

PREVALENCIA DE INFECCION POR VIRUS DE HEPATITIS G EN UNA COHORTE DE PACIENTES HEMOFILICOS HIV+

IVANA MASSUD, MARCELO CORTI, MIGUEL de TEZANOS PINTO, RAUL PEREZ BIANCO, GASTON PICCHIO, PATRICIA BARE

Instituto de investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina y Fundación de la Hemofilia, Buenos Aires

Resumen Se evaluó la prevalencia de infección por el virus de hepatitis G (HGV) en pacientes hemofílicos infectados por el virus de hepatitis C (HCV) y coinfectados por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) determinándose la viremia por HGV en plasma por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La prevalencia global de infección por HGV fue de 13,51%. La edad fue el único parámetro que evidenció diferencias significativas entre el grupo HGV+ y HGV-, siendo más frecuente la comprobación de viremia por HGV entre los pacientes más jóvenes. No se observó correlación entre viremia por HGV y carga viral para HIV, niveles de linfocitos CD4+ o con tratamiento antirretroviral de alta eficacia (HAART). Considerando a los pacientes de buen o mal pronóstico con respecto a la enfermedad HIV/SIDA la prevalencia de infección por HGV fue mayor en el grupo de pacientes con mejor pronóstico y menor riesgo de progresión a SIDA. La infección por HGV podría influir favorablemente de manera directa o indirecta en la evolución de la infección por HIV-1.

Palabras clave: HGV, coinfección HIV/HGV, progresión a SIDA

Abstract *Prevalence of hepatitis G virus infection in a cohort of hemophilic HIV positive patients.* We analysed the prevalence of hepatitis G virus (HGV) infection in HCV+/HIV+ hemophilic patients determining HGV viremia in plasma by polymerase chain reaction (PCR). The overall prevalence of HGV infection was 13.51%. Viremia by HGV was more frequent in younger patients. Two subgroups of patients were considered taking into account prognosis of HIV disease progression. The prevalence of HGV infection was significantly higher in those with better prognosis and low risk of evolution to AIDS. The results suggest that HGV infection may slow disease progression, directly or indirectly.

Key words: HGV infection, HIV/HGV coinfection, progression to AIDS

El virus de la hepatitis G (HGV) es virus ARN de cadena simple, de 9.4 kb, que fue identificado en el año 1996^{1, 2}. Perteneció a la familia *Flaviviridae* y posee una organización genómica similar a la del virus de la hepatitis C (HCV). Su asociación con una enfermedad determinada permanece aún controvertida³ e incluso no parece tener influencia en el curso clínico del compromiso hepático producido por los virus de la hepatitis C o B⁴. Sin embargo, en el contexto de la infección por HIV, la presencia de este virus parece adquirir cierta relevancia. Numerosos autores señalan que aquellos pacientes infectados por HGV tendrían una progresión más lenta al SIDA^{5, 6, 7}.

A pesar de que las causas no han sido dilucidadas, este hecho podría ser el resultado de la acción directa del HGV dentro de la misma célula que alberga al HIV-1 (linfocitos T CD4+) o, de manera alternativa sería el resultado de la inducción de la síntesis de quimioquinas y/o de una alteración en la expresión de los receptores para las mismas que actúan como correceptores del retrovirus^{8, 9, 10}.

Con el objetivo de estudiar el impacto de la coinfección HIV/ HGV en un mismo individuo, clasificamos a la población hemofílica HCV+ /HIV+ en 2 grupos según su riesgo de progresión de la enfermedad por el retrovirus. El grupo 1 estuvo conformado por pacientes de buen pronóstico clínico y bajo riesgo de progresión a SIDA y el 2 por aquellos con mal pronóstico y alto riesgo de desarrollar complicaciones oportunistas y/o neoplasias marcadoras del SIDA. Esta clasificación se llevó a efecto en base a evaluaciones clínicas de los pacientes (incluyendo estadio de la enfermedad y an-

Recibido: 9-I-2002

Aceptado: 6-III-2002

Dirección postal: Dra. Patricia Baré, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Pacheco de Melo 3081, 1425 Buenos Aires, Argentina.

FAX: (54-11) 4805-0712 e-mail: pbare@hematologia.anm.edu.ar

tecedentes de enfermedades marcadoras), parámetros inmunológicos (recuentos de linfocitos T CD4+), virológicos (niveles de carga viral) y respuesta y adherencia al tratamiento antirretroviral de cada uno de ellos. Se analizó la prevalencia de viremia por HGV en ambos grupos y la correlación entre la detección de viremia por HGV y el pronóstico, evolución y estado general del paciente HIV+.

Estudiamos 74 muestras de plasma de pacientes hemofílicos HCV+/HIV+. La edad promedio fue de 30.27 años (rango 15 a 63) y el 73% de los pacientes tenían diagnóstico de hemofilia A. El porcentaje de muestras provenientes de pacientes bajo tratamiento antirretroviral de alta eficacia (HAART por sus siglas en inglés) ascendió al 58% (fueron incluidas muestras anteriores al comienzo de dichos tratamientos) y sólo el 5.5% recibían tratamiento con interferón alfa para la infección por HCV. La media de la carga viral para HIV-1 fue de $3.35 \pm 0.13 \log_{10}$ y la media del porcentaje de linfocitos T CD4+ de 22.5% (rango 1 a 47).

Los recuentos de linfocitos T CD4+ fueron realizados por citometría de flujo a partir de sangre entera, luego del lisado de la misma con reactivo de lisis FACS utilizando equipo FACScan y software SIMULSET (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA).

Las cargas virales fueron analizadas con AMPLICOR HIV/HCV MONITOR ROCHE según las indicaciones del fabricante. El ARN se extrajo a partir de plasma utilizando QIAmp viral RNA kit (QIAGEN) de acuerdo a las ins-

trucciones del fabricante. Los estudios de viremia por HGV fueron realizados por técnicas de amplificación por PCR con previa retrotranscripción para la obtención de copia de ADN. La transcripción reversa fue realizada sobre 10 µl ARN con 200 U de MMLV RT (Promega) y el primer antisense a 37°C por 60 minutos. Para la amplificación del fragmento de la región NS5b del virus se utilizaron los primers: GV 57 (5'ggactccggatagctgaraagct3') y 4512 MF (5' gctccacacagatggcgca3') ("r" representa "a" o "g"). Se utilizó el siguiente esquema de ciclos: 94°C, 5min para desnaturalizar el ADN, 52x (94°C, 30 seg, 55°C, 30 seg, 72°C, 30 seg) 7 min a 72°C. De esta manera se obtuvo un producto de 175 pares de bases.

Para la amplificación del fragmento de la región 5' no codificante se utilizó, luego de la retrotranscripción, una PCR Nested (anidada) con el siguiente esquema de ciclos: 94°C, 5 min, 35x (94°C, 30 seg, 55°C, 30 seg, 72°C, 45 seg) 7 min 72°C. Los primers utilizados fueron: externos: GOS 5'cggcactgggtgcaagccca3', GOA 5' cccggcccc actgttctctg3' y los internos: GIS 5'agccccagaaaccgacg ccta3', GIA 5'tattggtcaagagagacattg3' obteniéndose un producto de 325-329 pares de bases.

Los productos se analizaron con electroforesis en geles de acrilamida al 10% y fueron visualizados luego por tinte con bromuro de etidio. En cada PCR se incluyeron controles positivos y negativos.

Para analizar las variables dicotómicas se utilizó el chi cuadrado y la comparación de parámetros cuantitativos se realizó mediante el t de Student.

TABLA 1.- Comparación entre parámetros clínicos y de laboratorio en el grupo de pacientes evaluado con viremia para el virus de hepatitis G (HGV) detectable e indetectable.

	Edad	Tratamiento con HAART	CD4% (media)	Carga viral HIV (media)
HGV +	22.1 ± 0.69 años (18 a 25)	60%	26 ± 2.8% (14 a 35)	3.34 log ± 0.28
HGV -	31.6 ± 1.4 años (15 a 63)	57.8%	22 ± 1.5% (1 a 47)	3.36 log ± 0.15

TABLA 2.- Prevalencia de viremia de HGV en pacientes HIV positivos de buen y mal pronóstico de acuerdo con parámetros virológicos e inmunológicos

	Grupo 1 Buen pronóstico	Grupo 2 Mal pronóstico
CD4% (media)	27.6 ± 1.4%	14.3 ± 2.3%
CARGA VIRAL HIV (media)	2.8 ± 0.14 log	4.41 ± 0.16 log
HGV +	17.02% (8/47)	4.17% (1/24)

Se detectó viremia por HGV en el 13.51% (10/74) de la población hemofílica HCV+/HIV+ evaluada. Este resultado no difiere de manera significativa del obtenido para la población hemofílica HCV+/HIV- que alcanzó 17.14% (12/70) (datos no presentados). La viremia por HGV resultó más frecuente entre los pacientes más jóvenes (edad promedio de pacientes HGV+: 22.1 años; rango: 18 a 25; $p = 0.0082$). Por otro lado, no observamos correlación entre la carga viral para HIV, los niveles de linfocitos T CD4+ ni la administración de HAART entre los pacientes HGV+ y HGV- (Tabla 1). En el 80% de los enfermos se detectó viremia por HCV; no se comprobó correlación alguna entre este parámetro y la existencia de viremia por HGV.

Luego de clasificar al grupo de pacientes HIV seropositivos de acuerdo con su riesgo de progresión a SIDA, los grupos quedaron conformados de tal forma que la media de la carga viral para el grupo con buen pronóstico (Grupo 1) fue de 2.8 ± 0.14 log, 630 copias ARN/ml de plasma, y el valor de CD4+ de $27.6 \pm 1.4\%$. Para el grupo considerado de mal pronóstico (Grupo 2) la media de la carga viral fue de 4.41 ± 0.16 log, 25700 copias ARN/ml de plasma y el nivel de CD4+ de $14.3 \pm 2.3\%$ ($p < 0.0001$).

La prevalencia de viremia por HGV para el Grupo 1 fue de 17.02% (8 /47) y para el Grupo 2 de 4.17% (1/24). A pesar de no alcanzar un valor significativo ($p > 0.05$), comprobamos una tendencia marcada a la mayor ocurrencia de viremia por HGV en pacientes con mejor estado general y mejor pronóstico de su enfermedad HIV/SIDA (Tabla 2).

La asociación entre virus G y menor riesgo de progresión al SIDA, observada en este estudio, corrobora los resultados obtenidos en estudios previos por otros autores acerca del efecto beneficioso que puede tener HGV sobre la evolución de la infección por HIV. Consideramos muy importante la continuación y profundización de esta investigación y de sus resultados preliminares, ya que no sólo representa el primer estudio de prevalencia de infección por HGV en la población hemofílica HIV+

de nuestro país, sino también que a la vista de trabajos recientemente publicados, dicha asociación está siendo considerada de gran importancia como factor predictivo del curso de la infección por HIV y, como consecuencia, del futuro de los pacientes infectados.

Bibliografía

1. Linen J, Wages J Jr, Zhen-Yong Zhang- Keck, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion- transmissible agent. *Science* 1996; 271: 505-8.
2. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, et al. Isolation of a novel virus like sequences associated with human hepatitis. *Nat Med* 1995; 1: 564-9.
3. Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, et al. The incidence of transfusion- associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997; 336: 747-54.
4. Laskus T, Radkowski M, Wang LF, Vargas H, Rakela J. Lack of evidence for hepatitis G virus replication in the livers of patients coinfecting with hepatitis C and G viruses. *J Virol* 1997; 71: 7804-6.
5. Lefrère JJ, Roudot-Thoraval F, Morand-Joubert L, et al. Carriage of GB virus C hepatitis G virus RNA is associated with a slower immunologic, virologic and clinical progression of human immunodeficiency virus disease in coinfecting persons. *J Infect Dis* 1999; 179: 783-9.
6. Heringlake S, Ockenga J, Tillman HL, et al. GB virus C/ Hepatitis G virus infection: a favorable prognostic factor in human immunodeficiency virus-infected patients? *J Infect Dis* 1998; 177: 1723-6.
7. Toyoda H, Fukuda Y, Hayawaka T, Takamatsu J, Saito H. Effect of GB virus C/ hepatitis G virus coinfection on the course of HIV infection in hemophilia patients in Japan. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998; 17: 209-13.
8. Yeo AET, Matsumoto A, Shih JW, Alter H, Goldert JJ. Effect of hepatitis G virus infection on progression of HIV infection in patients with hemophilia. *Ann Intern Med* 2000; 132: 959-63
9. Xiang J, Wünschmann S, Diekema DJ, et al. Effect of coinfection with GB virus C on survival among patients with HIV infection. *N Engl J Med* 2001; 345: 707-14.
10. Tillman HL, Heiken H, Knapik-Botor A, et al. Infection with GB virus C and reduced mortality among HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2001; 345: 715-24.

The secret of happiness is not in doing what one likes, but in liking what one has to do.

El secreto de la felicidad no está en hacer lo que a uno le gusta, sino en que le guste lo que tiene que hacer.

James M. Barrie (1860-1937)