

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FUNDACIÓN CLÍNICA MÉDICA SUR

“ASOCIACIÓN ENTRE LA INFECCIÓN POR EL
VIRUS DE LA HEPATITIS C Y EL DESARROLLO
DE LINFOMA NO HODGKIN”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA INTERNA

P R E S E N T A :
DRA. KARLA ALEJANDRA ROMERO MORA

ASESOR DE TESIS:
DR. JAVIER LIZARDI CERVERA

MÉXICO D.F. NOVIEMBRE DEL 2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Misael Uribe Esquivel
Profesor Titular del Curso de Especialización en Medicina Interna
Fundación Clínica Médica Sur

Dr. Javier Lizardi Cervera
Director Académico
Profesor Adjunto del Curso de Especialización en Medicina Interna
Profesor Asesor de Tesis
Fundación Clínica Médica Sur

AGRADECIMIENTOS

INDICE

Página

I. Introducción

1.1.	Generalidades.....	6
1.2.	Epidemiología.....	7
1.2.1.	Hepatitis C en México.....	8
1.3.	Virología y fisiopatogenia.....	9
1.3.1.	Diversidad genética.....	11
1.3.2.	Genotipos del VHC.....	12
1.4.	Tropismo viral.....	13
1.5.	Historia natural y patogenia.....	13
1.6.	Progresión de la enfermedad.....	15
1.7.	Métodos diagnósticos.....	16
1.7.1.	Pruebas cualitativas para la detección del RNA del VHC.....	17
1.7.2.	Pruebas cuantitativas para la detección del RNA del VHC.....	17
1.7.3.	Genotipo del virus.....	18
1.7.4.	Determinación de aminotrasferasa de alanina (ALT).....	18
1.7.5.	Biopsia hepática.....	18
1.8.	Tratamiento para la hepatitis C crónica.....	19
1.9.	Inicio de tratamiento combinado.....	20
1.10.	Consideraciones en el tratamiento antiviral en pacientes con LNH asociado a VHC.....	21
1.11.	Manifestaciones extrahepáticas del VHC.....	23
1.11.1.	Manifestaciones inmunológicas y hematológicas.....	23
1.11.2.	Crioglobulinemia.....	23
1.11.3.	Sialoadenitis linfocítica.....	24
1.11.4.	Trombocitopenia.....	24
1.11.5.	Manifestaciones renales.....	25
1.11.6.	Manifestaciones dermatológicas.....	26
1.11.7.	Manifestaciones neurológicas.....	27
1.11.8.	Manifestaciones endócrinas.....	27
1.11.9.	VHC y linfoma de células B.....	27
1.12.	Mecanismos de persistencia del VHC.....	29

II.	Planteamiento del problema.....	30
-----	---------------------------------	----

III. Objetivos.....	31
IV. Justificación.....	31
V. Material y métodos.....	31
VI. Resultados.....	32
VII. Análisis de resultados y evolución de los pacientes.....	32
VIII. Discusión.....	35
IX. Anexos.....	40
X. Bibliografía.....	49

I. INTRODUCCIÓN

1.1. GENERALIDADES

Una vez que se desarrollaron las pruebas serológicas para el virus de la hepatitis A (VHA) y la hepatitis B (VHB) durante la década de 1970, fue evidente que la mayoría de los casos de hepatitis asociada a transfusiones debía ser causado por otro agente aún desconocido, lo que llevó al término de “hepatitis no A no B” (1,2). Estudios en chimpancés confirmaron esta sospecha, cuyo responsable era un virus pequeño con envoltura lipídica (3,4). A finales de 1980, Michael Houghton en conjunto con Daniel Bradley del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades en Estados Unidos (CDC) identificaron un antígeno viral asociado a la hepatitis no A no B, y lo denominaron “hepatitis C” (5). Posteriormente se logró la clonación completa del genoma viral y se encontró su fuerte asociación con el desarrollo de hepatitis crónica, cirrosis y hepatocarcinoma (6).

El virus de la hepatitis C es un RNA virus de cadena sencilla que pertenece a la familia de los *Flavivirus* y se transmite predominantemente por vía parenteral. Se estima que 170 millones de personas se encuentran infectadas a nivel mundial y actualmente es la primera causa de trasplante hepático en la mayoría de los centros de trasplante en Estados Unidos por su gran tendencia a la cronicidad y riesgo de hepatocarcinoma. La hepatitis C aguda corresponde al 15-16% de los casos de hepatitis icterica aguda en Estados Unidos, situándose por debajo de la hepatitis A (47-49%) y la hepatitis B (33-35%) (7).

El cuadro clínico semeja una hepatitis viral cualquiera y el diagnóstico se basa en el estudio serológico. Dado que menos del 20% de los casos de infección aguda causan ictericia, existe una elevada tasa de infección subclínica (8). La ausencia de síntomas asociada a la infección aguda, aunado a la alta propensión de desarrollar enfermedad crónica (85%), llevan a que el virus de la hepatitis C (VHC) persista en un estado indolente y frecuentemente silencioso, llevando a su resurgimiento décadas después con las manifestaciones de una hepatopatía terminal. La falla hepática fulminante es rara pero puede ser más común en pacientes con infección crónica subyacente por hepatitis B (9).

1.2. EPIDEMIOLOGÍA

Debido a que la mayoría de los casos de infección aguda son asintomáticos, es difícil determinar la incidencia de la infección por el VHC, de tal forma que gran parte de la información disponible describe la prevalencia de la infección. La hepatitis C posee algunos aspectos que dificultan la determinación de su prevalencia real, tales como: a) la mayoría de los pacientes son

asintomáticos excepto cuando se encuentran en etapas avanzadas de la enfermedad; b) el diagnóstico se realizaba entonces por exclusión de otras causas de enfermedad hepática y c) las pruebas serológicas de detección que se utilizan para el escrutinio del VHC no permiten distinguir entre infección aguda, crónica o resuelta (10)

La infección por el VHC tiene una distribución mundial. A partir de la información disponible, y pese a que no se encuentran estudios representativos en 57 países, la Organización Mundial de la Salud compiló la información epidemiológica a nivel mundial, que se ha actualizado de manera subsiguiente (11). Se estima que existen más de 170 millones de personas infectadas (12). En países desarrollados, la prevalencia es de 1-2% en la población general y menos del 0.5% entre donadores de sangre. Ver **Figura 1**.

La prevalencia de la mayor parte de los países de Europa, América y el sureste asiático es menor de 2.5%, en tanto que la de las regiones del Pacífico Oeste va de 2.5 a 4.9%. La prevalencia de los países del Oriente Medio oscila entre 1 y 12% (13) La prevalencia más baja que se informa es la del Reino Unido y Escandinavia, con porcentajes de 0.01 a 0.1%; en contraparte, la más alta se reporta en Egipto, con valores de 17 a 26%, similar a lo que ocurre en Japón, Taiwán e Italia (13-15). Esta variación en la distribución muestra el efecto de prácticas locales y costumbres, tales como el uso de remedios y reutilización de agujas, que incide en determinar las diferentes vías de transmisión y los diversos grupos poblacionales de riesgo (16-18).

La prevalencia es mayor en personas de bajo nivel socioeconómico y en hombres. Con base en algunos estudios efectuados en población abierta y la prevalencia por grupos etarios, pudieron determinarse variaciones temporales de la incidencia y la prevalencia de la infección viral C al identificar tres patrones epidemiológicos. El primero muestra que la prevalencia por edad es baja en los menores de 20 años, se incrementa en forma importante en los siguientes decenios, alcanza su pico mayor de los 30 a los 49 años y disminuye en los mayores de 50 años. Este patrón corresponde a lo observado en Estados Unidos y Australia (19).

En el segundo patrón la prevalencia es baja en los grupos de menor edad y en adultos jóvenes, con un aumento importante en los adultos mayores, donde se agrupa la mayoría de los sujetos infectados. Este patrón se observa en Italia y Japón (20). El tercer patrón se caracteriza por un incremento sostenido conforme la edad aumenta, con una alta prevalencia en todos los grupos de edad. Éste es el patrón correspondiente a los datos obtenidos en Egipto (15).

En 1980, la incidencia anual de infección por hepatitis C en los Estados Unidos era de 15 por cada 100,000 personas, pero desde entonces ha declinado significativamente (21). El CDC ha estimado que al menos dos terceras partes de todas las infecciones adquiridas en la comunidad se relacionan al uso de drogas intravenosas. Aproximadamente, el 38% de las personas con

hepatitis C aguda admite el uso de dichas drogas en los seis meses previos a su enfermedad (7,22). La transmisión por vía sexual se reporta en 10-15% de los individuos con hepatitis C aguda, mientras que las transfusiones sanguíneas y las exposiciones ocupacionales son infrecuentes correspondiendo a menos del 4% (23).

Las vías de transmisión pueden variar a lo largo del tiempo e incluso entre países. En países desarrollados, la mayoría de los casos nuevos de hepatitis C se relacionan con el uso de drogas ilícitas intravenosas, aunque las transfusiones sanguíneas fueron en algún momento la vía más importante de transmisión. A diferencia de la hepatitis B, la vía sexual y la transmisión vertical de madre a hijo, son relativamente vías de transmisión menos frecuentes.

La coinfección con otras infecciones virales como VIH y otros virus de hepatitis es clínicamente importante, ya que dado que comparten las mismas vías de transmisión, la prevalencia es alta, sobre todo en usuarios de drogas intravenosas (75%). Después de 15 años, el riesgo de cirrosis en estos pacientes es del 25%, comparado con el 6.5% en aquellos que solamente tienen infección por VHC (24). Asimismo, los pacientes con coinfección con VHB y VHC tienen un curso acelerado de la enfermedad (25). La sobreinfección con VHA puede resultar en hepatitis aguda grave e incluso hepatitis fulminante (26), es por ello que siempre es recomendable la vacunación contra hepatitis A en pacientes con infección por VHC.

1.2.1. HEPATITIS C EN MÉXICO

Se desconoce la prevalencia de la infección por VHC en México y los únicos estudios que intentan determinarla muestran datos en poblaciones seleccionadas. En el 2002, la Asociación Mexicana de Hepatología realizó un Consenso Nacional de Hepatitis C, en el que a partir de la información disponible se calculó una prevalencia del 0.5 al 1.5% (27). La bibliografía nacional e internacional consigna varios informes de prevalencia en México que van desde 0.47 hasta 2%, la mayor parte de ellos realizada en donadores de sangre y sólo uno en pacientes obstétricas (28, 29). Otros estudios publican prevalencias mayores en población de riesgo para la infección por VHC como los individuos con insuficiencia renal crónico terminal, con o sin terapia de sustitución. En la mayoría de estos informes la prevalencia se basa en la determinación de anticuerpos anti-VHC, y no se distingue entre infección pasada y la actual. La OMS propone como cálculo una prevalencia de 0.7%, lo que significa que alrededor de 700,000 personas están infectadas por VHC en nuestro país. Un estudio reciente que incluyó a ocho centros hospitalarios de diferentes áreas geográficas de México comunicó que la hepatitis C es la segunda causa de cirrosis hepática, sólo superada en un 3% por el consumo de alcohol, si bien esta diferencia no es significativa en términos estadísticos (30).

1.3. VIROLOGÍA Y FISIOPATOGENIA

EL VHC es un RNA virus de cadena sencilla, de forma esférica, cubierto por una envoltura y de aproximadamente 50 nm de diámetro (31). Ver **Figura 2**. Por su estructura, su organización genómica y su ciclo de replicación se clasifica como miembro de la familia *Flaviviridae*, aunque es suficientemente distinto como para ameritar ser clasificado dentro de un género separado. Se relaciona con el género *Flavivirus*, el cual incluye al virus de la fiebre amarilla y al virus del dengue. Varios virus "GB" se encuentran también en la familia *Flaviviridae* (32,33).

Las células blanco del VHC son los hepatocitos y los linfocitos B (34,35). Su replicación es extremadamente eficaz, y se estima que se producen más de 10 trillones de partículas virales por día, aún en la fase crónica de la infección (36). La replicación ocurre a través de la polimerasa RNA dependiente de RNA, la cual por sus características resulta en la rápida evolución de diversas cuasiespecies dentro de la misma persona infectada, lo que representa un reto enorme con respecto al control inmunológico del virus.

A pesar de la elevada tasa de replicación observada in vivo, los esfuerzos por hacer crecer al VHC en cultivo han sido inútiles. Lo que se ha logrado es inocular a chimpancés con el VHC, resultando en signos clínicos e histopatológicos de hepatitis (37). Recientemente, se han hecho manipulaciones genéticas del RNA de viriones lo que ha llevado a una alta replicación en líneas celulares derivadas de hepatocitos, ofreciendo así una forma más reproducible de estudiar el RNA viral y su síntesis de proteínas (38).

El VHC codifica una sola poliproteína de 3011 aminoácidos, la cual es posteriormente procesada en 10 proteínas estructurales y reguladoras. Hay cuatro proteínas estructurales: la proteína de la nucleocápside o proteína "core", dos proteínas de envoltura (E1 y E2) y una proteína pequeña denominada NS2A. Dos regiones de la proteína de la envoltura, E2, designadas como regiones hipervariables 1 y 2, tienen una tasa extremadamente alta de mutaciones, resultado de una presión selectiva por parte de los anticuerpos específicos del virus. La región E2 también contiene el sitio de unión para CD81, receptor expresado en los hepatocitos y linfocitos B, el cual se cree que funciona como receptor celular o correceptor para el virus (39). Existen cinco proteínas no estructurales que conforman el complejo replicativo del RNA viral: NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B. El VHC también codifica para una helicasa, una proteasa y una polimerasa específicas, y dada su función vital para el ciclo de vida del virus, representan blancos atractivos en el tratamiento antiviral. Asimismo, las regiones no codificadoras en cada extremo del RNA viral son blancos terapéuticos, dado que son áreas que se conservan y que están involucradas en etapas críticas de la replicación viral (40). Ver **Figura 3**.

Se han asociado numerosas funciones biológicas a la proteína de la nucleocápside o proteína "core", incluyendo la supresión de la replicación de VHB; alteraciones en la regulación del

ciclo celular y transcripción de los protooncogenes celulares; inducción o supresión de la apoptosis y transformación de fibroblastos de ratón in vitro. También se ha sugerido que la proteína de la nucleocápside interfiere con la respuesta inmunológica anti-VHC a través de varios mecanismos, incluyendo la inhibición de las células asesinas naturales (NK) e inhibición de la proliferación de las células T. La proteína "core" es inmunogénica, y tanto ésta como los anticuerpos contra la misma están típicamente presentes en el suero de los pacientes infectados (41-43).

La naturaleza multifuncional de la proteína NS3, incluyendo el procesamiento de poliproteínas, su papel en la RNA replicasa, y su contribución en la evasión inmunológica, es típica de las proteínas de los virus RNA de cadena sencilla como el VHC. Además, se ha demostrado que la expresión de NS3 es capaz de inducir a la transformación maligna que conlleva a la formación de tumores en ratones (44).

La NS5A es una fosfoproteína que parece tener una participación en la replicación del RNA (45). Una secuencia de polimorfismos dentro de un segmento corto del NS5A llamada región determinante de sensibilidad al interferón (RDSI) se ha correlacionado con la resistencia al tratamiento con este fármaco. Este efecto puede estar mediado por la interacción del NS5A con el dominio catalítico de la proteína cinasa R (PKR) activada del RNA de doble cadena inducido por el interferón. La inactivación de la PKR por el NS5A podría mitigar tanto las acciones antivirales como antiproliferativas del interferón. Sin embargo, ha sido cuestionada la asociación entre los polimorfismos del RDSI y la resistencia al interferón, pudiendo ser específica de genotipo. Además, la habilidad del NS5A para impedir la función del PKR durante la replicación viral ha sido difícil de demostrar directamente dada la ausencia de un sistema de cultivo celular que sea totalmente permisivo de la replicación del virus (46).

Los detalles del ciclo viral han sido difíciles de determinar por lo antes mencionado, sin embargo, por información derivada de otros estudios del virus RNA de cadena sencilla se ha llegado a sugerir el siguiente escenario. El VHC entra al hepatocito a través de su interacción con una o varias moléculas receptoras específicas de la superficie celular; las moléculas receptoras sugeridas hasta este momento son: CD81, receptor de LDL, lectina tipo C y S, entre otras (39,47). Después de la adhesión, penetración y captación del virus por el endosoma celular, los cambios locales de pH pueden alterar la conformación de las proteínas de la envoltura, resultando en su fusión con la membrana del endosoma. El RNA viral es entonces liberado al citoplasma donde actúa como RNA mensajero, dirigiendo la transducción de la poliproteína viral. La translación viral ocurre en asociación con el retículo endoplásmico rugoso al momento de entrar al ribosoma, con lo que la poliproteína sufre una serie de cambios proteolíticos. El procesamiento de la poliproteína viral resulta en la producción de la proteína core, la proteína de la envoltura y cinco proteínas no estructurales esenciales para la replicación del RNA. Entonces se ensambla el complejo

replicativo en el extremo 3' de RNA viral, el cual reconoce estructuras y secuencias específicas y subsecuentemente dirige la síntesis de una copia de cadena inversa del genoma, con la posterior síntesis de múltiples copias de RNA de cadena sencilla a partir de este templete de RNA de doble cadena. El ensamblaje de las partículas virales se lleva a cabo en los compartimentos del retículo endoplásmico y del aparato de Golgi, y una vez terminado se liberan a la sangre (37).

A pesar de que el hígado es la fuente principal del VHC de la sangre periférica, hay estudios que demuestran que así como se han encontrado antígenos específicos del virus en los hepatocitos, también se han hallado en células mononucleares de origen linfoide y/o de médula ósea. Modelos matemáticos de la cinética viral sugieren una vida media aproximada de 2.5 horas para viriones circulantes en sangre y una producción de 1.0×10^{12} viriones diaria en una persona con infección crónica, lo que excede por mucho a la producción del virus de inmunodeficiencia humana (48).

1.3.1. DIVERSIDAD GENÉTICA

Por el gran recambio del virus, existe una rápida acumulación de mutaciones virales. Típicamente, múltiples variantes del VHC pueden ser recuperadas en cualquier momento del plasma e hígado de un individuo infectado. Durante la replicación del RNA, las mutaciones ocurren de manera aleatoria a lo largo de todo el genoma.

La respuesta inmunológica parece ser un estímulo selectivo importante. Por ejemplo, el RNA viral que contiene mutaciones espontáneas dentro de la proteína E2 puede estar favorecido por su supervivencia en el huésped, si éstas reducen la unión de anticuerpos preexistentes para la envoltura viral (49). De tal forma que, las variantes de cuasiespecies recuperadas en sangre reflejan el balance entre replicación viral y las fuerzas selectivas (50). A pesar de que las sustituciones de nucleótidos identificadas en virus circulantes representan solamente una fracción de todas las mutaciones generadas durante la replicación viral, estas mutaciones se estiman que ocurren a una tasa de 0.9 a 1.92×10^{-3} sustituciones de base por sitio por año durante la infección crónica. Existe un considerable interés en determinar la correlación clínica de estos parámetros. A pesar de que aún hay mucho por saber, parece ser que la complejidad genética está asociada al grado de enfermedad y a la duración de la infección. Esto es consistente con la hipótesis de que las respuestas inmunológicas afectan tanto la extensión de la progresión de la enfermedad como la generación de diversidad genómica. Por lo tanto, la variación de las cuasiespecies resulta de la persistencia de la infección frente a una respuesta inmunológica activa pero poco efectiva (51,52).

1.3.2. GENOTIPOS DEL VHC

Además de la impresionante heterogeneidad que existe entre las secuencias del VHC presentes en un mismo individuo infectado (variación en cuasiespecies), también hay una considerable heterogeneidad y diversidad genética entre las secuencias del VHC recuperadas de diferentes individuos (variación genotípica).

Han sido identificados seis genotipos distintos de VHC, así como múltiples subtipos en base a su parentesco molecular. En los Estados Unidos y en Europa occidental los genotipos 1a y 1b son los más comunes, seguidos por los genotipos 2 y 3. Los otros genotipos prácticamente nunca se encuentran en estos países, pero son comunes en otras regiones como Egipto, en el caso del genotipo 4, Sudáfrica en el caso del genotipo 5, y el sudeste asiático en el caso del genotipo 6. El conocer el genotipo es importante por su valor predictivo en términos de la respuesta al tratamiento antiviral, con mejores respuestas asociadas al genotipo 2 y 3, a diferencia del 1 (53). La variabilidad en la región del gene que codifica para la proteína 5 no estructural (NS5A) parece tener un significado clínico particular en cuanto a determinar la sensibilidad al interferón. Sin embargo, los VHC 1b aislados en Europa y América, no comparten esta característica (54).

En la mayoría de las personas infectadas persiste la viremia, acompañada de grados variables de inflamación hepática y fibrosis. Estudios recientes sugieren que más del 50% de los hepatocitos albergan al virus (55). La presencia de linfocitos en el parénquima hepático ha sido interpretada como evidencia de daño mediado inmunológicamente. El aclaramiento viral se asocia con el desarrollo y persistencia de una fuerte respuesta específica por parte de los linfocitos T citotóxicos y linfocitos T cooperadores. La respuesta de los linfocitos T cooperadores parece ser crítica, dado que la pérdida de estas células se relaciona con la reemergencia de la viremia. La relativa pobre respuesta de los linfocitos citotóxicos en las personas con infección crónica por VHC parece ser insuficiente para contener la viremia y la evolución genética del virus, pero suficiente para causar daño colateral a través de citocinas inflamatorias en el hígado. La presencia de una inmunidad ineficaz en personas con infección crónica también se sugiere por el hecho de que tengan sobreinfección con otros genotipos (56).

1.4. TROPISMO VIRAL

La evidencia es clara en cuanto a que la replicación del VHC se lleva a cabo principalmente en los hepatocitos. Sin embargo, la replicación puede también ocurrir en otras células. Se han encontrado cadenas de RNA en células B, células T y en monocitos, especialmente en pacientes con infección crónica (57), lo que apoya la infección extrahepática. El

VHC también se ha detectado en lesiones cutáneas de personas con vasculitis y crioglobulinemia asociada al VHC, en biopsias renales de pacientes con glomerulonefritis membranoproliferativa y en diversos fluidos corporales incluyendo saliva, semen, lágrimas, orina y ascitis (58). A diferencia del virus de la hepatitis B, el VHC no se replica a través de un DNA intermediario y por lo tanto no tiene la habilidad de integrar su información genética en el DNA cromosomal. Por esta razón, la detección de estas secuencias en los tejidos y fluidos indica muy probablemente la presencia de virus infectante, aunque la transmisión a través de estas vías es más bien rara.

1.5. HISTORIA NATURAL Y PATOGENIA

En chimpancés y humanos infectados experimentalmente, el RNA del VHC puede ser detectado en plasma dentro de pocos días después de la exposición, frecuentemente 1 a 4 semanas antes de que las enzimas hepáticas se eleven (59,60). La viremia usualmente se eleva en las primeras 8 a 12 semanas de la infección, después disminuye y persiste así. En algunos casos, los niveles de RNA del virus se vuelven indetectables en los primeros meses y permanecen indetectables de forma indefinida (aclaramiento viral); en otras ocasiones, la viremia es inconsistentemente detectada de forma temprana y no se establece un patrón estable de recuperación o persistencia por más de 6 meses. Algunas veces la viremia intermitente puede reflejar reinfección, la cual se ha observado en usuarios de drogas intravenosas (61). En otros casos, la viremia de rebote puede representar el escape de una respuesta inmunológica inicial exitosa. Finalmente, la viremia persiste en 50 a 85% de las personas con infección aguda (62-64).

El diagnóstico de infección por el VHC en la fase aguda es infrecuente. Las manifestaciones clínicas pueden ocurrir 7 a 8 semanas después de la exposición al virus, pero la mayoría de las personas son asintomáticas o tienen síntomas leves, incluyendo ictericia, astenia y náusea. Aunque rara, la hepatitis fulminante se ha descrito en esta fase (65). La infección se vuelve crónica en la gran mayoría de los casos, y ésta se caracteriza por un periodo prolongado en el cual no hay síntomas. Se estima que un 74 a 86% de las personas tendrán viremia persistente (66).

La historia natural de la infección por VHC ha sido muy difícil de evaluar, debido a lo silencioso de la etapa aguda y al inicio insidioso de los síntomas en las etapas tempranas de la infección crónica. Ya que el intervalo entre la infección y el desarrollo de cirrosis puede exceder los 30 años, pocos estudios prospectivos han sido realizados. Aún con estas limitaciones, la información de estudios retrospectivos y prospectivos permite realizar algunas conclusiones (67,68). La infección aguda conduce a infección crónica en la mayoría de las personas, y el aclaramiento espontáneo de la viremia una vez que la infección crónica se ha establecido es raro. La mayoría de las infecciones crónicas llevarán a hepatitis y a cierto grado de fibrosis, y puede

acompañarse de síntomas inespecíficos como fatiga. Las complicaciones graves y muerte ocurren usualmente en personas con cirrosis, la cual se desarrolla en 15 a 20% de aquellos infectados (69).

En dos estudios de mujeres que recibieron inmunoglobulinas contaminadas con VHC en la década de 1970 se observó que después de 17 a 20 años, más del 95% de aquellas que se sometieron a biopsia de hígado tenían evidencia de inflamación hepática moderada (67). La mitad presentó fibrosis y 3 a 15% tuvo fibrosis en rangos precirróticos. A pesar de que estos hallazgos pudieran ser reconfortantes para las personas infectadas, la alta prevalencia de la enfermedad aún se traduce en un gran número de individuos con secuelas clínicas de la enfermedad. Además, los resultados pueden estar subestimados, dado el alto porcentaje de factores favorables en las cohortes estudiadas. Estos estudios se concentraron en la mortalidad y en las complicaciones graves, sin embargo, la infección por VHC puede tener serios efectos adversos en la calidad de vida aún en ausencia de enfermedad grave (70).

El tiempo en que las diferentes etapas de la enfermedad se desarrollan es altamente variable, con el desarrollo de hepatopatía en un tercio de personas 20 años o menos después de la infección y una no progresión en otro tercio por 30 años o más. Los factores que aceleran la progresión clínica incluyen: la ingesta de alcohol, coinfección con VIH-1 o VHB, género masculino y edad avanzada al momento de la infección (71). Una vez que la cirrosis se ha establecido, el riesgo de carcinoma hepatocelular es aproximadamente del 1 al 4% anual. Aunque éste último puede desarrollarse sin cirrosis previa, es infrecuente.

1.6. PROGRESIÓN DE LA ENFERMEDAD

La transición de la infección crónica por VHC a cirrosis es insidiosa y sin manifestaciones clínicas aparentes. Puede sospecharse en pacientes con elevación de las transaminasas, aumento leve de la bilirrubina y las globulinas, y disminución de las plaquetas. Una vez que el estadio histológico de cirrosis se alcanza, los pacientes pueden permanecer asintomáticos por un largo periodo de tiempo y la descompensación ocurrir en etapas tardías. En general 20 a 40% de los pacientes con infección crónica por hepatitis C desarrolla cirrosis en 30 años.

A pesar de que la infección por VHC lleva a inflamación hepática y esteatosis, las consecuencias principales histopatológicas son el desarrollo de fibrosis hepática, que puede progresar a cirrosis y a un riesgo aumentado de hepatocarcinoma. Estas complicaciones generalmente ocurren más de 20 años después de la primoinfección. Una vez que se desarrolla la cirrosis, las tasas de progresión a falla hepática (cirrosis descompensada) y a carcinoma hepatocelular son aproximadamente de 2 a 4% y de 1 a 7% por año, respectivamente (72,73).

Entre los factores que contribuyen al desarrollo de la cirrosis destaca el consumo de alcohol aunque otros, como la coinfección con VHB, la sobrecarga de hierro y la deficiencia de antitripsina alfa-1, desempeñan una función importante en la progresión de casos particulares. La historia natural de pacientes inmunosuprimidos, como las personas en hemodiálisis por periodos largos es de progresión rápida (74).

Los factores independientes que se relacionan con mayor progresión de la fibrosis son el consumo de alcohol (más de 50 g/día), el género masculino y más de 40 años de edad al momento de la infección. Otros factores vinculados con la progresión rápida de la infección incluyen raza, infección con VIH y el genotipo viral. Está bien demostrado que la coinfección con el virus de la hepatitis B o VIH se acompaña de mayor riesgo de hepatitis fulminante, progresión rápida de la fibrosis e incremento del riesgo de hepatocarcinoma (75). Por último, los pacientes que reciben interferón tienen menor probabilidad de padecer cirrosis descompensada y hepatocarcinoma.

La relación entre la hepatitis C crónica y el hepatocarcinoma está bien establecida. La mayor parte de los estudios acepta que en más de 70% de los pacientes con hepatocarcinoma es posible detectar marcadores de infección por VHC. El principal factor relacionado con hepatocarcinoma en el contexto de hepatitis C crónica es la cirrosis (76). La edad mayor de 55 años, el género masculino y la elevación de la alfa-feto proteína son los factores que más se vinculan con hepatocarcinoma en pacientes con cirrosis compensada. Aunque se cree que el genotipo 1b se vincula con el desarrollo del mismo, esto aún no se confirma y es probable que se deba sólo a una relación epidemiológica.

1.7. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Las pruebas diagnósticas para la infección por VHC se dividen en pruebas serológicas para anticuerpos y pruebas moleculares para partículas virales.

Las pruebas basadas en la detección de anticuerpos han disminuido importantemente el riesgo de infección por transfusión de hemoderivados, y una vez que el individuo seroconvierte, se mantiene usualmente con anticuerpos positivos. Estudios recientes muestran que el nivel de anticuerpos para el VHC disminuye gradualmente a lo largo del tiempo en los pocos pacientes en quienes la infección se resuelve espontáneamente.

La principal prueba serológica de escrutinio para la infección por VHC es el ELISA o inmunoensayo enzimático (IE), para el cual hay tres versiones consecutivas con el resultante incremento en sensibilidad. Las pruebas actuales de IE de segunda generación se basan en la

detección de la nucleoproteína, así como de proteínas no estructurales (NS4 y NS3); el IE de tercera generación incluye además un antígeno adicional de la proteína NS5 y puede detectar anticuerpos dentro de las 4 a 10 semanas posteriores a la infección, siendo su sensibilidad del 97%. En poblaciones de bajo riesgo, la prueba falla sólo en 0.5 a 1% de los casos (77). Estas pruebas son mediciones de la infección por VHC, no de la inmunidad; no hay pruebas disponibles para anticuerpos neutralizantes virales. Los métodos para detección de anticuerpos IgM contra VHC no son clínicamente útiles.

Las pruebas llamadas de confirmación comúnmente son usadas para evaluar el resultado positivo del IE. La FDA (Food and Drug Administration) ha aprobado el uso de la prueba RIBA por sus siglas en inglés (recombinant immunoblot assay). Esta identifica antígenos específicos para los cuales los anticuerpos están reaccionando en el IE, y el resultado puede ser positivo (> o = 2 antígenos), indeterminado (un antígeno) o negativo (78). Está demostrado que los individuos que presentan reactividad para una sola banda (resultado indeterminado) rara vez son virémicos. Las pruebas de tercera generación tienen menor frecuencia de resultados indeterminados (79); son más específicas pero menos sensibles que las pruebas de IE. El uso de la prueba confirmatoria RIBA está recomendado solamente en las poblaciones de bajo riesgo, como son los bancos de sangre.

1.7.1. PRUEBAS CUALITATIVAS PARA LA DETECCIÓN DEL RNA DEL VHC

La detección del RNA del VHC en sangre (viremia) es un índice de la replicación del viral y confirma la presencia de infección activa. Estas pruebas pueden ser cualitativas o cuantitativas.

El RNA del VHC puede ser detectado en plasma y suero mediante la prueba de amplificación de ácidos nucleicos a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés); la prueba de amplificación mediada por transcripción (TMA por sus siglas en inglés) y mediante las tecnologías de DNA ramificado.

Los métodos cualitativos están basados en la técnica de PCR y tienen un nivel de detección bajo: 1) prueba AMPLICOR versión 2.0 y 2) prueba AMPLICOR COBAS versión 2.0, detectan ambas un nivel mínimo de 50 UI/mL (80). La prueba de TMA, llamada en inglés V9ERSANT HCV RNA Qualitative Assay, detecta hasta 10 UI/mL (81).

El empleo de la PCR para detectar RNA del VHC está indicado en los siguientes casos: hepatitis aguda antes del periodo de seroconversión, pacientes seronegativos con inmunodeficiencias, cuando se obtienen pruebas inmunoserológicas indeterminadas, durante la

vigilancia de pacientes bajo tratamiento antiviral y en la investigación de la infección en recién nacidos (82).

1.7.2. PRUEBAS CUANTITATIVAS PARA LA DETECCIÓN DEL RNA DEL VHC

La determinación de la cantidad de RNA viral en suero o plasma se denomina carga viral. Existen varios métodos para la cuantificación de ácidos nucleicos. Se diferencian en sensibilidad, espectro de cuantificación, precisión y reproducibilidad (83).

Para que los resultados de los diferentes métodos diagnósticos puedan ser comparables, los laboratorios deben reportar los resultados cuantitativos en unidades internacionales (UI), que corresponde a una cantidad estandarizada de RNA del VHC en lugar de un número de partículas virales (84). Se recomienda utilizar una misma prueba para el seguimiento longitudinal de la carga viral de cada paciente. El valor inferior de corte de detección de las pruebas de uso convencional varía entre 30 UI/mL y 615 UI/mL; el valor superior de detección oscila entre 500,000 y 7,700,000 UI/mL.

1.7.3. GENOTIPO DEL VHC

La determinación del genotipo viral es útil para predecir la respuesta al tratamiento. Existen diferentes métodos para determinar el genotipo del VHC, la mayoría se basa en la amplificación por técnica de PCR. Hasta este momento, la única distinción clínicamente relevante es entre el genotipo 1 y los genotipos 2 y 3.

1.7.4. DETERMINACIÓN DE AMINOTRANSFERASA DE ALANINA (ALT)

La ALT se utiliza de manera rutinaria para evaluar la función hepática en individuos infectados por el VHC, de tal forma que los niveles elevados de ALT se correlacionan con firmeza con la presencia de lesión hepática; constituye un marcador alternativo de actividad de la enfermedad (82). Es importante tomar en cuenta que existe un grupo de pacientes que aún teniendo datos de hepatitis crónica en la biopsia hepática, cursa con niveles normales de ALT, de acuerdo a los valores de referencia que se utilizan en forma universal como normalidad de la prueba (0 a 40 UI/L). De tal forma que un valor normal no descarta infección activa, enfermedad hepática progresiva o cirrosis. De manera similar, la normalización de los valores de ALT con el tratamiento no es evidencia de éxito del mismo (85).

1.7.5. BIOPSIA HEPÁTICA

La biopsia hepática continúa siendo la prueba de elección para determinar infección activa por VHC, y el estadiaje histológico es el único predictor confiable de pronóstico y de progresión. Por lo tanto, la biopsia hepática generalmente se recomienda para el abordaje inicial de pacientes con infección crónica por VHC (86). Sin embargo, no se considera obligatoria ni indispensable previo al inicio de tratamiento, y algunos sólo la recomiendan si el tratamiento no resulta en una remisión sostenida o en aquellos con infección por VHC genotipo 1.

La biopsia hepática provee de información importante en 4 procesos relacionados a VHC: necrosis periportal, lesión parenquimatosa, inflamación portal y fibrosis. Basado en la suma de estos puntajes, un sistema de graduación estandarizada, el índice de actividad histológica o escala de Knodell, proporciona una representación numérica de la extensión de la enfermedad que va de 0 a 22 (87). Sin embargo, la extensión de la fibrosis es el hallazgo más importante en los pacientes con hepatitis C.

1.8. TRATAMIENTO PARA HEPATITIS C CRÓNICA

Ha habido una mejoría dramática en la eficacia de los tratamientos de hepatitis crónica en la última década. Sin embargo, los tratamientos son caros, pueden ocasionar reacciones adversas significativas y solamente se logra una erradicación viral en aproximadamente el 50% de los pacientes tratados. Las metas del tratamiento en pacientes con infección crónica incluye: normalización de transaminasas séricas, control virológico y erradicación, y mejoría histológica. La mayoría de los estudios han mostrado que la respuesta virológica predice una respuesta bioquímica e histológica. La definición de control virémico es el mantenimiento de una respuesta virológica sostenida, definida por una prueba negativa de PCR seis meses posterior al término del tratamiento. Los pacientes con una respuesta virológica sostenida tienen una alta probabilidad de tener respuesta bioquímica, histológica y virológica permanente. Otros probables beneficios de la terapia son el detener la rápida progresión de la fibrosis y disminuir el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma (85).

En 1989, se reportaron los primeros casos de tratamiento exitoso para infección documentada por VHC con interferón alfa (IFN-alfa), pero la alta tasa de recaída frecuentemente necesitaba retratamiento, el cual casi invariablemente era ineficaz. Desde entonces han surgido diferentes tipos de IFN con eficacia similar y posteriormente se introdujo la terapia combinada con ribavirina, la cual mejoró marcadamente el pronóstico clínico.

En principio, todos los pacientes con infección crónica por VHC son candidatos para tratamiento antiviral. Sin embargo, debe ponderarse cada caso en particular en cuestión de riesgos y beneficios, sobre todo por el curso lento de la infección natural. Sólo un subgrupo de pacientes tendrá una indicación clara para iniciar tratamiento. Esto es el caso de aquellos con niveles detectables de RNA viral que tienen niveles de ALT persistentemente altos y una biopsia hepática con fibrosis o al menos necrosis moderada e inflamación. Estos individuos tienen un riesgo alto de progresión de la enfermedad y el tratamiento está fuertemente indicado en ausencia de contraindicaciones. Asimismo, las personas con elevación de ALT y sólo mínimos cambios necróticos e inflamatorios pueden tratarse. El riesgo de progresión de la enfermedad es bajo en este grupo, y el seguimiento es con ALT y la toma de biopsia a los 3 a 5 años se considera una alternativa razonable (86).

Las personas con niveles de ALT persistentemente altos y sin evidencia histológica de cambios necróticos e inflamatorios tienen un pronóstico excelente sin tratamiento. En ausencia de otras indicaciones, como manifestaciones extrahepáticas, los pacientes en esta categoría son mejor considerados para tratamiento únicamente en el contexto de estudio clínicos controlados.

Es menos probable que los individuos con cirrosis compensada tengan una respuesta sostenida a la monoterapia, sin embargo, algunos estudios muestran que aún sin lograr la erradicación viral, los pacientes tratados pueden tener menor riesgo de progresión a una hepatopatía descompensada y a hepatocarcinoma (88). Las personas con cirrosis descompensada difícilmente tienen respuesta, e incluso su condición puede empeorar.

1.9. INICIO DE TRATAMIENTO COMBINADO

La ribavirina es un análogo de guanosina con una alta biodisponibilidad oral y una excepcionalmente amplia actividad antiviral. El interferón pegilado alfa resulta de la unión de un polietilenglicol al IFN-alfa, lo cual extiende la vida media y la duración de la actividad terapéutica del IFN-alfa. A diferencia del IFN-alfa, el interferón pegilado alfa se administra una vez por semana, y la dosis individual se calcula de acuerdo al peso del paciente.

Dos estudios prospectivos demostraron que la combinación de interferón alfa (IFN-alfa) y ribavirina aumentaban significativamente la tasa de respuesta virológica sostenida, del 16 al 40%. Ambos estudios mostraron que los pacientes infectados por VHC genotipo 2 o 3 y aquellos con cargas virales bajas previas, tenían una respuesta máxima a las 24 semanas del tratamiento; mientras que los individuos con genotipo 1 y aquellos con cargas virales altas previas al tratamiento, requerían un curso de 48 semanas para una mejor resolución (89).

La duración óptima del tratamiento y la dosis de rivabirina fueron investigadas en un estudio multicéntrico, aleatorizado y controlado en donde todos los pacientes recibieron interferón pegilado alfa-2a a una dosis de 180 mcg mientras que los pacientes en los 4 brazos recibieron ya fuera 24 o 48 semanas de rivabirina a 800 mg o 1g o 1.2 g diario. Entre los pacientes con genotipo 1, la tasa de respuesta virológica sostenida fue más alta en aquellos que recibieron la dosis más alta de rivabirina y que fueron tratados por 48 semanas. En los pacientes con genotipos 2 o 3, no se detectaron diferencias en la tasa de respuesta virológica, sugiriendo que los individuos con estos genotipos deben recibir interferón pegilado alfa-2a por solo 24 semanas en combinación con 800 mg de rivabirina. Este hallazgo lleva a la recomendación de que la duración del tratamiento debe estar basada en el genotipo del VHC y a la carga viral pretratamiento. Sin embargo, debido a que en varios sitios todavía no se encuentran bien estandarizadas las pruebas de cuantificación de RNA y debido a que la carga viral fluctúa a lo largo del tiempo, la carga viral no se utiliza habitualmente para determinar el régimen terapéutico (90).

Usualmente, la rivabirina se toma en dosis fraccionadas, en la mañana y en la noche, y el IFN se administra antes de dormir. La respuesta virológica del tratamiento combinado se evalúa en la semana 24. Las personas que tengan una prueba positiva de PCR para carga viral en la semana 24 se consideran como no haber respondido al tratamiento, y éste debe suspenderse. Los pacientes infectados con genotipos 2 o 3 que tengan una prueba de PCR negativa pueden dar por terminado el tratamiento, a diferencia de aquellos infectados con otros genotipos que tienen prueba de PCR negativa, deben continuar por 24 semanas más. Las contraindicaciones para el uso de IFN y rivabirina se resumen en la **Tabla 1**.

El uso combinado de interferón pegilado alfa y rivabirina representan hasta este momento el estándar de tratamiento para la infección por VHC. Las tasas más altas de respuesta virológica sostenida se reportan en pacientes con genotipo 2 o 3, baja carga viral pretratamiento, jóvenes, bajo IMC y ausencia de fibrosis en puentes o cirrosis en la biopsia de hígado (91). Los efectos adversos del IFN-alfa y de la rivabirina son diversos y variables en su frecuencia de presentación, lo que hace importante el seguimiento cercano del paciente. Ver **Tabla 2**.

1.10. CONSIDERACIONES EN EL TRATAMIENTO ANTIVIRAL EN PACIENTES CON LNH ASOCIADO A VHC

El interés que ha generado la pandemia por el VHC, no solamente asociado a hepatopatía crónica, sino también vinculado al carcinoma hepatocelular y a enfermedades linfoproliferativas, ha llevado a proponer al tratamiento antiviral como parte del manejo oncológico.

En un paciente con infección por VHC, se demostró que la misma población clonal de linfocitos que inicialmente mantenía a la crioglobulinemia, dio origen a un LNH, sustentando la relación cronológica entre la infección por VHC, la proliferación linfocítica clonal y el linfoma (92).

La relación entre el VHC y el linfoma es comparable a la relación entre el *H. pylori* y el linfoma gástrico. El *H. pylori* provee un estímulo antigénico de forma crónica para los linfocitos B de la mucosa gástrica. La estimulación crónica es el primer paso hacia la proliferación clonal. De acuerdo con esta teoría, el tratamiento antibiótico de la infección por *H. pylori* en el linfoma asociado al tejido linfoide de la mucosa del estómago resulta con frecuencia en la curación del mismo.

La experiencia de una terapéutica exitosa para los trastornos linfoproliferativos relacionados al VHC con tratamiento antiviral con interferón alfa sólo o combinado con ribavirina, incluye a la crioglobulinemia y al linfoma esplénico de linfocitos vellosos. Cabe mencionar que el interferón ha sido reportado como un agente antitumoral eficaz en linfomas de grado bajo e intermedio, sin ninguna correlación con la infección por VHC, tanto en el tratamiento de inducción como de mantenimiento, sólo o combinado con quimioterapia citotóxica. Los mejores resultados en el tratamiento de inducción fueron obtenidos en combinación con quimioterapia. Sin embargo, en el estudio francés realizado por Hermine y cols., el interferón fue sólo eficaz en los linfomas esplénicos asociados a infección por VHC, mientras que no hubo respuesta hematológica al interferón cuando el virus estaba ausente (93).

Recientemente, el grupo italiano de Vallisa y cols. logró demostrar la eficacia del tratamiento antiviral en el LNH de estirpe B de bajo grado, un grupo aparte del linfoma esplénico vellosos. Mostraron que la respuesta hematológica al tratamiento antiviral estaba relacionada al decremento o desaparición de la viremia. En otras palabras, el tratamiento antiviral fue eficaz contra el linfoma cuando éste era eficaz contra el virus, mientras que la falta de respuesta virológica se asoció a una persistencia de la enfermedad (94).

Asimismo, Tursi y cols., mostraron que el tratamiento con interferón-alfa combinado con ribavirina por 6 meses en pacientes con linfoma gástrico asociado a mucosa (MALT por sus siglas en inglés) quienes eran *H. pylori* negativos, logró la desaparición del tejido linfomatoso en el 68.7% de los pacientes (95).

1.11. MANIFESTACIONES EXTRAHEPÁTICAS DEL VHC

Las manifestaciones extrahepáticas de la infección crónica por VHC son clínicamente evidentes en aproximadamente el 40% de los pacientes. Se ha realizado una gran investigación en la última década para el mejor entendimiento de la incidencia, presentación clínica, mecanismos de enfermedad y papel de la terapia antiviral de estas manifestaciones

extrahepáticas. La mayoría de estos síndromes están asociados a estados linfoproliferativos y se relacionan con la posibilidad de que el VHC sea capaz de replicarse en células linfoides (96). Hasta en la mitad de los pacientes con infección crónica se pueden encontrar crioglobulinas, y los crioprecipitados usualmente contienen grandes cantidades de antígenos del virus y anticuerpos (97). En diversos estudios de prevalencia, se encontró al menos una manifestación clínica en 38% de los pacientes, mientras que hasta un 74% demostró al menos una manifestación serológica. Sólo una pequeña fracción de personas afectadas, 10-15% tienen enfermedad sintomática. Estos síntomas se relacionan a vasculitis, astenia, artralgias y púrpura, y en casos graves hay glomerulonefritis membranoproliferativa, involucro de nervios y afección cerebral. El VHC es la principal causa de la crioglobulinemia mixta esencial tipo II, con viremia por VHC en más del 90% de las personas. En ellas son comunes los resultados falsos negativos en pruebas de anticuerpos para VHC, por lo que debe siempre realizarse confirmación con mediciones del RNA viral. También se ha observado una alta incidencia de LNH en pacientes con VHC, tanto en aquellos con y sin crioglobulinemia mixta (98). Otras enfermedades que se han asociado a este virus son: liquen plano, síndrome sicca y porfiria cutánea tarda, aunque ha sido difícil establecer una clara patofisiología (99-101). Ver **Tabla 3**.

1.11.1. MANIFESTACIONES INMUNOLÓGICAS Y HEMATOLÓGICAS

Existe una alta prevalencia de manifestaciones extrahepáticas e inmunológicas en pacientes con infección por VHC. La crioglobulinemia y los autoanticuerpos se encuentran en un 50% y 70% respectivamente (102). Asimismo, existe una importante asociación con el desarrollo de LNH.

1.11.2. CRIOGLOBULINEMIA

La crioglobulinemia mixta (tipo II y tipo III), enfermedad vasculítica sistémica, fue descrita por primera vez por Meltzer y Franklin en 1964 (103). Típicamente se caracteriza por depósitos de complejos inmunes en vasos de pequeño y mediano tamaño, lo que conduce al desarrollo de púrpura en miembros pélvicos, artralgias y síndrome de Raynaud.

Inicialmente, Ferri y colaboradores demostraron que 41 de 45 pacientes italianos con crioglobulinemia mixta tenían anticuerpos contra VHC. Desde entonces múltiples estudios han confirmado lo que ahora se considera la asociación más fuerte entre el VHC y una manifestación extrahepática. En 1993, Ferri demostró que 96% de los pacientes eran positivos para anticuerpos

anti-VHC y 91% eran positivos para RNA de VHC (104). Los pacientes con VHC genotipo 2a muestran una prevalencia significativamente más alta de crioglobulinemia mixta.

Aunque el mecanismo por medio del cual el VHC ocasiona crioglobulinemia mixta no está bien dilucidado, se ha propuesto que los complejos antígeno-anticuerpo del VHC llevan a la expansión clonal de los linfocitos B dentro del hígado, lo que resulta en producción de factor reumatoide (FR) y reconocimiento de epítopes del virus. Esta sobreproducción de FR puede por lo tanto participar en la formación de complejos inmunes (105).

El tratamiento convencional incluye esteroides, agentes citotóxicos y plasmaféresis. En pacientes con VHC, el uso del IFN-alfa se ha reportado eficaz para el tratamiento de la crioglobulinemia mixta. En diversos estudios se ha visto que los niveles indetectables de RNA del virus se acompañan de la desaparición de crioglobulinas, y que al reaparecer la carga viral después de suspendido el tratamiento con el IFN-alfa recurría la crioglobulinemia sintomática (106).

1.11.3. SIALOADENITIS LINFOCÍTICA

La sialoadenitis linfocítica, similar al síndrome de Sjögren, es considerada un hallazgo común en los pacientes con VHC y se encuentra en el 14 al 57% de ellos. Resulta de la infiltración de las glándulas salivales por linfocitos, consiste en una lesión pericapilar y nunca hay destrucción de las paredes ductales. La mayoría de los pacientes tienen crioglobulinas, mientras que los autoanticuerpos propios del Sjögren (SS-A, SS-B) están ausentes (107).

1.11.4. TROMBOCITOPENIA

La trombocitopenia observada en los pacientes con infección por VHC se cree es secundaria a hiperesplenismo, aunque también se ha reportada en pacientes sin cirrosis ni esplenomegalia. La trombocitopenia en estos pacientes comparte muchas características clínicas con la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI) con grandes plaquetas en el frotis de sangre periférica y megacariocitos normales o grandes en la biopsia de médula ósea. En un estudio italiano, hasta un 36% de los pacientes con PTI fueron positivos para el VHC. Por otra parte, en otros estudios se ha encontrado presencia de anticuerpos antiGPIIb-IIIa en la superficie de las plaquetas circulantes en pacientes con cirrosis, similar a lo visto en la PTI, lo que también puede contribuir a la trombocitopenia (108).

1.11.5. MANIFESTACIONES RENALES

La infección por VHC es una causa importante de glomerulonefritis membranoproliferativa (GNMP). En 1993, Johnson reportó 8 casos de GNMP en pacientes con VHC, todos ellos tenían hipocomplementemia y lesiones glomerulares proliferativas caracterizadas por depósito de IgG, IgM y C3 en las paredes capilares y subendotelio, así como depósitos inmunes mesangiales. En Japón hasta un 60% de los pacientes con GNMP tienen infección por VHC, mientras que en Estados Unidos la frecuencia es del 20%, acorde con la prevalencia del virus en estos países (104).

Frecuentemente el involucro renal es clínicamente silencioso. La presentación más común es la hematuria microscópica y la proteinuria. Aproximadamente el 50% de los pacientes presentan insuficiencia renal leve a moderada, el 25% presenta síndrome nefrítico y otro 25% debuta con síndrome nefrótico (109).

De acuerdo a la evidencia actual el daño glomerular es ocasionado por el depósito de complejos inmunes. Una vez que estos complejos se depositan en el subendotelio y en el mesangio, hay activación del sistema de complemento lo que culmina en proliferación celular e infiltración de células mononucleares. Esto resulta en liberación de proteasas y sustancias oxidativas que ocasionan mayor lesión celular y una permeabilidad glomerular alterada.

Los resultados de laboratorio incluyen elevación del factor reumatoide, disminución de los niveles del complemento; 50% de los pacientes tienen crioglobulinas al momento de la presentación. La biopsia renal muestra proliferación mesangial y esclerosis, celularidad aumentada, contornos dobles de la membrana basal y atrofia tubular. La inmunofluorescencia muestra depósitos de IgM, IgG y complemento.

Aún esta por definirse el mejor tratamiento de la GNMP asociada a VHC. Algunos estudios muestran una mejoría de la proteinuria con efectos variables de los niveles de creatinina en aquellos pacientes tratados con IFN-alfa. Asimismo, hasta un 50-60% de los pacientes tratados con IFN-alfa a una dosis de 3 millones de unidades tres veces por semana por 6 a 12 semanas tienen una disminución de las exacerbaciones nefróticas y nefríticas agudas de la GNMP. Sin embargo, la enfermedad renal reaparece en muchos casos al suspender el IFN-alfa (110).

Aunque la GNMP continúa siendo la manifestación renal más frecuente en los pacientes con infección por VHC, la nefropatía membranosa, la glomerulonefritis fibrilar, la glomerulonefritis rápidamente progresiva y la nefropatía por IgA también han sido reportadas en estos pacientes.

1.11.6. MANIFESTACIONES DERMATOLÓGICAS

Entre las manifestaciones dermatológicas de la infección por VHC se encuentran:

- **Porfiria cutánea tarda:** Resulta de la actividad disminuida de la uroporfirinógeno descarboxilasa. En la tipo I, la forma esporádica de la enfermedad, la enzima está disminuida en un 50% únicamente en los hepatocitos, a diferencia de la tipo II, la forma autosómica dominante, donde el defecto esta presente en otras células incluyendo los eritrocitos. Existe una fuerte asociación, entre el 50-90%, entre la forma esporádica de la porfiria cutánea tarda y la infección por VHC, demostrada en diversos estudios de Japón, Europa y los E.U. Algunos investigadores han postulado que el VHC descompartmentaliza el hierro llevando a la formación de radicales libres y la oxidación de uroporfirinógenos. Otros especulan que un decremento del glutatión intracelular inducido por el VHC actúa como factor desencadenante. Está por definirse el papel del IFN-alfa en el tratamiento de esta entidad (111).

- **Vasculitis leucocitoclástica:** Se le asoció con el VHC por primera vez en 1981. Esta vasculitis necrotizante cutánea se caracteriza por la destrucción de vasos sanguíneos dérmicos con infiltración neutrofilica. Los pacientes típicamente presentan púrpura palpable en las extremidades inferiores. En un estudio de 1995 la púrpura palpable correspondiendo histológicamente a la vasculitis leucocitoclástica fue el involucro cutáneo más frecuente en pacientes con VHC. En algunos estudios se ha reportado resolución de las lesiones purpúricas con el uso de IFN-alfa (111).

- **Liquen plano:** Esta es una enfermedad benigna caracterizada por una erupción pápuloescamosa, violácea y prurítica que involucra las extremidades, genitales y superficies mucosas. Histológicamente hay una infiltración densa de linfocitos en la dermis superior. Hay estudios que demuestran que un 26% de los pacientes con liquen plano oral tienen hepatopatía crónica, y de éstos, 33% tienen VHC. Se desconoce con certeza la participación del virus en esta entidad. El uso del IFN-alfa ha mostrado resultados controversiales (112).

1.11.7. MANIFESTACIONES NEUROLÓGICAS

La neuropatía más comúnmente asociada al VHC es la neuropatía periférica, la cual se asocia a vasculitis inducida por crioglobulinemia. Un estudio de 89 pacientes con VHC encontró

evidencia electrofisiológica de polineuropatía en 37% de los mismos. En este estudio la polineuropatía fue más común en pacientes con crioglobulinemia. De hecho, un tercio de los pacientes sin otros síntomas asociados a crioglobulinemia tienen polineuropatía. Se ha demostrado en un pequeño estudio, que la biopsia de nervio periférico de los pacientes con polineuropatía asociada a infección por VHC, muestra RNA viral localizado en células epineurales. Hasta este momento su fisiopatogenia no está dilucidada y tampoco hay estudios controlados que evalúen su tratamiento.

Otras manifestaciones neurológicas descritas son: parestesias, encefalopatía y el síndrome de Guillain-Barré (113).

1.11.8. MANIFESTACIONES ENDÓCRINAS.

A diferencia del hipotiroidismo desarrollado como consecuencia del tratamiento con IFN, la infección crónica por VHC puede conducir directamente a resistencia a la insulina independientemente de la obesidad. Estudios epidemiológicos han demostrado una asociación entre VHC y diabetes mellitus. Igualmente interesante, cabe mencionar que se ha demostrado una mejoría de la sensibilidad a la insulina con la terapia con IFN (114,115).

1.11.9. VHC Y LINFOMA DE CÉLULAS B

El número de virus asociados a linfoma se ha incrementado en los últimos 20 años, e incluye al virus Epstein Barr (VEB), al virus linfotrófico humano de células T (HTLV-1 por sus siglas en inglés), al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2) y al herpes virus 8. Algunos causan linfomas por oncogénesis directa, como es el caso del VEB y el linfoma de Burkitt. Otros causan linfomas en pacientes inmunocomprometidos, como el virus herpes 8 en el linfoma primario asociado a derrames pleurales y en el síndrome de Castleman. El tratamiento exitoso de los linfomas asociados a virus es frecuentemente difícil, tanto por su comportamiento agresivo, como en el linfoma de Burkitt, como por el desarrollo de infecciones asociadas a la quimioterapia en pacientes ya de inicio inmunodeprimidos (116).

El VHC se ha reconocido recientemente como una causa potencial de LNH de células B. La información epidemiológica que apoya una asociación del VHC con el LNH es controversial, con cierta discordancia entre los diferentes reportes. La mayoría de los estudios positivos se han originado en Italia, donde la prevalencia del VHC es particularmente alta. El linfoma que tiene la

asociación más clara con el VHC es el linfoma linfoplasmocitoide, de estirpe B que puede complicar a la crioglobulinemia mixta, con hasta un 30% de casos asociados con el virus (117).

Es en los países de alta prevalencia de infección por VHC donde se ha visto una mayor frecuencia de infección por VHC en los pacientes con linfoma de células B, particularmente linfomas de la zona marginal de bajo grado, linfomas de estirpe B hepatoesplénico primario y recientemente LNH de células difusas y grandes (118).

No existe una asociación consistente entre el linfoma Hodgkin y el LNH de células T con el VHC (116).

La presentación del LNH asociado al VHC difiere del LNH habitual. Los linfomas que se relacionan con el VHC se presentan comúnmente como linfomas extranodales primarios, especialmente del hígado, bazo y glándulas salivales en un 65% de los casos, comparado con el 19% de los controles (119). Esto es un reflejo de la habilidad del virus para infectar a estos órganos. Estudios retrospectivos de pacientes cuya infección puede establecerse cronológicamente con certeza, sugieren que el periodo de latencia promedio desde que se adquiere la infección hasta el momento de la presentación del linfoma es de 15 años.

Algunos datos que apoyan el papel del VHC en la génesis del LNH son: 1) el hallazgo de secuencias virales en el tejido linfomatoso, y 2) el descubrimiento de un receptor específico (CD81) en la superficie de los linfocitos B para la glicoproteína E2 de la envoltura del VHC que permite su internalización (39).

La transformación linfocítica directa por un determinado agente microbiológico era hasta este momento el escenario más simple en el cual el desarrollo de los linfomas asociados a infección encontraban su mejor explicación. Sin embargo, recientemente ha surgido un escenario alternativo a esta transformación directa de los linfocitos para los microorganismos asociados a linfomas, en el cual no existe infección ni transformación directa de las células linfoides. Los agentes microbiológicos (bacterias o virus) tienen en común la habilidad de persistir crónicamente en los tejidos del huésped y desencadenar una proliferación linfoide sostenida, dando una ventaja selectiva a las clonas de los linfocitos B que fueron estimulados inicialmente en la primoinfección frente al antígeno viral. De acuerdo con este modelo, el microorganismo patógeno no transforma intrínsecamente a la célula huésped ni es oncogénico, pero puede ser considerado como una fuente crónica de antígenos que aumenta la tasa de proliferación de los linfocitos efectores, promoviendo así el proceso de transformación. Al iniciar la proliferación linfocítica desencadenada por la estimulación fisiológica de un antígeno, y con la progresión de la enfermedad, pueden

ocurrir eventos oncogénicos adicionales, haciendo que la linfoproliferación se vuelva independiente de la estimulación antigénica inicial (120).

Finalmente, existe una gran cantidad de estudios de Brasil, Italia, Israel, Japón, Rumania, Turquía, Suiza y E.U.A. que reportan una asociación entre el VHC y el LNH de células B. Los resultados controversiales entre los diferentes estudios pueden explicarse por la baja probabilidad de los portadores de VHC de desarrollar linfoma, de tal forma que para valorar con certeza el riesgo exacto se requiere de una cohorte de pacientes lo suficientemente grande.

Tomando en cuenta la evidencia disponible hasta este momento, todo apunta a considerar al VHC únicamente como un factor de riesgo importante para el desarrollo de LNH de células B en áreas con una alta prevalencia de infección por el mismo.

1.12. MECANISMOS DE PERSISTENCIA DEL VHC

Poco se sabe acerca de porque algunas respuestas inmunológicas celulares son extensas y vigorosas y otras son inefectivas. Se han descrito diferencias entre aquellos en quienes la infección por VHC persiste y aquellos en quienes se da el aclaramiento viral, que incluye la presencia de ciertos alelos de CMH (complejo mayor de histocompatibilidad) clase I y II (121).

Probablemente, la inmunidad innata es en extremo importante en la inicial contención de la infección y en la subsecuente respuesta inmune adaptativa. Se sabe que el VHC es potencialmente capaz de bloquear la inducción de interferones, así como de impedir las funciones antivirales y antiproliferativas de estas citocinas. Asimismo, se ha demostrado que la unión de la proteína E2 al CD81 se asocia con una inhibición de la actividad de las células asesinas naturales. Por otra parte, en diversos estudios la propia infección por VHC se ha relacionado con una función alterada de las células dendríticas periféricas (122).

Existen mecanismos que reducen la susceptibilidad de las células infectadas al ataque citolítico del sistema inmune, tal como ocurre con la evasión de la muerte celular programada mediada por el FNT-alfa, cuando la nucleoproteína del VHC se une al extremo terminal del receptor del FNT.

Finalmente, tanto la variación de la secuencia del VHC como el escape inmunológico de los linfocitos T y B pueden contribuir a la persistencia viral. Las mutaciones dentro de las secuencias de amino ácidos de un epítoto crítico pueden permitir a una nueva variante de cuasiespecie evadir una respuesta inmunológica previamente supresora, tanto celular como humoral. Dado que la respuesta inmunológica al VHC esta dirigida contra múltiples epítotos

simultáneamente, parece probable que la diversidad de las cuasiespecies es resultado de la persistencia viral, más que una causa primaria de ella (123).

En resumen, es posible que muchos factores contribuyan a la persistencia del VHC y que éste haya desarrollado una variedad de mecanismos redundantes de evasión inmune que asegure su persistencia prolongada en la mayoría de las personas inmunológicamente normales que se infectan. Es probable que en el futuro se identifiquen mecanismos adicionales de evasión inmune del VHC.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar del gran número de series de casos que buscan establecer una asociación clara entre la infección por VHC y el desarrollo del LNH, falta evidencia y conocimiento en relación a los mecanismos específicos que el virus lleva a cabo en la proliferación y posterior transformación del tejido linfoide. Establecer que la infección por VHC es un factor de riesgo para desarrollar linfoma constituiría un punto determinante en los futuros esquemas de tratamiento quimioterapéutico, puesto que la erradicación del agente viral podría representar la resolución de la neoplasia, o incluso el no surgimiento de la misma.

III. OBJETIVOS

- Describir las características clínicas y la evolución de los pacientes que teniendo antecedente de infección por VHC, desarrollaron linfoma no Hodgkin.
- Describir la importancia del VHC como un factor de riesgo potencial en el desarrollo de LNH de células B.
- Resaltar las diferencias de los resultados con las diferentes series reportadas en la literatura médica, en cuanto a la presentación clínica y desenlace que tuvieron los pacientes.

IV. JUSTIFICACIÓN

Aumentar la evidencia que apoya la asociación del VHC en la patogenia del linfoma no Hodgkin de células B en población mexicana, como manifestación extrahepática del virus poco conocida por la comunidad médica. El encontrar asociaciones causa-efecto entre agentes microbiológicos y enfermedades hemato-oncológicas abre un gran panorama en el campo médico, generándose la posibilidad de curación por medio de la erradicación del agente etiológico.

Por la evidencia actual en la literatura médica sobre la asociación del VHC con el desarrollo de LNH, los pacientes con infección crónica por VHC tienen aparentemente un riesgo mayor que la población general de desarrollar LNH, siendo esta una razón más para generar nuevas herramientas terapéuticas que logren la erradicación del virus.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó con nueve pacientes con diagnóstico de hepatitis C y LNH provenientes de tres instituciones: Fundación Médica Sur, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición Salvador Zubirán y Centro Médico Nacional Siglo XXI en el periodo comprendido desde marzo de 1998 a diciembre del 2005.

Se describen datos demográficos, datos clínicos relevantes, resultados de laboratorio, biopsia hepática, tratamiento y evolución de cada paciente. Los estudios de laboratorio realizados comprendieron: hemoglobina, plaquetas, leucocitos, transaminasas, fosfatasa alcalina (FA), tiempo de protrombina (TP), albúmina sérica, medición de anticuerpos anti-VHC por ELISA y en algunos casos, prueba confirmatoria con prueba RIBA y carga viral.

VI. RESULTADOS

- **Características clínicas y demográficas:** Se incluyeron 9 pacientes (2 hombres y 7 mujeres), con una edad promedio de 59.1 años (38-77 años). Todos ellos tenían un antecedente de transfusión antes del diagnóstico de LNH e infección por VHC. El tiempo promedio entre el evento transfusional y el diagnóstico fue de 22 años. Ver **Tabla 4**
- **Resultados de laboratorio:** Al momento del diagnóstico de LNH seis pacientes presentaron alteraciones de las pruebas de funcionamiento hepático, con un valor promedio de AST de 104 UI/ml (rango normal <40 UI/ml) y un valor promedio de ALT de 118 UI/ml (rango normal <40 UI/ml), siendo los rangos de 63-215 UI/ml y 55-295 UI/ml respectivamente. Un paciente tuvo enzimas hepáticas normales con hipoalbuminemia de 2.3 mg/dl. Dos pacientes presentaron elevación de transaminasas después de la quimioterapia con CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona): AST 75 UI/ml y ALT 81 UI/ml (paciente 6) y AST 301 UI/ml y ALT 294 UI/ml (paciente 7). Asimismo, tres pacientes tuvieron hiperbilirrubinemia (límite normal alto 1.2 mg/dl) con un promedio de 1.52 mg/dl (rango 1.27-1.8 mg/dl) y otros tres diferentes pacientes presentaron trombocitopenia (límite normal bajo 150,000/mm³) siendo el valor más bajo de 86,000/mm³ secundario a hipertensión portal, mismos que tenían cirrosis en la biopsia hepática. Ver **Tabla 5**.
- **Serología y carga viral:** En cada uno de los pacientes el diagnóstico de infección por virus de hepatitis C se realizó con medición de anticuerpos séricos por medio de ELISA de tercera generación. En uno de ellos el diagnóstico se confirmó con prueba RIBA y en cinco de ellos se realizó medición de carga viral (RNA-VHC) utilizando la prueba Amplicor de Roche mediante RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa a través de transcripción inversa): 4 con prueba cuantitativa (límite inferior de detección 600 UI/ml) y 4 con prueba cualitativa (límite inferior de detección 50 UI/ml). Ver **Tabla 5**.

VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES

La **Tabla 6** muestra la localización y tipo histológico del LNH, el tratamiento y la supervivencia de los pacientes de este estudio. Se presenta a continuación una breve historia clínica de cada uno de los casos de este estudio.

Paciente 1: Femenino de 53 años de edad con infección crónica por VHC se presenta en julio de 1999 con debilidad e hiporexia, asociado a hepatomegalia así como a una masa epigástrica firme. La primera biopsia por aspiración mostró un tumor indiferenciado, probablemente un hepatocarcinoma. Se realizó una segmentectomía con resección de 3 cm de la masa ovoidea. El reporte histopatológico mostró un LNH tipo B de células difusas y largas, el tejido no tumoral presentó hepatitis crónica con fibrosis grado III, inflamación portal moderada, inflamación lobulillar y necrosis periportal leve. Ver **Figura 4**. Recibió seis ciclos de quimioterapia con CHOP. Posteriormente, se le administró IFN-alfa 2b y ribavirina. Desafortunadamente no toleró la dosis total del tratamiento por anemia y plaquetopenia, además de continuar con RNA-VHC positivo a la semana 12, motivos por los cuales se suspendió el tratamiento. En diciembre del 2004 continuaba en remisión del linfoma.

Paciente 2: Femenino de 67 años de edad con cirrosis compensada por VHC conocida en nuestra clínica desde 1994. La infección por VHC se diagnosticó en 1990. En 1998 presentó hemorragia de tubo digestivo alto (hematemesis y melena). Una endoscopia evidenció una lesión gástrica polipoide de 3 cm. El reporte histopatológico mostró un LNH de células B y ausencia de *H. pylori*. Se realizó una resección gástrica parcial seguida de seis ciclos de quimioterapia con CHOP. Se encontraba asintomática hasta diciembre del 2004.

Paciente 3: Masculino de 38 años de edad con cirrosis hepática por VHC complicada con ascitis, bajo tratamiento con diuréticos. En octubre del 2000 presentó dolor torácico posterior de tipo quemante, irradiado a miembros pélvicos, acompañado de parestesia e hipoestesia. Una RM de columna torácica mostró una lesión extramedular extendiéndose desde T1 a T6, comprimiendo el espacio medular. Se realizó resección quirúrgica con descompresión y fijación de la columna. El diagnóstico histológico reveló un LNH de estirpe B. El paciente recibió quimioterapia y radioterapia. Ha recuperado movilidad de las extremidades inferiores y se encontraba en remisión del linfoma hasta julio del 2004.

Paciente 4: Masculino de 77 años de edad con diagnóstico de cirrosis hepática compensada secundaria a VHC desde 1995. En marzo de 1998 presentó fiebre, adinamia, crecimiento ganglional cervical y hepatoesplenomegalia. Una radiografía mostró múltiples infiltrados pulmonares. La biopsia del ganglio cervical reportó LNH de células grandes y difusas. Recibió seis

ciclos de quimioterapia con CHOP con remisión de la adenomegalia, la visceromegalia y los infiltrados pulmonares. Durante su seguimiento no ha habido evidencia de actividad tumoral hasta diciembre del 2001. Debido a trombocitopenia persistente el paciente no recibió tratamiento para el VHC.

Paciente 5: Femenino de 64 años de edad con cirrosis hepática compensada secundaria a VHC desde 1995. En julio del 2000 presentó conjuntivitis persistente bilateral de predominio izquierdo, refractaria a tratamiento. Una biopsia mostró linfoma difuso tipo MALT estirpe B. Ver **Figura 5**. Recibió 23 sesiones de radioterapia. Hasta diciembre del 2001 se encontraba libre de actividad tumoral.

Paciente 6: Femenino de 56 años de edad con antecedente de transfusión sanguínea en 1990, recibió tratamiento en 1999 con ciclofosfamida, vincristina, bleomicina y etopósido para LNH inmunoblástico localizado en bazo con lo cual tuvo remisión completa. Al momento de encontrarse bajo tratamiento con ciclofosfamida, prednisona e IFN-alfa presentó elevación de enzimas hepáticas acompañándose de astenia y adinamia. Un US abdominal mostró esteatosis hepática y un quiste simple en lóbulo derecho, sin alteraciones en vesícula ni bazo. Un estudio endoscópico reveló várices esofágicas grado I y leve gastropatía portal. La prueba serológica fue positiva para infección por VHC.

Paciente 7: Femenino de 32 años de edad previamente asintomático y con serología positiva para VHC fue diagnosticado con LNH en el 2001 con actividad tumoral en cuello, pelvis, bazo y riñón. Recibió cuatro ciclos de quimioterapia con ciclofosfamida, vincristina, mitoxantrona y prednisona. En abril del 2002 presentó alteración de las pruebas de funcionamiento hepática. Una biopsia hepática percutánea reportó un resultado indeterminado sugiriendo daño hepático por toxicidad a fármacos, motivo por el cual se suspendió la quimioterapia.

Paciente 8: Femenino de 67 años de edad diagnosticado con infección por VHC por una prueba de screening en febrero del 2003 al referir fatiga y encontrarse con elevación leve de aminotransferasas. Recibió transfusión sanguínea en 1968 por hemorragia de tubo digestivo por úlcera gástrica. Una biopsia hepática realizada reportó hepatitis crónica con actividad leve. Desafortunadamente no tuvo respuesta al tratamiento combinado (IFN-alfa y ribavirina) dado que la cuantificación del RNA-VHC fue positiva a la semana 24 y se suspendió el tratamiento. En enero del 2005, se detectaron tres ganglios linfáticos submaxilares y una biopsia reportó LNH de estirpe B. Recibió cuatro ciclos de quimioterapia con CHOP. La paciente se encontraba asintomática hasta marzo del 2006.

Paciente 9: Femenino de 64 años de edad diagnosticado con LNH nasal en febrero de 1997. Recibió quimioterapia con CHOP y radioterapia hasta octubre del mismo año y ha estado en remisión desde entonces. En el 2004 se le diagnosticó hepatitis crónica por virus C después de realizarse prueba de screening por presentar diátesis hemorrágica. Tenía el antecedente de transfusión sanguínea en 1973 y 1975 por epistaxis. Las aminotrasferasas se encontraron elevadas y la biopsia hepática reportó hepatitis crónica con un índice de Knodell de 8/22. En el 2005 empezó tratamiento con IFN-pegilado y ribavirina con buena tolerancia.

VIII. DISCUSIÓN

Como se describe anteriormente, se reporta la asociación entre la infección por VHC y el LNH en nueve pacientes, en quienes predominaron los linfomas extranodales: un linfoma primario de hígado, linfoma gástrico, linfoma de sistema nervioso central, dos linfomas sistémicos, un linfoma de conjuntiva, un linfoma esplénico y un linfoma nasal. Se desconoce en nuestra población la frecuencia de infección por VHC en pacientes con linfoma. El linfoma gástrico reportado en esta serie de pacientes fue detectado de una lesión polipoide que correspondió a un linfoma de estirpe B; la búsqueda de *H. pylori* fue negativa, lo que hace poco probable su asociación con linfoma tipo MALT.

En nuestro estudio la asociación entre VHC y LNH fue mayor en mujeres. El promedio de edad de las mujeres fue de 59 años, con un rango entre 32 y 79 años.

En nuestra serie, todos los pacientes recibieron quimioterapia a base de ciclofosfamida, vincristina, prednisona y doxorubicina (CHOP) sin complicaciones, excepto por un paciente que presentó alteración de las pruebas de funcionamiento hepático. Una biopsia percutánea realizada en ese momento sugirió lesión hepática por toxicidad, por lo que la quimioterapia se suspendió. Los pacientes con linfoma en conjuntiva y en mucosa nasal recibieron radioterapia siendo ésta bien tolerada. Asimismo, solamente dos pacientes recibieron IFN-alfa, uno de ellos recibió una dosis menor posterior al desarrollo de anemia y neutropenia.

Desde la publicación del artículo de Harris en 1965, se han reportado múltiples descubrimientos relacionados a la epidemiología del cáncer y a los efectos carcinogénicos de los microorganismos. Aproximadamente una quinta parte de todas las neoplasias en los seres humanos a nivel mundial se originan del estómago (9%), hígado (6%) o cervix (5%), y la mayoría podrían prevenirse si estas infecciones pudieran erradicarse. Basta mencionar la contribución del virus de la hepatitis B en la génesis del hepatocarcinoma, al papilomavirus como agente etiológico del cáncer cervicouterino y cáncer anogenital y al virus herpes 8 causante del sarcoma de Kaposi (124).

Existe en la actualidad un gran interés por demostrar una relación causal entre la infección crónica por el VHC y el desarrollo de LNH. Los estudios más recientes giran alrededor de la pregunta de si el VHC es capaz de replicarse en tejidos hematopoyéticos. Los reservorios hematopoyéticos de la infección viral podrían tener potencialmente un papel importante en la persistencia viral a través de mecanismos tales como el escape inmunológico y la modulación viral de la respuesta inmune del huésped. Desde una perspectiva clínica, la infección hematopoyética puede ayudar a explicar la biología clínica tan diversa de la infección crónica por VHC, incluyendo

algunas de las manifestaciones extrahepáticas, la asociación con LNH, la resistencia a la terapia antiviral, la recaída después del tratamiento inicialmente exitoso y la infección recurrente después del trasplante hepático. El VHC comúnmente infecta y se replica en los ganglios linfáticos perihepáticos in vivo, documentándose así un nuevo reservorio viral durante la infección natural en el hombre.

Hasta ahora, todos los modelos se han basado en el supuesto de que la replicación productiva del VHC ocurre en los reservorios extrahepáticos a un nivel insignificante comparado con la que se lleva a cabo en el hígado. Sin embargo, Pal y colaboradores han sugerido un nuevo modelo de extensión de la infección por VHC. Teóricamente, las células B y/o los linfocitos o monocitos pueden infectarse mientras circulan en la sangre, o probablemente durante su paso a través del hígado y posteriormente establecer infecciones locales dentro de los ganglios linfáticos. Otra posibilidad es que la infección viral pueda extenderse localmente a través de los vasos linfáticos hacia los ganglios linfáticos perihepáticos, resultando en la infección de las células inmunológicas periféricas previa a la recirculación. Su trabajo se agrega a la evidencia que establece que el VHC tiene actividad linfoproliferativa y por ende un papel potencial en la linfomagénesis (125). ¿Acaso estas observaciones implican que el éxito del tratamiento sería más plausible en linfomas con una menor tendencia a afectar los ganglios linfáticos perihepáticos?

El virus de la hepatitis C carece de transcriptasa reversa y por ello es incapaz de integrarse al genoma del huésped, asimismo, no codifica para ningún oncogén conocido. Las proteínas codificadas por el virus pudieran interferir con la señal de transducción, la regulación del crecimiento y con la apoptosis. De igual forma, el VHC es capaz de evadir el sistema inmune al iniciar mutaciones en su genoma, desarrollar defectos en el reconocimiento de antígenos e invadir a los linfocitos B, que actúan como un santuario protegido del ataque inmunológico de las células T.

Asimismo, la alta frecuencia de células B monoclonales circulantes que expresan la misma inmunoglobulina de cadena pesada que los linfocitos B productores de Ac-anti VHC en los pacientes con infección crónica por VHC, y que se hacen indetectables con la terapia antiviral, es otro dato que apoya la asociación entre el LNH y el VHC. Con el tratamiento antiviral también existe supresión del VHC, eliminando posiblemente la proliferación monoclonal temprana y previniendo de esta manera, la transformación subsecuente a linfoma. De igual forma, los linfocitos que se encuentran en los folículos intrahepáticos de pacientes con infección crónica por VHC muestran diferentes grados de proliferación oligoclonal (116).

Hasta hace poco, la transformación linfocítica directa por un determinado agente microbiológico era el escenario más simple contemplado para explicar el desarrollo de los linfomas

asociados a infección. Los virus transformadores linfotróficos por excelencia son el virus Epstein Barr, el herpesvirus humano 8 y el HTLV-1, los cuales infectan directamente un subgrupo de células linfoides en quienes expresan oncogenes virales (126).

Un escenario alternativo a la transformación directa de los linfocitos surgió recientemente con el modelo de linfoproliferación inducido por antígeno. En este modelo los microorganismos asociados con linfomas, pero que no infectan directamente ni transforman a las células linfoides, tienen en común la habilidad de persistir crónicamente en los tejidos del huésped y desencadenar una proliferación linfoide sostenida, dando una ventaja selectiva a las clonas de linfocitos que aún permanecen dependientes de la estimulación antigénica. De acuerdo con este modelo, el agente causante no es ni intrínsecamente transformante ni oncogénico, pero puede ser contemplado como una fuente de antígenos constante que aumenta la tasa de proliferación de los efectores linfoides, sirviendo de base para el proceso de transformación. Este modelo surgió con la descripción de varios linfomas que se desarrollaban en el contexto de una estimulación crónica dependiente de antígeno, entre los cuales el asociado a *H. pylori* es el mejor caracterizado (121).

La linfoproliferación inducida por antígeno constituye un concepto patofisiológico que tuvo su origen con la descripción del linfoma gástrico asociado a mucosas a principios de 1980 y culminó con la identificación del *H. pylori* como agente causal del mismo en 1990. Desde entonces se ha ido descifrando el papel que juegan diversos microorganismos, entre ellos el VHC en el desarrollo de los linfomas, particularmente los de la zona marginal. Las respuestas espectaculares después de la erradicación microbiológica en diversos linfomas asociados a infecciones crónicas, son de gran importancia patofisiológica y clínica, ya que muchos pacientes pueden ser tratados sin quimioterapia antineoplásica, al menos en la etapa inicial de la enfermedad.

Hasta este momento, la asociación entre linfomas y VHC se ha basado en estudios observacionales. Sin embargo, no se ha demostrado un claro mecanismo de inducción directa de malignidad del virus en la población de linfocitos in vivo.

En relación a la serie de casos aquí presentada, cabe mencionar que la misma frecuencia en género y en edad se ha reportado con anterioridad (127). Se ha propuesto que la asociación entre la edad y el desarrollo de LNH se puede explicar por el riesgo acumulativo de infección por VHC y el largo periodo de tiempo que el virus necesita para causar proliferación de las células linfoides.

En nuestra población reportada, se desconoce la prevalencia de infección por VHC. Sin embargo, estudios italianos han reportado una prevalencia entre 9 y 32% de infección por VHC en pacientes con LNH de estirpe B (128); mientras que otros autores refieren una prevalencia menor

en población general de 2.9% (Ver **Tabla 7**). A pesar de la fuerte asociación entre infección por VHC y LNH reportada en Italia, Asia y Estados Unidos, otros estudios europeos no han confirmado esta asociación, probablemente debido a la distribución geográfica particular, a diferencia de lo observado en estudios japoneses con una alta prevalencia de infección por VHC en pacientes con LNH. Duberg y cols. reportaron la asociación entre infección por VHC y LNH en una cohorte sueca de 27,150 personas infectadas con VHC de 1990 al 2000 y hubo 50 LNH diagnosticados. El riesgo de LNH está significativamente incrementado entre pacientes con más de 15 años de infección (129).

El linfoma linfoplasmocitoide es el tipo histológico más frecuente relacionado al VHC. Los linfomas asociados a infección por VHC han sido mayormente detectados en estadios avanzados de la enfermedad, sugiriendo así un efecto promotor directo por parte del virus en la diseminación del tumor y probablemente una interferencia con el control inmunológico. Asimismo, es más frecuente que la presentación del linfoma primario sea en un sitio extranodal, como se observó en nuestra serie de casos. (130).

El tratamiento para pacientes con LNH e infección por VHC es similar al tratamiento de aquellos sin infección por VHC, con una respuesta muy similar en ambos grupos. En algunos estudios se ha demostrado que durante el tratamiento con quimioterapia para LNH en pacientes con hepatitis crónica por VHC, los individuos presentaban mayor número de reacciones adversas comparado con aquellos sin infección viral, siendo principalmente el incremento en los niveles de transaminasas (127). En nuestra serie fueron dos los pacientes que presentaron toxicidad por la quimioterapia con elevación de transaminasas.

El tratamiento en este grupo de pacientes no ha sido bien estandarizado. En nuestra serie de pacientes solamente dos de ellos recibieron tratamiento con IFN, un paciente recibió una dosis menor debido a anemia grave y neutropenia asociadas al IFN. Se ha demostrado en algunos estudios la regresión de la expansión monoclonal de células B y la eliminación del VHC en pacientes con LNH tratados con IFN (125). El IFN podría ser un recurso terapéutico atractivo en el manejo de LNH de bajo grado, aunque se requieren mayores estudios. Recientemente, Gisbert et al (131) publicaron una revisión sistemática de 16 estudios en donde los pacientes con desórdenes linfoproliferativos recibieron tratamiento antiviral. Estimaron un porcentaje de remisión completa en el 75% (95% intervalo de confianza: 64-84%) de los casos. Sin embargo, los estudios incluidos en la revisión son en su mayoría serie de casos, y por lo tanto, carecen de mecanismos de control que evalúen con exactitud la asociación.

No existe una diferencia en la supervivencia entre los pacientes con y sin infección por VHC después de un seguimiento de al menos 30 meses, con resultados similares entre linfomas de

bajo grado y de alto grado. La sobrevida a 3 años es del 86% en pacientes sin infección viral y del 83% en aquellos con la infección. En los linfomas de alto grado, la sobrevida a tres años se ha reportado del 60% en pacientes sin la infección y del 57% en pacientes con la infección viral. En el presente estudio, el 100% de los pacientes se encontraban vivos después de 32 meses. Sin embargo, es necesario continuar con el seguimiento de los pacientes para evaluar la sobrevida real (132,133).

La información disponible hasta este momento nos permite concluir que existe suficiente evidencia para considerar los beneficios potenciales de un ensayo clínico con el diseño apropiado que evalúe las ventajas del tratamiento y que explore la asociación causal entre el VHC y el LNH. Esto tiene grandes implicaciones en la salud pública que muy posiblemente afecte a millones de portadores del VHC, principalmente en los países en desarrollo donde la incidencia continúa en aumento.

IX. ANEXOS

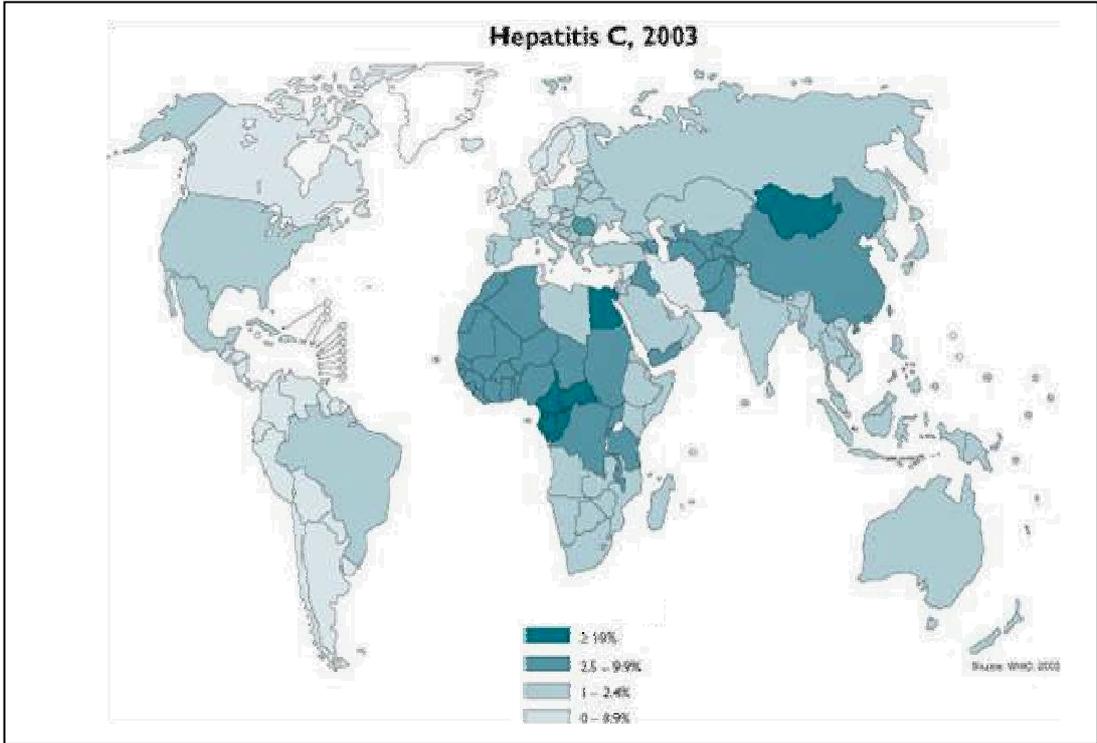


Figura 1: Prevalencia de la infección por VHC en el año 2003.

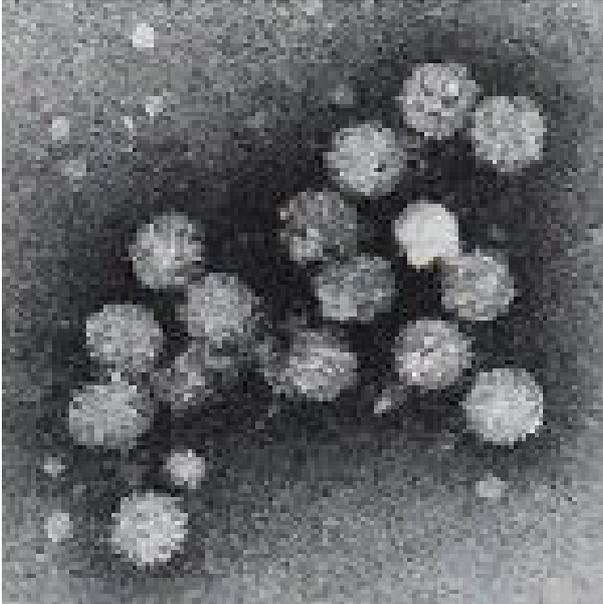


Figura 2: Fotografía del VHC por microscopia electrónica.

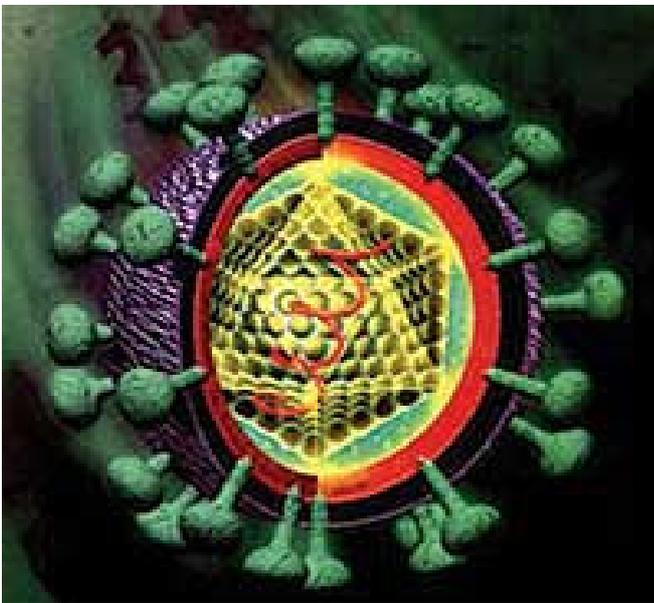


Figura 3: Estructura molecular del VHC.

CONTRAINDICACIÓN	INTERFERÓN ALFA	RIVABIRINA
Absoluta	Psicosis, depresión grave Neutropenia o trombocitopenia Cardiopatía sintomática Cirrosis descompensada Convulsiones sin tratamiento Trasplante hepático	Embarazo Ausencia de anticoncepción segura Falla renal terminal Anemia Hemoglobinopatía Cardiopatía grave
Relativa	Enfermedades autoinmunes DM descontrolada	Hipertensión descontrolada Edad avanzada

Tabla 1: Contraindicaciones del uso de interferón-alfa y rivabirina.

FRECUENCIA DEL EFECTO ADVERSO	INTERFERÓN ALFA	RIVABIRINA
>30%	Síntomas “flu-like” Cefalea, astenia, fiebre Mialgias Trombocitopenia Inducción de autoanticuerpos	Hemólisis Náusea
1-30%	Anorexia Eritema en sitio de inyección Insomnio, desmotivación Alopecia Falta de concentración Irritabilidad, depresión Diarrea, leucopenia Disgeusia	Anemia Congestión nasal Prurito
<1%	Polineuropatía Paranoia, ideación suicida Diabetes mellitus Retinopatía, neuritis óptica Convulsiones Cardiotoxicidad Pérdida de libido	Gota

Tabla 2: Frecuencia de efectos adversos del uso de rivabirina e interferón-alfa.

MANIFESTACIONES EXTRAHEPÁTICAS DE LA INFECCIÓN POR VHC
HEMATOLÓGICAS Crioglobulinemia mixta Linfoma no Hodgkin de células B
AUTOINMUNES Sialadenitis linfocítica Autoanticuerpos Púrpura trombocitopénica idiopática
RENALES Glomerulonefritis membranoproliferativa Nefropatía membranosa Glomerulonefritis fibrilar Glomerulonefritis rápidamente progresiva Nefropatía por IgA
DERMATOLÓGICAS Porfiria cutánea tarda Vasculitis leucocitoclástica Liquen plano
NEUROLÓGICAS Neuropatía periférica Síndrome de Guillain Barré
ENDÓCRINAS Hipotiroidismo Diabetes mellitus

Tabla 3: Manifestaciones extrahepáticas de la infección por virus de la hepatitis C.

	Edad (años)	Género	Cirugía previa	Antecedente transfusional	Enfermedad hepática
Paciente 1	53	♀	Si	Si	Hepatitis crónica
Paciente 2	67	♀	Si	Si	Cirrosis
Paciente 3	38	♂	Si	Si	Cirrosis
Paciente 4	77	♂	Si	Si	Cirrosis
Paciente 5	64	♀	Si	Si	Hepatitis crónica
Paciente 6	56	♀	Si	Si	Esteatosis hepática VE I/IV
Paciente 7	32	♀	Si	Si	Esteatosis hepática
Paciente 8	79	♀	Si	Si	Hepatitis crónica
Paciente 9	64	♀	Si	Si	Hepatitis crónica

VE= Várices esofágicas

Tabla 4: Características demográficas y clínicas de los pacientes con hepatitis C y LNH.

Parámetro	Pte 1	Pte 2	Pte 3	Pte 4	Pte 5	Pte 6	Pte 7	Pte 8	Pte 9
Hemoglobina (g/dl)	15.8	12	14.2	11.4	14.2	15.5	13.3	15.4	12.1
Leucocitos (10 ³ x mm ³)	8.6	9.9	3.9	2.6	5.8	4.8	2.4	5.2	4.1
Plaquetas (10 ³ x mm ³)	233	117	86	131	284	262	238	257	166
Bilirrubina total (g/dL)	1.2	1.1	1.8	1.5	0.9	0.7	1.27	1.04	0.8
Bilirrubina directa (g/dL)	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.2	0.37	0.8	0.2
AST (U/L)	100	33	63	215	76	75	301	65	107
ALT (U/L)	84	16	115	297	55	81	294	63	98
FA (U/L)	134	91	172	166	124	614	102	80	150
TP (%)	82	52	65	72	88	-	-	88	-
Albúmina (g/dL)	3.4	2.3	2.3	3.4	4.1	3.5	3.8	3.9	4.0
ELISA anti-VHC	+	+	+	+	+	+	+	+	
Prueba RIBA-2	-	Positivo	-	-	-	-	-	-	
Niveles séricos VHC-RNA UI/mL	50,887	-	66,000	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	11,100,000	532,000

Pte: paciente

Tabla 5: Resultados de laboratorio en los pacientes con infección por VHC y LNH.

Color verde: pacientes con elevación de transaminasas posterior a la quimioterapia.

Color amarillo: elevación de transaminasas asociado a infección por VHC.

PACIENTE	HALLAZGOS CLÍNICOS	HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	TRATAMIENTO	SOBREVIDA
1	Astenia, hiporexia y masa hepática	LNH de células B primario de hígado	Quimioterapia con CHOP 6 ciclos	Remisión por 29 meses
2	Hematemesis, melena y pólipo gástrico	LNH de células grandes gástrico	Quimioterapia con CHOP 6 ciclos	Remisión por 34 meses
3	Lesión en T1-T6, dolor, parestesia e hipoestesia	LNH de células B extramedular	Radioterapia y quimioterapia con CHOP	Remisión por 38 meses
4	Fiebre, adenomegalia, Infiltrados pulmonares	LNH difuso	Quimioterapia con CHOP 6 ciclos	Remisión por 45 meses
5	Conjuntivitis refractaria	LNH de células B de conjuntiva	Radioterapia 23 sesiones	Remisión por 17 meses
6	Astenia, adinamia, infiltración esplénica	LNH Inmunoblástico primario de bazo	Quimioterapia con CHOP 6 ciclos	Actividad
7	Actividad en ganglios linfáticos, bazo y riñón	LNH	Quimioterapia con CHOP 4 ciclos	Actividad
8	Adenomegalia cervical	LNH de células B	Quimioterapia con CHOP 4 ciclos	Sin actividad desde marzo 2006
9	Fiebre, epistaxis	LNH nasal	Radioterapia y quimioterapia con CHOP	No actividad desde 1997 (año de diagnóstico)

Tabla 6: Localización y tipo histológico de linfoma no Hodgkin (LNH) en pacientes con infección por virus de hepatitis C.

REFERENCIA	PAÍS	NÚMERO DE PACIENTES	VHC (%)
Ferri, 1994	Italia	50	32
Silvestri, 1996	Italia	311	9
Luppi, 1998	Italia	157	22
Pioltelli, 1996	Italia	126	21
De Vita, 1997	Italia	162	22
De Rosa, 1997	Italia	263	22
Mazzaro, 1996	Italia	199	28
Vallisa, 1999	Italia	175	37
Pioltelli, 2000	Italia	300	16
Germanidis, 1999	Francia	201	2
Bauduer, 1999	Francia	136	8
Hausfater, 2000	Francia	1485	2.5
Ellenrieder, 1998	Alemania	69	4
Thalen, 1997	Países Bajos	115	0
Cuculanu, 1999	Rumania	68	30
Zucca, 2000	Suecia	180	9
Paydas, 1999	Turquía	98	9
Timuraglu, 1999	Turquía	48	9
Hanley, 1996	Inglaterra	38	0
Brind, 1996	Inglaterra	63	0
McCull, 1997	Inglaterra	72	0
Collier, 1999	Canadá	100	0
Shariff, 1999	Canadá	88	2
King, 1998	Estados Unidos	73	1
Kashyap, 1996	Estados Unidos	312	7
Zuckerman, 1997	Estados Unidos	120	22
Yoshikawa, 1997	Japón	55	16
Izumi, 1997	Japón	25	16
Mizorogi, 2000	Japón	100	17

Tabla 7: Prevalencia de infección por VHC en algunas series de pacientes con LNH. Gisbert JP, García-Buey L, Pajares JM, et al. Prevalence of Hepatitis C virus infection in B-cell Non-Hodgkin's Lymphoma: Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology 2003;125:1723-1732.

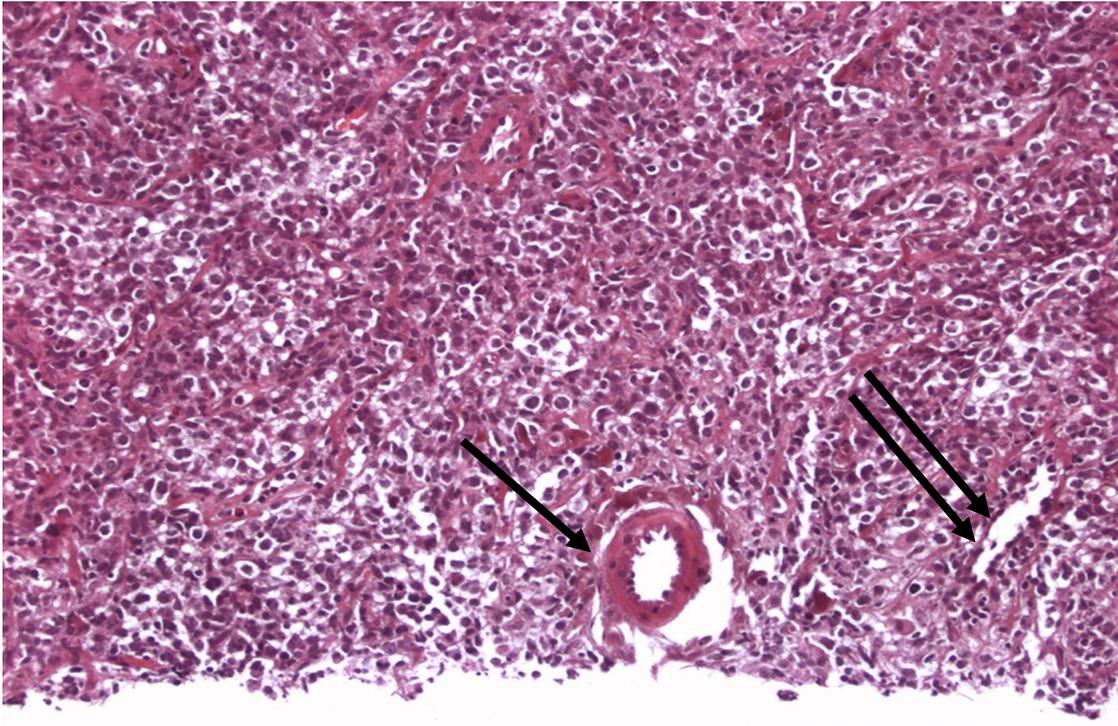


Figura 4: LNH primario del hígado. Se observa un infiltrado linfocítico en la totalidad de la arquitectura hepática. Se muestran una arteria (una flecha) y una vena central (doble flecha).

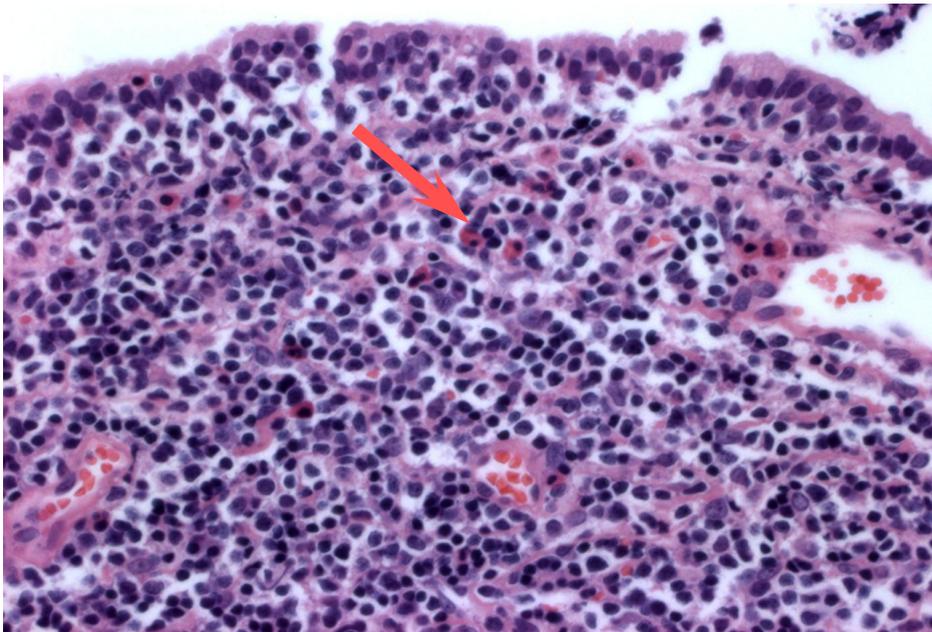


Figura 5: LNH primario de conjuntiva. Infiltrado predominantemente linfocítico con presencia de eosinófilos (flecha).

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, et al. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975;292:767–770.
2. Prince AM, Brotman B, Grady GF, et al. Long-incubation post-transfusion hepatitis without serological evidence of exposure to hepatitis-B virus. *Lancet*. 1974;2:241–246.
3. Tabor E, Gerety RJ, Drucker JA, et al. Transmission of non-A, non-B hepatitis from man to chimpanzee. *Lancet* 1978;1:463–466.
4. Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Popper H. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1978;1:459–463.
5. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359–364.
6. Choo QL, Richman KH, Han JH, et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88:2451–2455.
7. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:62S–65S.
8. Andreone P, Caraceni P, Grazi GL, et al. Lamivudine treatment for acute hepatitis B after liver transplantation. *J Hepatol* 1998;29:985–989.
9. Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: Increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut* 1999;45:613–617.
10. Alter MJ, Hutin YJF, Armstrong GL. Epidemiology of hepatitis C. En: Liang TJ, Hoffnagle JH. *Hepatitis C. Biomedical Research Reports*. San Diego California: Academic Press 2000:169-183.
11. World Health Organization. *Weekly Epidemiological Record*. 2002;77:41-48. <http://www.who.int/wer>. Acceso en julio de 2004.
12. Hepatitis C: Global prevalence. *Wkly Epidemiol Rec*. 1997;72:341–344.
13. Abdel-Wahab MF, Zakaria S, Kamel M, et al. High seroprevalence of hepatitis C infection among risk groups in Egypt. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:563–567.
14. Kamel MA, Ghaffar YA, Wasef MA, et al. High HCV prevalence in Egyptian blood donors. *Lancet* 1992;340:427.
15. Hibbs RG, Corwin AL, Hassan NF, et al. The epidemiology of antibody to hepatitis C in Egypt. *J Infect Dis* 1993;168:789–790.
16. Guadagnino V, Stroffolini T, Rapicetta M, et al. Prevalence, risk factors, and genotype distribution of hepatitis C virus infection in the general population: A community-based survey in southern Italy. *Hepatology* 1997;26:1006–1011.
17. Prati D, Capelli C, Silvani C, et al. The incidence and risk factors of community-acquired hepatitis C in a cohort of Italian blood donors. *Hepatology* 1997;25:702–704.
18. Noguchi S, Sata M, Suzuki H, et al. Routes of transmission of hepatitis C virus in an endemic rural area of Japan: Molecular epidemiologic study of hepatitis C virus infection. *Scand J Infect Dis* 1997;29:23–28.
19. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C. Geographic differences and temporal trends. *Sem Liv Dis* 2000;20:1-16.
20. Guadagnino V, Stroffolini T, Rapicetta M et al. Prevalence, risk factors and genotype distribution of hepatitis C virus infection in the general population: a community based survey in southern Italy. *Hepatology* 1997;26:1006-1011.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998;47(No. RR-19):1–39.
22. Alter MJ, Hadler SC, Judson FN, et al. Risk factors for acute non-A, non-B hepatitis in the United States and association with hepatitis C virus infection. *JAMA* 1990;264:2231–2235.
23. Alter MJ, Mast EE, Moyer LA, Margolis HS. Hepatitis C. *Infect Dis Clin North Am* 1998;12:13–26.
24. Sánchez-Quijano A, Andreu J, Gavilan F, et al. Influence of human immunodeficiency virus type 1 infection on the natural course of chronic parenterally acquired hepatitis C. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:949-53.

25. Zarski JP, Bohn B, Bastie A, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol* 1998;28:27-33.
26. Vento S, Garofano T, Renzini C, et al. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;338:286-90.
27. Institutos Nacionales de Salud y Asociación Mexicana de Hepatología. National Consensus in hepatitis C. *Ann Hepatol* 2002;3:148-154.
28. Méndez Sánchez N, Baptista González H, Sánchez Gómez RH, et al. The prevalence of hepatitis B and C in blood donors in a 3rd level hospital of Mexico city. *Salud Pública Mex* 1999; 41(6):475-8.
29. Carreto Vélez MA, Carrada Bravo T, Martínez Magdaleno A. Seroprevalence of HBV, HCV and HIV among blood donors in Irapuato, Mexico. *Salud Pública Mex* 2003;45:S690-3.
30. Méndez Sánchez N, Aguilar Ramírez JR, Reyes A, et al. Etiology of liver cirrhosis in Mexico. *Ann Hepatol* 2004;3:30-33.
31. Shimizu YK, Feinstone SM, Kohara M, et al. Hepatitis C virus: Detection of intracellular virus particles by electron microscopy. *Hepatology* 1996;23:205–209.
32. Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, et al. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nat Med* 1995;1:564–569.
33. Theodore D, Lemon SM. GB virus C, hepatitis G virus, or human orphan flavivirus? *Hepatology* 1997;25:1285–1286.
34. Okuda M, Hino K, Korenaga M, Yamaguchi Y. et al. Differences in hypervariable region 1 quasispecies of hepatitis C virus in human serum, peripheral blood mononuclear cells, and liver. *Hepatology* 1999;29:217-22.
35. Zignego AI, De Carli M, Monti, et al. Hepatitis C virus infection of mononuclear cells from peripheral blood and liver infiltrate in chronically infected patients. *J Med Virol* 1995;47:58-64.
36. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science* 1998;282:103-107.
37. Kolykhalov AA, Agapov EV, Blight KJ et al. Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. *Science* 1997;277:570-4.
38. Blight KJ, Kolykhalov AA, Rice CM. Efficient initiation of HCV RNA replication in cell culture. *Science* 2000;290:1972-4.
39. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 1998;282:938-41.
40. Kolykhalov AA, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM. Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' nontranslated region are essential for virus replication in vivo. *J Virol* 2000;74:2046-51.
41. Chen SY, Kao CF, Chen CM, et al. Mechanisms for inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by hepatitis C virus core protein. *J Biol Chem* 2003;278:591–607.
42. Santolini E, Migliaccio G, La Monica N. Biosynthesis and biochemical properties of the hepatitis C virus core protein. *J Virol* 1994;68:3631–3641.
43. Shrivastava A, Manna SK, Ray R, Aggarwal BB. Ectopic expression of hepatitis C virus core protein differentially regulates nuclear transcription factors. *J Virol* 1998;72:9722–9728.
44. Egger D, Wolk B, Gosert R, et al. Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral replication complex. *J Virol* 2002;76:5974–5984.
45. Konan KV, Giddings TH Jr, Ikeda M, et al. Nonstructural protein precursor NS4A/B from hepatitis C virus alters function and ultrastructure of host secretory apparatus. *J Virol* 2003;77:7843–7855.
46. Witherell GW, Beineke P. Statistical analysis of combined substitutions in nonstructural 5A region of hepatitis C virus and interferon response. *J Med Virol* 2001;63:8–16.
47. Lozach PY, Lortat-Jacob H, de Lacroix dL, et al. DC-SIGN and L-SIGN are high affinity binding receptors for hepatitis C virus glycoprotein E2. *J Biol Chem* 2003;278:20358–20366.

48. Shimizu YK, Igarashi H, Kanematu T, et al. Sequence analysis of the hepatitis C virus genome recovered from serum, liver, and peripheral blood mononuclear cells of infected chimpanzees. *J Virol* 1997;71:5769–5773.
49. Wang YM, Ray SC, Laeyendecker O, et al. Assessment of hepatitis C virus sequence complexity by electrophoretic mobilities of both single- and double-stranded DNAs. *J Clin Microbiol* 1998;36:2982–2989.
50. Kao J-H, Chen P-J, Lai M-Y, et al. Quasispecies of hepatitis C virus and genetic drift of the hypervariable region in chronic type C hepatitis. *J Infect Dis* 1995;172:261–264.
51. Honda M, Kaneko S, Sakai A, et al. Degree of diversity of hepatitis C virus quasispecies and progression of liver disease. *Hepatology* 1994;20:1144–1151.
52. Maggi F, Fornai C, Vatteroni ML, et al. Differences in hepatitis C virus quasispecies composition between liver, peripheral blood mononuclear cells and plasma. *J Gen Virol* 1997;78:1521–1525.
53. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomized trial of interferon alpha 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998;352:1426–32.
54. Chung RT, Monto A, Dienstag JL et al. Mutations in the NS5A region do not predict interferon-responsiveness in American patients infected with genotype 1b hepatitis C virus. *J Med Virol* 1999;58:353–8.
55. Cooper S, Erickson AI, Adams EJ, et al. Analysis of a successful immune response against hepatitis C virus. *Immunity* 1999;10:439–49.
56. Navas S, Martín J, Quiroga JA, et al. Genetic diversity and tissue compartmentalization of the hepatitis C virus genome in blood mononuclear cells, liver, and serum from chronic hepatitis C patients. *J Virol* 1998;72:1640–1646.
57. Liou TC, Chang TT, Young KC, et al. Detection of HCV RNA in saliva, urine, seminal fluid, and ascites. *J Med Virol* 1992;37:197–202.
58. Lerat H, Honda M, Beard MR, et al. Steatosis and liver cancer in transgenic mice expressing the structural and nonstructural proteins of hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2002;122:352–365.
59. Abe K, Inchauspe G, Shikata T, Prince AM. Three different patterns of hepatitis C virus infection in chimpanzees. *Hepatology* 1992;15:690–695.
60. Sulkowski MS, Ray SC, Thomas DL. Needlestick transmission of hepatitis C. *JAMA* 2002;287:2406–2413.
61. Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, et al. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology* 1999;29:908–914.
62. Thimme R, Oldach D, Chang KM, et al. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2001;194:1395–1406.
63. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, et al. The natural history of community acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med* 1992;327:1899–1905.
64. Mattsson L, Sonnerborg A, Weiland O. Outcome of acute symptomatic non-A, non-B hepatitis: A 13-year follow-up study of hepatitis C virus markers. *Liver* 1993;13:274–278.
65. Farci P, Alter HJ, Shimoda A, et al. Hepatitis C virus-associated fulminant hepatic failure. *N Eng J Med* 1996;335:631–4.
66. Conry-Cantilena C, VanRaden M, Gible J, et al. Routes of infection, viremia and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Eng J Med* 1996;334:1691–6.
67. Kenny-Walsh E. Clinical outcome after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Eng J Med* 1999;340:1228–33.
68. Seeff LB, Miller RN, Rabskin CS, et al. 45-Year follow up of hepatitis C virus infection in healthy young adults. *Ann Intern Med* 2000;132:105–11.
69. National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel statement: management of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:Suppl 1:2S–10S.
70. Foster GR, Goldin RD, Thomas HC. Chronic hepatitis C virus infection causes a significant reduction in quality of life in the absence of cirrhosis. *Hepatology* 1998;27:209–12.

71. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997;349:825-32.
72. Ikeda K, et al. Disease progression and hepatocellular carcinogenesis in patients with chronic viral hepatitis: a prospective observation of 2215 patients. *J Hepatol* 1998;28(6):930-938.
73. Fattovich G, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112(2):463-472.
74. Thomas DL, et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral and environmental factors. *JAMA* 2000;284(4):450-456.
75. Cropley I, Main J. Hepatitis C virus infection: coinfection with HIV and HBV. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2000;14(2):265-275.
76. Simmonds P. Variability of hepatitis C virus. *Hepatology* 1995;21(2):570-583.
77. Vrieling H, Reesink HW, van den Burg PJ, et al. Performance of three generations of antihepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assays in donors and patients. *Transfusion* 1997;37:845-9.
78. Buffet C, Charnaux N, Laurent-Puig P, et al. Enhanced detection of antibodies to hepatitis C virus by use of a third-generation recombinant immunoblot assay. *J Med Virol* 1994;43:259-261.
79. Damen M, Zaaijer HL, Cuypers HTM, et al. Reliability of the third-generation recombinant immunoblot assay for hepatitis C virus. *Transfusion* 1995;35:745-749.
80. Lau JY, Davis GL, Kniffen J, et al. Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis C. *Lancet* 1993;341:1501-1504.
81. Sarrazin C, Hendricks DA, Sedarati F, Zeuzem S. Assessment, by transcription-mediated amplification, of virologic response in patients with chronic hepatitis C virus treated with peginterferon alpha-2a. *J Clin Microbiol* 2001;39:2850-2855.
82. Méndez-Sánchez N, Uribe-Esquivel M. *Conceptos actuales en Hepatitis C*. México 2005. 2da edición. McGraw-Hill Interamericana. Pp 89.
83. Halfon P, Bourliere M, Halimi G, et al. Assessment of spontaneous fluctuations of viral load in untreated patients with chronic hepatitis C by two standardized quantitation methods: branched DNA and Amplicor Monitor. *J Clin Microbiol* 1998;36:2073-2075.
84. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. WHO Collaborative Study Group. *Vox Sang* 1999;76:149-158.
85. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Eng J Med* 2001;345(1):41-52.
86. EASL. International Consensus Conference on Hepatitis C: Paris, 26-28, February 1999, consensus statement. *J Hepatol* 1999;30:956-61.
87. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-435.
88. Sedfaty L, Aurnaitre H, Chazouilleres O, et al. Determinations of outcome of compensated hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology* 1998;27:1435-40.
89. McHutchinson JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Eng J Med* 1998;339:1485-92.
90. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: A randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140:346-355.
91. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
92. De Re V, De Vita S, Marzotto A, et al. Premalignant and malignant lymphoproliferations in an HCV-infected type II mixed cryoglobulinemic patient are sequential phases of an antigen driven pathological process. *Int J Cancer* 2000;87:211-216.
93. Hermine O, Lefrère F, Bronowicki JP, et al. Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. *N Eng J Med* 2002;347:89-94.

94. Vallisa D, Bernuzzi P, Arcaini L, et al. Role of anti-hepatitis C virus treatment in HCV-related, low-grade, B-cell, non-Hodgkin's lymphoma: a multicenter italian experience. *J Clin Oncol* 2005;23:468-473.
95. Tursi A, Brandimarte G, Torello M. Disappearance of gastric mucosa-associated lymphoid tissue in hepatitis C-virus-positive patients after anti-hepatitis C virus therapy. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:360-363.
96. Zignego AL, Brechot C. Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies. *J Hepatol* 1999;31:369-76.
97. Horcajada JP, García-Bengoechea M, Cilla G, et al. Mixed cryoglobulinaemia in patients with chronic hepatitis C infection: prevalence, significance and relationship with different viral genotypes. *Ann Med* 1999;31:352-8.
98. Zuckerman E, Zuckerman T, Levine AM, et al. Hepatitis C virus infection in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Ann Intern Med* 1997;127:423-8.
99. Fargion S, Piperno A, Cappellini MD, et al. Hepatitis C virus and porphyria cutanea tarda: evidence of a strong association. *Hepatology* 1992;16:1322-6.
100. Haddad J, Deny P, Munz-Gotheil C, et al. Lymphocytic sialadenitis of Sjogren's syndrome associated with chronic hepatitis C virus liver disease. *Lancet* 1992;339:321-3.
101. Tanei R, Watanabe K, Nishiyama S. Clinical and histopathologic analysis of the relationship between lichen planus and chronic hepatitis C. *J Dermatol* 1995;22:316-23.
102. Pawlotsky J, Ben Yahia M, Andre C, et al. Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective study. *Hepatology* 1994;19:841-848.
103. Meltzer M, Franklin EC. Cryoglobulinemia—a clinical and laboratory study. IgG and IgM cryoglobulins and factors affecting cryoprecipitability. *Am J Med* 1966;40:828.
104. Ferri C, La Civita L, Zignego A, et al. Interferon-alpha in mixed cryoglobulinemia patients: randomized, crossover-controlled trial. *Blood* 1993;81:1132-1136.
105. Pena L, Nand S, De Maria N, et al. Hepatitis C virus infection and lymphoproliferative disorders. *Dig Dis and Sci* 2000;45:1854-1860.
106. Akriadiadis E, Xanthakis I, Navrozidou C, et al. Prevalence of cryoglobulinemia in chronic hepatitis C virus infection and response to treatment with interferon—alpha-. *J Clin Gastroenterol* 1997;25:612-618.
107. Killenberg P. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. *Sem Gastro Dis* 2000;11:62-68.
108. Kajihara M, Kato S, Okazaki Y, et al. A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2003;37:1267-1276.
109. Daghestani L, Pomeroy C. Renal manifestations of hepatitis C infection. *Amer J Med* 1999;106:347-352.
110. Bandi L. Renal manifestations of hepatitis C virus infection. *Postgrad Med* 2003;113:73-86.
111. Marie-Sylvie D. Hepatitis C virus-related skin diseases. *Arch Dermatol* 1999;92 :354-360.
112. Daoud M, Gibson L, Daoud S, et al. Chronic hepatitis C and skin diseases: a review. *Oral Dis* 1997;3:77-81.
113. Tembl J, Ferrer J, Sevilla M, et al. Neurologic complications associated with hepatitis C virus infection. *Neurology* 1999;53:861-864.
114. Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, et al. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology* 2004;122:1649-1657.
115. Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, et al. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology* 2004;126:840-848.
116. Turner NC, Dusheiko G, Jones A. Hepatitis C and B-cell lymphoma. *Annals Oncol* 2003;14:1341-1345.
117. Silvestri F, Barillari G, Fanin R et al. Impact of hepatitis C virus infection on clinical features, quality of life and survival of patients with lymphoplasmacytoid lymphoma/immunocytoma. *Ann Oncol* 1998;9:499-504.
118. Mele A, Pulsoni A, Bianco E, et al. Hepatitis C virus and B-cell non-Hodgkin lymphomas: an italian multi-center case-control study. *Blood* 2003;102:996-999.

119. Montella M, Crispo A, Frigeri F, et al. HCV and tumors correlated with immune system: a case-control study in an area of hyperendemicity. *Leuk Res* 2001;25:775-781.
120. Suarez F, Lortholary O, Hermine O. Infection-associated lymphomas derived from marginal zone B cells: a model of antigen-driven lymphoproliferation. *Blood* 2006;107(8): 3034-3044.
121. Minton EJ, Smillie D, Neal KR, et al. Association between MHC class II alleles and clearance of circulating hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1998;178:39-44.
122. Crispe IN. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol* 2003;3:51-62.
123. Ray SC, Wang YM, Laeyendecker O, et al. Acute hepatitis C virus structural gene sequences as predictors of persistent viremia: Hypervariable region 1 as decoy. *J Virol* 1998;73:2938-2946.
124. Talbot S., Crawford D. Viruses and tumors –an update. *Eur J Cancer* 2004;40:1998-2005.
125. Pal S., Sullivan DG., Kim S., Lai KY., et al. Productive replication of hepatitis C virus in perihepatic lymph nodes in vivo : implications of HCV lymphotropism. *Gastroenterology* 2006;130:1107-1116.
126. Boshoff C, Weiss R. AIDS-related malignancies. *Nat Rev Cancer* 2002;2:373-382.
127. Mazzaro C. Hepatitis C virus and non Hodgkin´s lymphoma. *Br. J Haematol* 1996;94(3):544-50.
128. Mussini C, Ghini M, Mascia MT, Giovanardi P, Zanni G, Lattuada L, Morealli S, Longo G, Ferrari MG, Torelli G. Monoclonal gammopathies and hepatitis C virus infection. *Blood* 1995;85:144-145.
129. Duberg AS, Noredström M, Törner A, Reichard O, Strauss R, et al. Non Hodgkin´s Lymphoma and other nonhepatic malignancies in Swedish patients with hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2005;41:652-659.
130. Sikuler E, Shnaider A, Zilberman D, Hilzenrat N, Shemer-Avni Y, Neumann L, Buskila D. Hepatitis C virus infection and extrahepatic malignancies. *J Clin Gastroenterol* 1997; 24(2):87-9.
131. Gisbert JP, García-Buey L, Pajares JM, Moreno-Otero R. Prevalence of hepatitis C virus in B-cell non-Hodgkin´s lymphoma: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2003;125:1723-1732.
132. Silvestri F. Hepatitis C related lymphomas. *Br J Haematol* 1997;99:475-480.
133. Satoh T. The relationship between primary splenic malignant lymphoma and chronic liver disease associated with hepatitis C virus infection. *Cancer* 1997;15; 80(10):1981-8.