Pavlos R, Rive C, McKinnon E, Ostrov D, Peters B, Yuan J, Gaudieri S, Haas D, Mallal S, Phillips EJ. Specific binding characteristics of HLA alleles associate with nevirapine hypersensitivity. *Poster presentation, Conference on retrovirus and opportunistic infections 2014.* DOI: 10.13140/RG.2.1.1206.1287.

Pavlos R, Mallal S, Ostrov D, Buus S, Metushi I, Peters B, Philips E. T

Cell-Mediated Hypersensitivity Reactions to Drugs. *Annu Rev Med.* 2015 14; 66:439-454.

Phillips E, Lucas M, Keane N, Lucas A, McKinnon E, Mallal S. HLA-B\*35 is associated with nevirapine hypersensitivity in the contemporary Western Australian HIV cohort study. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2010; 42:48.

Philips KA, Veenstra DL, Oren E, Lee JK, Sadee W. Potential role of pharmacogenomics in reducing adverse drug reactions: a systematic review. *JAMA.* 2001; 286:2270-9.

Pinto F, Cabrera VM, González AM, Larruga JM, Noya A, Hernández M. Human enzyme polymorphism in the Canary Islands. VI. Northwest African influence. *Hum Hered.* 1994; 44:156-161.

Plan multisectorial frente a la infección del VIH y el sida. España. 2008-2012. Ministerio de Sanidad y Consumo, 2008.

Poggi H, Vera A, Lagos M, Solari S, Rodríguez P L, Pérez CM. HLA-B\*5701 frequency in Chilean HIV-infected patients and in general population. *Braz J Infect Dis.* 2010; 14: 510-512.

Pollack MS, Safai B, Myskowski PL, Gold JW, Pandey J, Dupont B. Frequencies of HLA and Gm immunogenetic markers in Kaposi's sarcoma. *Tissue Antigens.* 1983; 21:1-8.

Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo RC. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retrovirus (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science.* 1984; 224:497-500.

Public Health England. HIV surveillance systems. Longitudinal analysis of the trajectories of CD4 cell count. (2008) Disponible en: <http://www.gov.uk/guidance/hiv-surveillance-systems>.

Raghavan S, Sel araj P, Swaminathan S, Alagarasu K, Narendran G, Narayanan PR. Haplotype analysis of HLA-A, -B antigens and -DRB1 alleles in south Indian HIV-1-infected patients with and without pulmonary tuberculosis. *Int J Immunogenet.* 2009; 36:129-33.

Rakhmanina NY, van den Anker JN. Efavirenz in the therapy of HIV infection. *Expert Opin Metab Drug Metab Toxicol.* 2010;6: 95-103.

Ranasinghe, S., Cutler, S., Davis, I., Lu, R., Soghoian, D. Z., Qi, Y., Sidney J, Kranias G, Flanders M, Lindqvist M, Kuhl B, Alter G, Deeks SG, Walker BD, Gao X, Sette A, Carrington M, Streeck, H. Association of HLA-DRB1–restricted CD4<sup>+</sup> T cell responses with HIV immune control. *Nature Medicine.* 2013; 19: 930-933.

Rando JC, Cabrera VM, Larruga JM, Hernández m, González AM, Pinto F, Bandelt HJ. Phylogeographic patterns of mtDNA reflecting the colonization of the Canary Islands. *Ann Hum Genet.* 1999; 63:413-428.

Rauch A, Nolan D, Martin A, McKinnon E, Almeida C, Mallal S. Prospective genetic screening decreases the incidence of abacavir hypersensitivity reactions in the Western Australian HIV cohort study. *Clin Infect Dis.* 2006; 43:99-102.

Raychaudhuri S, Morrow WJ. Can soluble antigens induce CD8+ cytotoxic T-cell responses? A paradox revisited. *Immunol Today* 1993; 14:344-8.

Rodríguez-Da Silva A, Miralles C, Ocampo A, Valverde D. Estudio de la prevalencia de marcadores genéticos asociados a la lenta progresión del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 en la población gallega. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2015.

Rodríguez-Novoa S, Barreiro P, Rendón A, Jiménez-Nacher I, González-Lahoz J, Soriano V. Influence of 516G>T polymorphisms at the gene encoding the CYP450-2B6 isoenzyme on efavirenz plasma concentrations in HIV-infected subjects. *Clin Infect Dis*. 2005; 40:1358-61.

Rollini P, Mach B, Gorski J. Linkage map of three HLA-DR beta-chain genes: evidence for a recent duplication event. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985; 82:7197-7201.

Rotger M, Colombo S, Furrer H, Bleiber G, Buclin T, Lee BL, Keiser O, Biollaz J, Décosterd L, Telenti A; Swiss HIV Cohort Study. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2005; 15:1-5.

Sabeti PC, Walsh E, Schaffner SF, Varilly P, Fry B, Hutcheson HB, Cullen M, Mikkelsen ST, Roy J, Patterson N, Cooper R, Reich D, Altshuler D, O'Brien S, Lander ES. The case for selection at CCR5-Delta32. *PLoS Biol*. 2005; 3: e378.

Salgado M, Rallón NI, Rodés B, López M, Soriano V, Benito JM. Long-term non-progressors display a greater number of Th17 cells than HIV-infected typical progressors. *Clin Immunol*. 2011; 139:110-4.

Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, Saragosti S, Lapoumeroulie C, Cognaux J, Forceille C, Muyldermans G, Verhofstede C, Burtonboy G, Georges M, Imai T, Rana S, Yi Y, Smyth RJ, Collman RG, Doms RW, Vassart G, Parmentier M. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gen. *Nature*. 1996; 382:722-5.

Sánchez-Girón F, Villegas-Torres B, Jaramillo-Villafuerte K, Silva-Zolezzi I, Fernández-López JC, Jiménez-Sánchez G, Carnevale A. Association of the genetic marker for abacavir hypersensitivity HLA-B\*5701 with HCP5 rs2395029

in Mexican Mestizos. *Pharmacogenomics*. 2011; 12:809-814.

Sanne I, Mommeja-Marin H, Hinkle J, Bartlett JA, Lederman MM, Maartens G, Wakeford C, Shaw A, Quinn J, Gish RG, Rousseau F. Severe hepatotoxicity associated with nevirapine use in HIV-infected subjects. *J Infect Dis*. 2005; 191:825-9.

Santiago C, Bandrés F, Gómez-Gallego F. Polimorfismos de Citocromo P450: Papel como marcador Biológico. *Med Trabajo*. 2002; 11:130-40.

Schackman BR, Scott CA, Walensky RP, Losina E, Freedberg KA, Sax PE. The cost-effectiveness of HLA-B\*5701 genetic screening to guide initial antiretroviral therapy for HIV. *AIDS*. 2008; 22:2025-2033.

Scorza Smeraldi R, Fabio G, Lazzarin A, Eisera NB, Moroni M, Zanussi C. HLA-associated susceptibility to acquired immunodeficiency syndrome in Italian patients with human-immunodeficiency-virus infection. *Lancet*. 1986;2:1187-9.

Shankarkumar U, Pawar A, Ghosh K, Bajpai S, Pazare A. Human leucocyte antigen class II DRB1 and DQB1 associations in human immunodeficiency virus-infected patients of Mumbai, India. *J Immunogenet*. 2010; 3:199-204.

Singh SP, Mehra NK, Dingley HB, Pande JN, Vaidya MC. Human leukocyte antigen (HLA)-linked control of susceptibility to pulmonary tuberculosis and association with HLA-DR types. *J Infect Dis*. 1983; 148:676-681.

Singh R, Kaul R, Kaul A, Khan K. A comparative review of HLA associations with hepatitis B and C viral infections across global populations. *World J Gastroenterol*. 2007; 13:1770-87.



Stern JO, Robinson PA, Love J, Lane S, Imperiale MS, Mayers DL. A comprehensive hepatic safety analysis of nevirapine in different populations of HIV infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003; 34:S21-33.

Strichman-Almashanu L, Weltfriend S, Gideoni O, Friedman-Birnbaum R, Pollack S. No significant association between HLA antigens and classic kaposi sarcoma: Molecular analysis of 49 jewish patients. *J Clin Immunol*. 1995; 15:205-209.

Sukasem C, Sungkanuparph S. Would a CYP2B6 test help HIV patients being treated with efavirenz? *Pharmacogenomics*. 2013; 9:999-1001.

Sundqvist E, Buck D, Warnke C, Albrecht E, Gieger C, Khademi M, Lima Bomfim I, Fogdell-Hahn A, Link J, Alfredsson L, Søndergaard HB, Hillert J; International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Oturai AB, Hemmer B, Kockum I, Olsson T. JC polyomavirus infection is strongly controlled by human leucocyte antigen class II variants. *PLoS Pathog*. 2014; 10:e1004084.

Svejgaard A, Ryder LP. HLA and disease associations: detecting the strongest association. *Tissue Antigens*. 1994; 43:18-27.

Tang J, Costello C, Keet IP, Rivers C, Leblanc S, Karita E, Allen S, Kaslow RA. HLA class I homozygosity accelerates disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1999; 15:317-24.

Tebourski F, Slim A, Elgaaied A. The significance of combining World Health Organization and Center for Disease Control criteria to resolve indeterminate human immunodeficiency virus tipe-1 Western blot results. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004; 48: 59–61.

Tejera Gaspar A (1992). La prehistoria de Canarias. En *Tenerife y los guanches*. Santa Cruz de Tenerife: Centro de la Cultura Popular Canaria.

Temin H, Mizutani S. RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. *Nature*. 1970; 226:1211–3.

Teixeira SL, Bastos FI, Hacker MA, Morgado MG. Distribution of CCR5 genotypes and HLA Class I B alleles in HIV-1 infected and uninfected injecting drug users from Rio de Janeiro, Brazil. *Infect Genet Evol*. 2009; 4: 638-42.

The International HIV Controllers Study. The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. *Science*. 2010; 330: 1551-1557.

Thio CL, Thomas DL, Karacki P, Gao X, Marti D, Kaslow RA, Goedert JJ, Hilgartner M, Strathdee SA, Duggal P, O'Brien SJ, Astemborski J, Carrington M. Comprehensive analysis of class I and class II HLA antigens and chronic hepatitis B virus infection. *J Virol*. 2003; 77:12083-12087.

Torres-Galván MJ, Quiralte J, Blanco C, Castillo R, Carrillo T, Pérez-Aciego P, Sánchez-García F. Linkage of house dust mite allergy with the HLA region. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82:198-203.

Trecarichi EM, Tumbarello M, de Gaetano Donati K, Tamburrini E, Cauda R, Brahe C, Tiziano FD. Partial protective effect of CCR5-Delta 32 heterozygosity in a cohort of heterosexual Italian HIV-1 exposed uninfected individuals. *AIDS Res Ther*. 2006; 3:22.

Veloso S, Olona M, García F, Domingo P, Alonso-Villaverde C, Broch M, Peraire J, Viladés C, Plana M, Pedrol E, López-Dupla M, Aguilar C, Gutiérrez M, Leon A, Tacias M, Gatell JM, Richart C, Vidal F. Effect of TNF-alpha genetic variants and CCR5 Delta 32 on the vulnerability to HIV-1 infection and disease progression in Caucasian Spaniards. *BMC Med Genet*. 2010; 11:63.

Vitezica ZG, Milpied B, Lonjou C, Borot N, Ledger TN, Lefebvre A, Hovnanian A. HLA-DRB1\*01 associated with cutaneous hypersensitivity induced by nevirapine and efavirenz. *AIDS*. 2008; 22:540-1.

Vyakarnam A, Sidebottom D, Murad S, Underhill JA, Easterbrook PJ, Dalgleish AG, Peakman M. Possession of human leucocyte antigen DQ6 alleles and the rate of CD4 T-cell decline in human immunodeficiency virus-1 infection. *Immunology*. 2004; 1:136-42.

Ward BA, Gorski JC, Jones DR, Hall SD, Flockhart DA, Desta Z. The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003 ; 306:287-300.

WHO. Global health observatory data. 2014 Disponible en: <http://www.who.int/gho/hiv/en>

Wolf E, Blankenburg M, Bogner JR, Becker W, Gorriahn D, Mueller MC, Jaeger H, Welte R, Baudewig M, Walli R, Stoll M. Cost impact of prospective HLA-B\*5701-screening prior to abacavir/lamivudine fixed dose combination use in Germany. *Eur J Med Res*. 2010; 15:145-151.

Yamano S, Nagata K, Yamazoe Y, Kato R, Gelboin HV, González FJ. cDNA and deduced amino acid sequences of human P450 IIA3 (CYP2A3). *Nucleic Acids Res*. 1989; 17:4888.

Yuan J, Guo S, Hall D, Cammett AM, Jayadev S, Distel M, Storfer S, Huang Z, Mootsikapun P, Ruxrungtham K, Podzamczar D, Haas DW. Nevirapine Toxicogenomics Study Team Toxicogenomics of nevirapine-associated cutaneous and hepatic adverse events among populations of African, Asian, and European descent. *AIDS*. 2011; 25:1271-80.

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.

Zhang H, Zhao B, Han X, Wang Z, Liu B, Lu C, Zhang M, Liu J, Chen O,

Hu Q, Jiang F, Shang H. Associations of HLA class I antigen specificities and haplotypes with disease progression in HIV-1-infected Hans in Northern China. *Hum Immunol.* 2013; 74:1636-1642.

Zolla-Pazner S, Cardozo T. Structure-function relationships of HIV-1 envelope sequence-variable regions refocus vaccine design. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10:527–35.

Zucman D, de Truchis P, Majerholc C, Stegman S, Caillat-Zucman S. Prospective Screening for Human Leukocyte Antigen-B\*5701 Avoids Abacavir Hypersensitivity Reaction in the Ethnically Mixed French HIV Population. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007; 45:1-3.

## 8. ÍNDICE DE TABLAS

---

- Tabla 1.1** Tamaño y función de las proteínas que codifican los genes de VIH-1
- Tabla 1.2** Clasificación clínica por estadios de la OMS en la infección por VIH/SIDA en adultos y adolescentes con infección confirmada.
- Tabla 1.3** Resumen de factores genéticos del hospedador implicados en el riesgo, adquisición y progresión de la enfermedad
- Tabla 1.4** Reacciones de Hipersensibilidad
- Tabla 1.5** Interacciones entre quimiocinas y CCR5
- Tabla 3.1** Composición de TetraCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 (Beckman Coulter)
- Tabla 3.2** Guía cantidades para la preparación de la PCR-SSO Lifecodes
- Tabla 3.3** Cantidades requeridas para la micro SSP específica de HLAB\*57 y HLA-DRB1\*01.
- Tabla 3.4** Condiciones de reacción.
- Tabla 4.1** Características demográficas del grupo de estudio
- Tabla 4.2.** Origen de los pacientes inmigrantes
- Tabla 4.3** Origen de los pacientes autóctonos
- Tabla 4.4** Vía de transmisión del VIH-1
- Tabla 4.5** Subtipos de VIH-1
- Tabla 4.6** Frecuencias alélicas HLA-B en el total de la población estudiada

- Tabla 4.7** Frecuencias alélicas de HLA-B en el grupo autóctono (canarios/no canarios)
- Tabla 4.8** Frecuencias alélicas HLA-DRB1 en el total de la población estudiada
- Tabla 4.9** Frecuencias alélicas de HLA-DRB1 en pacientes autóctonos
- Tabla 4.10** Frecuencia de HLA-B en Candidosis
- Tabla 4.11** Frecuencias HLA-DRB1 en Candidosis
- Tabla 4.12** Frecuencias HLA-B y neumonía por *Pneumocystis jirovecii*
- Tabla 4.13** Frecuencias HLA-DRB1 y neumonía por *Pneumocystis jirovecii*
- Tabla 4.14** Frecuencias HLA-DRB1 según el recuento de linfocitos T CD4
- Tabla 4.15** Frecuencias HLA-B en Tuberculosis
- Tabla 4.16** Frecuencias HLA-DRB1 en Tuberculosis
- Tabla 4.17** Frecuencias HLA-B e infección por Citomegalovirus
- Tabla 4.18** Frecuencias HLA-DRB1 y infección por Citomegalovirus
- Tabla 4.19** Frecuencias HLA-B y neumonías recurrentes
- Tabla 4.20** Frecuencias HLA-DRB1 y neumonías recurrentes
- Tabla 4.21** Distribución según origen en pacientes con coinfección VIH-VHB
- Tabla 4.22.** Frecuencias de los alelos HLA-B en coinfección VIH-VHB
- Tabla 4.23** Frecuencias de los alelos HLA-DRB1 en coinfección VIH-VHB
- Tabla 4.24** Distribución según origen en pacientes con coinfección VIH-VHC
- Tabla 4.25** Frecuencias de los alelos HLA-B en coinfección VIH-VHC
- Tabla 4.26** Frecuencias de los alelos HLA-DRB1 en coinfección VIH-VHC
- Tabla 4.27** Distribución según origen en pacientes con coinfección VIH-VHB-VHC
- Tabla 4.28** Frecuencias de los alelos HLA-B en coinfección VIH-VHB-VHC
- Tabla 4.29** Frecuencias de los alelos HLA-DRB1 en coinfección VIH-VHB-VHC
- Tabla 4.30** Frecuencias HLA-B en Sarcoma de Kaposi

- Tabla 4.31** Frecuencias HLA-DRB1 en Sarcoma de Kaposi
- Tabla 4.32** Frecuencias de alelos HLA-B en grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento
- Tabla 4.33** Frecuencias de alelos HLA-B en grupo de resto de pacientes
- Tabla 4.34** Frecuencias del alelos HLA-B en el grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento
- Tabla 4.35** Frecuencia de alelos HLA-DRB1 en resto de pacientes
- Tabla 4.36** Frecuencias de los genotipos CCR5 según el origen de los pacientes
- Tabla 4.37** Frecuencia de los alelos HLA-B en pacientes con y sin reacción a NVP
- Tabla 4.38** Frecuencia de los alelos HLA-B según el tipo de reacción a NVP
- Tabla 4.39** Frecuencia de los alelos HLA-DRB1 en pacientes con y sin reacción a NVP
- Tabla 4.40** Frecuencia de los alelos HLADRB1 según el tipo de reacción a NVP
- Tabla 4.41** Frecuencias CYP2B6 en pacientes con y sin RHS frente a NVP
- Tabla 4.42** Frecuencias CYP2B6 dependiendo del tipo de reacción adversa
- Tabla 4.43** Infección por VHC y VHB en pacientes con reacción a NVP
- Tabla 4.44** Frecuencias de los genotipos del CYP2B6 según el origen de los pacientes
- Tabla 4.45** Frecuencias de los genotipos del CYP2B6 según el origen dentro del grupo español







## 9. ÍNDICE DE FIGURAS

---

- Figura 1.1** Mapa génico del complejo mayor de histocompatibilidad
- Figura 1.2** Estructura de una molécula de HLA de clase I
- Figura 1.3** Estructura de una molécula de HLA de clase II
- Figura 1.4** Esquema general de la estructura de la partícula de VIH-1
- Figura 1.5** Ciclo biológico del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
- Figura 1.6** Prevalencia del VIH en adultos según las regiones de la OMS en el año 2013
- Figura 1.7** Tiempo de aparición de los marcadores específicos de la infección por VIH
- Figura 1.8** Estructura del complejo Abacavir-péptido-Sistema HLA.
- Figura 1.9** Estructura química y conformación tridimensional de la Nevirapina
- Figura 1.10** Estructura de la proteína CCR5
- Figura 1.11** Modelo del papel de los co-receptores CXCR4 y CCR5
- Figura 1.12** Distribución de las concentraciones plasmáticas de Efavirenz con relevancia clínica y polimorfismo CYP2B6 -516.
- Figura 3.1** Ejemplo de tipaje HLA-B con tecnología Luminex Lifecodes
- Figura 3.2** Análisis de los genotipos CCR5
- Figura 3.3** Ejemplo de gráfica de discriminación alélica
- Figura 4.1** Frecuencias de alelos de progresión lenta

- Figura 4.2** Frecuencias de alelos de progresión rápida
- Figura 4.3** Distribución de la muestra tras la corrección
- Figura 4.4** Pendiente estimada de la evolución del recuento de CD4 para los pacientes con los distintos alelos HLA-B
- Figura 4.5** Pendiente estimada de la evolución del recuento de CD4 para los pacientes según los grupos Bw4/Bw6 y Homocigotos/ Heterocigotos para HLA-B
- Figura 4.6** Recuentos de CD4 en pacientes asintomáticos sin tratamiento según su HLA-B
- Figura 4.7** Recuentos de CD4 en no pertenecientes al grupo de pacientes asintomáticos sin tratamiento según su HLA-B
- Figura 4.8** Pendiente estimada de la evolución del recuento de CD4 para los pacientes con los distintos alelos HLA-DRB1
- Figura 4.9** Recuentos de CD4 en pacientes asintomáticos sin tratamiento según su HLA-DRB1
- Figura 4.10** Recuentos de CD4 en no pertenecientes al grupo de asintomáticos sin tratamiento según su HLA-DRB1
- Figura 4.11** Distribución de los genotipos CCR5 según el origen de los pacientes