

Mutaciones en la región codificante pre-core/core relacionadas con el riesgo de desarrollo de hepatocarcinoma en pacientes con hepatitis B crónica en “zona gris”.



Gil A.I., Francisco I., Romero M., García A., Sánchez-Carrillo M., Madejón A., García-Samaniego J.
Unidad de hepatología, Hospital Universitario La Paz/Carlos III, CIBERehd, Madrid.
Proyecto financiado por Gilead S. A. (GLD 13/00046)



INTRODUCCIÓN

La decisión de tratamiento para los pacientes con hepatitis B en la llamada “zona gris” (cifras de ADN-VHB y ALT discordantes y actividad necroinflamatoria leve-moderada) es difícil. En estos pacientes hay pocos datos sobre la incidencia de marcadores predictores de riesgo de desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC).

OBJETIVO

Determinar si las regiones pre-core/core y pre-s1/pre-s2/s de cepas del VHB aisladas de pacientes con hepatitis B crónica (HBC) en “zona gris”, presentan mutaciones predictoras de desarrollo de CHC.

PACIENTES Y MÉTODOS

Estudio transversal retrospectivo en el que se han analizado por secuenciación poblacional las regiones codificantes pre-core/core de 14 pacientes [edad (media ± DE): 40,43 ± 13,33 años] (3 VHB-A, 10 VHB-D y 1 VHB-F) y pre-s1/pre-s2/s de 21 pacientes [edad (media ± DE): 43,33 ± 13,38 años] (7 HBV-A, 10 VHB-D, 1 HBV-E, 2 HBV-F y 1 HBV-A/E) con HBC en “zona gris”. 22/23 (95,7%) de los pacientes eran HBeAg negativo y 21/23 (91,3%) presentaban niveles normales de ALT. Con respecto al nivel de lesión hepática, 13/23 (56,5%) tenían un estadio de fibrosis F0-F1, 2/23 (8,7%) estadio F2 y en 8/23 (34,8%) se desconoce el estadio por falta de pruebas.

RESULTADOS

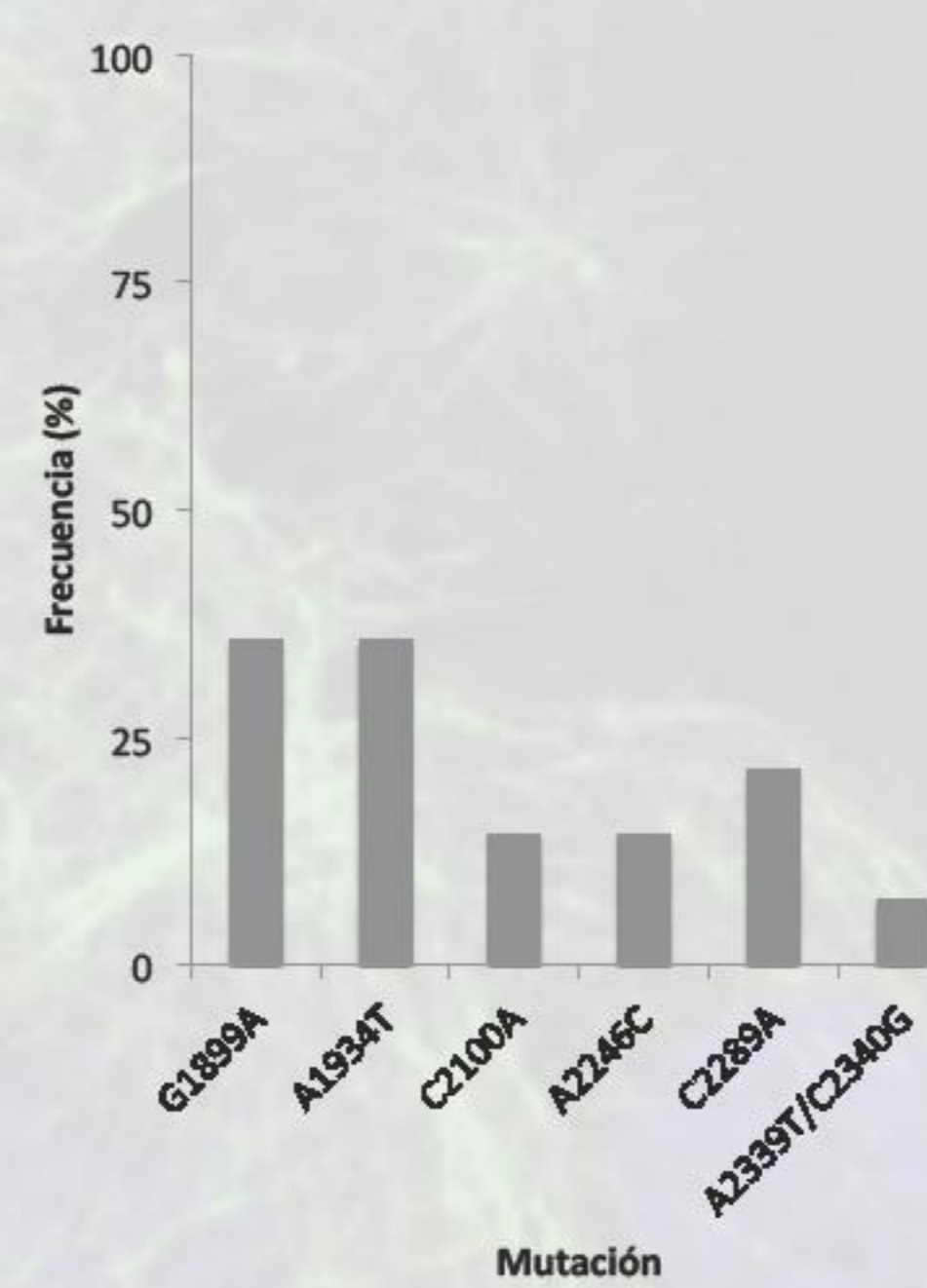
El análisis de secuencias confirmó que 9/14 (64,3%) de los pacientes analizados presentaban diferentes mutaciones en el gen pre-core/core relacionadas con el riesgo de desarrollo de CHC. La distribución de las mutaciones más significativas en esta región fue: G1899A en 5/14 (35,7%); A1934T en 5/14 (35,7%); C2100A en 2/14 (14,3%); A2246C en 2/14 (14,3%); C2289A en 3/14 (21,4%) y finalmente A2339T/C2340G en 1/14 (7,1%). En un paciente infectado con el genotipo D se identificó la mutación G1816T, que potencialmente evita la síntesis de HBeAg y que es muy poco frecuente. Otros dos pacientes con genotipo A presentaron la mutación G1862T, que se asocia con una reducción en los niveles de expresión de la proteína core y a la que se ha asociado con riesgo de hepatitis fulminante en pacientes con genotipo B, C y D, aunque estudios apuntan a que podría ser parte de la variabilidad natural del genotipo A. Por otro lado, algunas de las mutaciones localizadas entre las posiciones 1814-1838 de la región codificante del pre-core/core afectaban también a la porción solapante de la proteína X, introduciendo cambios aminoacídicos en el extremo carboxi-terminal de la proteína. Ninguno de estos cambios se asocia al riesgo de desarrollo de CHC. Respecto al gen pre-s1/pre-s2/s, las mutaciones que más se asocian al riesgo de desarrollo de CHC son las deleciones de pre-s, concretamente las deleciones de pre-s2, presentes en 3/21 (14,3%) de los pacientes. Además se encontraron las mutaciones: C534T en 1/21 (4,8%) pacientes, la cual se relaciona únicamente con pacientes con fibrosis y CHC y la mutación T53C, asociada significativamente con CHC en genotipo C, se halló en 4/21 (19,1%) de los pacientes del estudio, tres del genotipo A y uno del genotipo D. En la región pre-s1 no se identificaron mutaciones relacionadas con CHC.

Perfil demográfico, clínico y bioquímico de los pacientes incluidos en el estudio.

Parámetros	Todos los pacientes	Pacientes pre-core/core	Pacientes pre-core/core Mutaciones Vs no mutaciones	Pacientes pre-s1/pre-s2/s	Pacientes pre-s1/pre-s2/s Mutaciones Vs no mutaciones
Hombres	11/23	8/14	5/8 Vs 3/8	11/21	3/11 Vs 8/11
Mujeres	12/23	6/14	4/6 Vs 2/6	10/21	5/10 Vs 5/10
Edad	43,30 ± 12,78	40,43 ± 13,33	43,44 ± 12,88 Vs 34,5 ± 12,34	43,33 ± 13,38	49,13 ± 18,14 Vs 42,14 ± 12
HbeAg negativo	22/23 (95,7%)	13/14 (92,9%)	9/13 (69,2%) Vs 4/13 (30,8%)	20/21 (95,2%)	8/20 (40%) Vs 12/20 (60%)
HbeAg positivo	1/23 (4,3%)	1/14 (7,1%)	0/1 (0%) Vs 1/1 (100%)	1/21 (4,8%)	0/1 (0%) Vs 1/1 (100%)
Genotipo A	8/23 (34,8%)	3/14 (21,4%)	2/3 (66,7%) Vs 1/3 (33,3%)	7/21 (33,3%)	4/7 (57,1%) Vs 3/7 (52,9%)
Genotipo D	11/23 (47,8%)	10/14 (71,4%)	7/10 (70%) Vs 3/10 (30%)	10/21 (47,6%)	2/10 (20%) Vs 8/10 (80%)
Genotipo E	1/23 (4,3%)	0/14 (0%)	0	1/21 (4,8%)	1/1 (100%) Vs 0/1 (0%)
Genotipo F	2/23 (8,7%)	1/14 (7,1%)	0/1 (0%) Vs 1/1 (100%)	2/21 (9,5%)	0/2 (0%) Vs 2/2 (100%)
Genotipo A/E	1/23 (4,3%)	0/14 (0%)	0	1/21 (4,8%)	1/1 (100%) Vs 0/1 (0%)
GOT	24,95 ± 7,91	24,85 ± 8,16	24,17 ± 6,79 Vs 25,88 ± 10,3	25,17 ± 8,08	26 ± 8,37 Vs 24,7 ± 8,06
GPT	27,63 ± 14,11	29,15 ± 14,26	27,83 ± 14,11 Vs 31,13 ± 15,22	28,14 ± 14,34	23,46 ± 11,81 Vs 30,78 ± 15,19
Fibrosis	13 F0-F1, 2 F2 y 8 desconocido	10 F0-F1, 1 F2 y 3 desconocido	7 F0-F1, 1 F2 y 1 desconocido Vs 3 F0-F1 y 2 desconocido	11 F0-F1, 2 F2 y 8 desconocido	2 F0-F1, 1 F2 y 5 desconocido Vs 9 F0-F1, 1 F2 y 3 desconocido

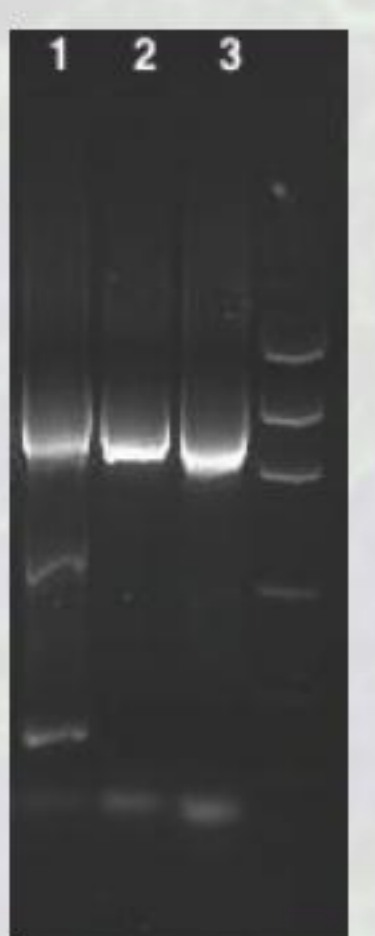
Mutaciones en el gen pre-core/core relacionadas con CHC encontradas en los pacientes incluidos en el estudio.

Posición de la mutación en el genoma	Frecuencia	%	Genotipo
Pre-core			
G1899A	5/14	35,7%	1 VHB-A y 4 VHB-D
Core			
A1934T	5/14	35,7%	1 VHB-A y 4 VHB-D
C2100A	2/14	14,3%	2 VHB-D
A2246C	2/14	14,3%	1 VHB-A y 1 VHB-D
C2289A	3/14	21,4%	2 VHB-A y 1 VHB-D
A2339T/C2340G	1/14	7,1%	1 VHB-D



Mutaciones en el gen pre-s1/pre-s2/s relacionadas con CHC encontradas en los pacientes incluidos en el estudio.

Posición de la mutación en el genoma	Frecuencia	%	Genotipo
Pre-s1 → no se han encontrado mutaciones relacionadas con CHC			
Pre-s2			
Deleciones	3/21	14,3%	2 VHB-A y 1 VHB-E
Delección paciente 1 → 12 nt (10-28) Delección paciente 2 → 18 nt (27-53) Delección paciente 3 → 51 nt (3212-3221, 1-55)			
S			
T53C	4/21	19,1%	3 VHB-A y 1 VHB-D
C534T	1/21	4,8%	1 VHB-D



Representación de las mutaciones de delección del gen pre-s1/pre-s2/s encontradas en 3 de los pacientes analizados.

Tabla resumen de las mutaciones relacionadas con CHC encontradas en los pacientes incluidos en el estudio.

Parámetros	Todos los pacientes	Pacientes con mutaciones	Pacientes sin mutaciones
Hombres	11/23	8/23 (34,8%)	3/23 (13%)
Mujeres	12/23	8/23 (34,8%)	4/23 (17,4%)
Edad	43,30 ± 12,78	44,44 ± 14,14	40,71 ± 9,36
Genotipo	8 HBV-A, 11 VHB-D, 1 VHB-E, 2 VHB-F y 1 VHB-A/E	6 HBV-A, 8 HBV-D, 1 HBV-E y 1 HBV-A/E	2 HBV-A, 3 HBV-D y 2 HBV-F
GOT	24,95 ± 7,91	25,38 ± 7,6	24,21 ± 8,67
GPT	27,63 ± 14,11	25,88 ± 13,06	30,64 ± 15,80
Fibrosis	13 F0-F1, 2 F2 y 8 desconocido	8 F0-F1, 2 F2 y 6 desconocido	5 F0-F1 y 2 desconocido

Se incluye en pacientes con mutaciones las muestras que presentan al menos una mutación relacionada con CHC en cualquiera de los dos genes analizados.

CONCLUSIONES

Estos resultados demuestran que un porcentaje significativo de pacientes con HBC en la llamada “zona gris” presentan mutaciones que se asocian con un riesgo potencial de desarrollo de CHC.

El porcentaje de mutaciones asociadas a CHC fue mayor en la región pre-core/core que en la región pre-s1/pre-s2/s, aunque en esta última 3/21 pacientes presentaban mutaciones de delección en la región pre-s2, las cuales se asocian a un alto riesgo de desarrollo de CHC.

Sobre la base de estos resultados, el análisis genético de VHB en los pacientes en “zona gris” podría ser importante en la decisión terapéutica y en la monitorización de este grupo de pacientes.