



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

HOSPITAL CENTRAL NORTE DE PETRÓLEOS MEXICANOS

**CORRELACIÓN ENTRE FIBROTEST  
Y BIOMARCADORES Y CARGA VIRAL  
EN PACIENTES CON HEPATITIS VIRAL TIPO C.**

**TESIS DE POSTGRADO  
PARA OBTENER TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA  
DR. ROGELIO DAVID CASTRO VALLEJO**



MÉXICO, D.F., 2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## **ASESORES**

---

Dr. Roberto Londaiz Gómez  
Jefe de Enseñanza de Medicina Interna

---

Dra. Manuela del Carmen Yáñez Montes  
Médico Adscrito al Servicio de Gastroenterología

---

Dr. Fernando Rogelio Espinosa López  
Jefe del Servicio de Medicina Interna del Hospital Central Norte de PEMEX

## **AUTOR**

---

Dr. Rogelio David Castro Vallejo  
Residente de Cuarto Año de la Especialidad de Medicina Interna

**Vo.Bo.**

---

Dr. Santos Adolfo Esquivel Villarreal  
Director Hospital Central Norte de PEMEX

---

Dr. Roberto Londaiz Gómez  
Jefe de Enseñanza de Medicina Interna

---

Dr. Fernando Rogelio Espinosa López  
Jefe del Servicio de Medicina Interna del Hospital Central Norte de PEMEX

## AGRADECIMIENTOS

*A Dios, porque lo que he sido, soy y seré está marcado por Él. Especialmente le agradezco su mayor regalo: mis padres y hermano, y todas las personas mencionadas en estos agradecimientos.*

*A mis padres, porque en todo este largo y pesado camino de trabajo siempre me dieron su apoyo sin que fuera necesario pedirlo. Y porque en esta etapa entendí lo valioso de la educación que me inculcaron.*

*A mi hermano Héctor Gabriel, por también colaborar en mi formación.*

*Al Dr. F. Rogelio Espinosa López, mi maestro, mentor y amigo, por darme la oportunidad de llegar a este día y quien me ayudó a no desviarme y entender las verdaderas prioridades en esta etapa de formación.*

*Al Dr. Miguel Ángel Labastida Bautista, por ser maestro y amigo.*

*Al Dr. Eduardo Ruíz Haro y al Dr. José Arnulfo Miguel Mendiola Núñez, ambos ejemplos de nobleza y trabajo.*

*A mis compañeros residentes Celia, Oscar, Urtíz, Pastel, Marcelino, Emilio, Felipe, Adán y Ariadna, porque como ejemplo o apoyo me hicieron mejor residente.*

## ÍNDICE

1. Presentación	
Asesores.....	2
Agradecimientos.....	4
Introducción.....	7
2. Pregunta de investigación.....	9
3. Planteamiento del problema.....	9
4. Justificación.....	9
5. Marco teórico.....	10
6. Objetivo principal.....	34
7. Objetivos secundarios.....	34
8. Hipótesis de investigación.....	34
Hipótesis nula.....	34
9. Material y métodos.....	35
Tipo de estudio.....	35
Universo de estudio.....	35
Tamaño de muestra.....	35
Recursos humanos y materiales.....	36
Criterios de selección.....	37
Criterios de inclusión.....	37
Criterios de exclusión.....	37
Criterios de eliminación.....	38
Definición de las variables.....	38
Variable independiente.....	38

Variable dependiente.....	38
Metodología.....	39
Consideraciones éticas.....	39
Cronograma de actividades.....	40
Análisis estadístico.....	40
10. Resultados.....	44
11. Discusión.....	47
12. Conclusiones.....	53
13. Anexos.....	54
14. Bibliografía.....	58

## INTRODUCCIÓN

La infección por virus de hepatitis C es un problema mundial de salud especialmente cuando se habla de enfermedad hepática crónica. El desarrollar hepatitis crónica lleva a los pacientes a sufrir alteraciones en diversos órganos y finalmente complicaciones que frecuentemente pueden llevarlos a la muerte<sup>1</sup>, aquí es donde tiene participación el tratamiento de la infección porque mediante éste puede evitarse la progresión a la forma crónica de la enfermedad<sup>5,6</sup>.

Para desarrollar la enfermedad debe tenerse contacto con el virus de hepatitis C, adquirirlo y desarrollar la infección crónica. No todos los pacientes que tienen contacto adquirirán la infección o progresarán a la forma crónica, por lo tanto no todos necesitarán el tratamiento y, finalmente, no todos los que recibirán el tratamiento alcanzarán una respuesta satisfactoria, lo cual hace a la hepatitis crónica por virus C comúnmente inevitable<sup>3</sup>.

Por ello, representa un problema de atención médica e infraestructura que demanda múltiples intervenciones de salud, disponibilidad de un equipo multidisciplinario y un gran monto de recursos. En la población productiva es causa de discapacidad una vez establecidas las complicaciones<sup>3</sup>.

En base a lo expuesto, la prevención para evitar el contagio de hepatitis C es prioridad, pero para los pacientes ya infectados y aquéllos en quienes la prevención fue insuficiente y se contagiarán, ya existe el recurso de aplicar un



tratamiento y éste se indica en base a criterios, siendo pilar de los mismos el determinar si se cursa con hepatitis crónica<sup>5</sup>, para lo cual es necesaria una biopsia hepática o, más recientemente, el marcador serológico Fibrotest<sup>19</sup>. Así entonces el Fibrotest puede funcionar como criterio de inicio y mantenimiento del tratamiento por que permite saber el grado de fibrosis hepática ya producido y la actividad necrótica del virus<sup>21</sup>.

Las complicaciones son consecuencia de daño en ciertos órganos, incluido el propio hígado, y es posible detectar dicho daño en base a otros parámetros paraclínicos, así que nos planteamos el siguiente objetivo: determinar la correlación entre Fibrotest y biomarcadores y carga viral en pacientes con hepatitis C.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:**

***¿Existe alguna correlación entre el grado de fibrosis / actividad necrótica con los biomarcadores y carga viral pacientes con hepatitis C?***

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los pacientes con hepatitis C durante su evolución a la cronicidad alcanzan frecuentemente la fibrosis hepática con las complicaciones que ésta implica. Dichas complicaciones dependen de alteración en diferentes órganos y sistemas (hipertensión portal, trombocitopenia, sangrado, edema, hepatocarcinoma, etc.) y tienen como factor común el grado de fibrosis hepática.

Mediante Fibrotest y Actitest se pueden determinar el grado de fibrosis y la actividad necrótica viral; por lo tanto es de nuestro interés encontrar si existen correlaciones entre tales pruebas y dichos biomarcadores y carga viral de forma lineal.

## **JUSTIFICACIÓN**

Con el presente estudio se obtendrá un beneficio científico al ver la relación entre el grado de fibrosis y las complicaciones de la hepatitis crónica por virus C.

Este estudio determina el grado de fibrosis por el marcador serológico Fibrotest, por lo que puede evitarse la biopsia hepática.

## MARCO TEÓRICO

El virus de la hepatitis C se caracteriza por ser hepatotrópico y linfotrópico por lo que, además de ser causa de hepatitis crónica, cirrosis y hepatocarcinoma, también es una causa importante de enfermedades autoinmunes y dermatosis diversas. Existen patrones epidemiológicos distintivos en cada región, así como cofactores y manifestaciones extrahepáticas que dificultan la comprensión y el manejo de este padecimiento<sup>4</sup>. Mucha de la información actualmente disponible es el resultado de estudios retrospectivos de casos publicados en revistas internacionales.

El VHC es un ARN virus que pertenece al grupo 3 de la familia Flavivirus. Está compuesto por una envoltura lipoprotéica que rodea una cápside icosaédrica de a 60nm. Su genoma monocatenario de polaridad positiva está compuesto por un solo gen de lectura abierta con 9,500 nucleótidos capaces de sintetizar las lipoproteínas virales que están compuestas por más de 3,000 aminoácidos<sup>4</sup>. Dado que tiene una envoltura lipídica, se inactiva con solventes oleosos, calentamiento, tratamiento con formol y exposición a luz ultravioleta. El VHC suele circular en concentraciones muy bajas, por lo que no se han podido visualizar partículas virales. Al parecer, el VHC se replica, lo mismo que otros flavivirus, por medio de una cadena negativa de ARN intermediario. El genoma del VHC se compone de una región no codificable adyacente a los genes que codifican las proteínas estructurales (core de la nucleocápside y envoltura viral)<sup>3</sup>. Los genes 5' no codificantes y del core, que se conservan en todos los genotipos, tienen un papel importante en la replicación; la síntesis de las proteínas de la envoltura es codificada por la región hipervariable, que varía

entre los diferentes especímenes e incluso en el mismo virus. Esto permite que el virus evada los mecanismos inmunitarios del huésped que van dirigidos contra las proteínas de envoltura viral<sup>3</sup>. El extremo 3' del genoma contiene los genes de las proteínas no estructurales (NS) 1 a 5. El grado de variabilidad no es homogéneo; dentro de todo el genoma generalmente se conservan el área 5', y las secuencias de aminoácidos de los productos codificados por los genes del núcleo, así como NS3 y NS4. Por el contrario, las glicoproteínas de la envoltura codificada por los genes E1 y E2/NS1 y las proteínas codificadas por los genes NS2 y NS5 muestran una gran variabilidad entre los distintos virus que se han aislado<sup>3</sup>. Esta distribución segmentaria de la heterogeneidad en el genoma del VHC posiblemente se deba a las diferencias existentes entre los genes que codifican las proteínas esenciales para la replicación del virus, que toleran pocas mutaciones y los genes de la envoltura en donde la presión inmunológica del huésped puede dar lugar a una evolución rápida<sup>4</sup>. Se han identificado seis genotipos distintos aunque todos ellos parecen ser similares desde el punto de vista antigénico (1, 2, 3 / a, b, c)<sup>4</sup>. Existen diversos genotipos VHC, los cuales se presentan en todo el planeta de manera característica. En Sudamérica, Europa, Estados Unidos y Japón los tipos 1, 2 y 3 son los más frecuentes con predominio del subtipo 1b en la forma postransfusional mientras que 1a y 3a son más comunes en drogadictos<sup>1,2</sup>. La forma 1b causa alteraciones mayores en las mitocondrias, afectando la fosforilación oxidativa. En México, se ha informado que el genotipo predominante es el 1b, el cual se caracteriza por desarrollar una rápida resistencia frente al IFA-interferón alfa<sup>1,2</sup>.

## Epidemiología

No cabe duda que las enfermedades virales representan una de las mayores amenazas biológicas para el ser humano, destacando la influenza, hepatitis C y el sida como las tres más importantes. Se calcula que a principios del tercer milenio, en el mundo existen 200 millones de personas infectadas por el VHC, lo que representa que cerca de 3.3% de la población mundial se encuentra en riesgo de desarrollar las complicaciones crónicas de esta enfermedad, incluyendo hepatocarcinoma, que coloca la importancia de esta enfermedad por encima del SIDA<sup>1,2</sup>, del que se estima que existen alrededor de 50 millones de personas infectadas por VIH<sup>1</sup>. De ahí que la prevención y control de las enfermedades virales represente actualmente una de las prioridades del ser humano. Estudios realizados en México señalan que la prevalencia de anticuerpos contra el VHC oscila entre 2.1% en personal médico y 13.6% en pacientes con hepatopatía crónica<sup>2</sup>. Existe evidencia de que la prueba anti-VHC es más frecuentemente positiva que la del VIH y la de hepatitis tipo B (Hbs-Ag)<sup>2</sup>. Aunque la prevalencia nacional de VHC no ha sido completamente establecida en México, está bien establecido que es la principal causa de hepatitis postransfusional y que es la responsable de 20 a 50% de hepatitis aguda esporádica<sup>3</sup>. Se estima que en países desarrollados de 0.5 a 1.5% de los donadores de sangre son anti-VHC positivos<sup>1</sup>. La frecuencia es similar a la de donadores mexicanos en los que se ha observado seropositividad de 0.2 a 2.0%. El Centro Nacional de Transfusión Sanguínea en la ciudad de México ha estado rastreando al virus por más de una década, observando una tendencia decreciente<sup>1</sup>.

## Factores de riesgo

Además de la transfusión sanguínea existen una serie de condiciones asociadas con la diseminación del VHC incluyendo procedimientos médicos y quirúrgicos, abuso de drogas y contacto familiar<sup>4</sup>. Aunque en México se desconoce la frecuencia real por la que se transmite, se estima que la principal causa es la transfusional seguida por los mecanismos de la comunidad y de la familia, y finalmente por procedimientos médicos y quirúrgicos<sup>2</sup>.

Abuso de drogas: las personas que han utilizado drogas intravenosas, incluyendo aquellas que lo han hecho una sola vez hace varios años y las que han aspirado cocaína, representan un número importante de pacientes con VHC adquirido fuera del medio hospitalario<sup>1</sup>. Los pacientes adictos a drogas, al estar en contacto con sangre a través de jeringas y agujas contaminadas, no sólo están en riesgo de adquirir hepatitis C, sino que además tienen riesgo de infectarse por hepatitis A, B y por VIH<sup>4</sup>.

Transmisión familiar: el mecanismo fundamental es el de la transmisión por la vía sexual, incluyendo el embarazo<sup>3</sup>. La transmisión vertical de la madre al hijo por la vía transplacentaria puede ocurrir cuando la carga viral es mayor de 10 por mL, lo cual puede suceder en 0.1 a 13.0% de las madres infectadas<sup>3</sup>. El riesgo promedio de transmisión materna es de aproximadamente 5%, lo que puede ocurrir al momento del parto sin que exista un tratamiento preventivo específico<sup>4</sup>. No existe evidencia de transmisión por medio de la lactancia; sin embargo, es conveniente que las madres se abstengan de alimentar a los bebés, sobre todo si existen grietas en los pezones. La mayoría de los niños

infectados durante el parto cursan asintomáticos durante la infancia; sin embargo, aún se requiere de mayores estudios de larga duración para establecer cuál será la evolución y el pronóstico<sup>4</sup>. Todavía no existen lineamientos ni tratamientos aprobados para el manejo de estos casos<sup>5</sup>. Los niños que presenten elevaciones enzimáticas de AST/ALT deben ser referidos a un pediatra con experiencia en el manejo de enfermedades hepáticas. Los hijos de madres infectadas con VHC deberán ser evaluados con una prueba para detectar anticuerpos anti-VHC antes del primer año de edad<sup>5</sup>. Con base en lo expuesto, es claro que se deben establecer medidas preventivas en los servicios de salud, en la comunidad y en los hogares de los pacientes infectados con VHC. Los sujetos seropositivos a VHC, al igual que los portadores de VIH y VHB, son potencialmente infectantes, por lo que representan un problema de salud pública que debe ser reconocido y controlado.

### **Comportamiento clínico de la enfermedad**

El VHC es una causa importante de:

Patología hepática: aguda y crónica, siendo además una causa importante de cirrosis y carcinoma hepático<sup>4</sup>.

Patología extrahepática: autoinmune, dermatológica, neuropática, renal, neoplásica y otras<sup>4</sup>.

El personal de salud que maneja componentes sanguíneos se encuentra dentro de los grupos de riesgo<sup>3</sup>. La infección aguda con VHC es clínicamente

silenciosa en cerca de 95% de los individuos infectados, el pico de aminotransferasas generalmente es bajo (de 200 a 600 UI) y sólo 5% manifiestan ictericia. El riesgo de insuficiencia hepática fulminante con hepatitis C aguda es menos de 1%; sin embargo, 80% de los pacientes con hepatitis aguda progresan a la cronicidad, la cual suele ser asintomática o cursar sólo con fatiga; en etapas avanzadas se manifiesta como síndrome icterico, astenia, adinamia, hiporexia y más raramente con manifestaciones clínicas extrahepáticas<sup>3</sup>. De los pacientes con hepatitis crónica, 20% progresan a cirrosis hepática dentro de los primeros cinco años después del diagnóstico; se ha descrito el desarrollo de carcinoma hepatocelular una vez que la cirrosis se establece; 9% presenta evidencia clínica de hipertensión portal a los 15 años<sup>4</sup>. Una característica de la hepatitis C es la fluctuación de las aminotransferasas con varios picos de elevación que pueden persistir elevados o normalizarse por completo, no existe inmunidad protectora para el virus; en etapas avanzadas se presenta hipoalbuminemia e hipocolesterolemia, así como cambios en la biometría hemática relacionados con el hiperesplenismo<sup>7</sup>. Se ha observado que el intervalo medio que transcurre entre una transfusión y la hepatitis crónica sintomática, cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular es de 10, 21 y 29 años, respectivamente. La probabilidad de resolución espontánea es prácticamente nula<sup>3</sup>. Actualmente es claro que la enfermedad cursa asintomática en la mayoría de los pacientes, evolucionando de manera lenta y silenciosa durante un lapso de 20 a 40 años. Estrictamente hablando, no existen portadores sanos de VHC<sup>6</sup>. En más de 80% de los casos, la infección evoluciona hacia una hepatitis aguda, de los cuales 2/3 progresa hacia la forma crónica, en donde 1/3 es severa, lo cual conduce a cirrosis y carcinoma



hepatocelular en un lapso de ocho a 12 años<sup>1,3</sup>. La coinfección con hepatitis B y el abuso del alcohol son factores de riesgo adicionales ya que inducen un fenómeno severo de apoptosis<sup>4</sup>.

### **Hepatitis crónica**

La evolución crónica se asocia al consumo de alcohol<sup>3,4</sup>. Existe evidencia clínica y experimental de que VHC asociado a etanol inducen apoptosis en el hígado. Aunque el rol preciso de la apoptosis es aún desconocido, es probable que esté relacionado con la regulación de la expresión de bcl-2. El diagnóstico de hepatitis crónica se establece mediante biopsia hepática, la cual establece los grados de actividad por el puntaje de la clasificación histológica de Knodell, así como el grado de fibrosis. Los hallazgos histopatológicos encontrados en la hepatitis crónica C son: esteatosis, nódulos linfoides y colangitis crónica<sup>3,4</sup>.

### **Autoinmunidad**

Es muy probable que exista una asociación entre VHC y las enfermedades autoinmunes, por lo que es común observar marcadores biológicos positivos en estos pacientes<sup>4</sup>. Este evento es de importancia mayor tanto en las manifestaciones clínicas extrahepáticas como en el desarrollo de una vacuna. VHC es un virus hepatotrópico y linfotrópico, que muta frecuentemente evadiendo la respuesta humoral y celular, estimulando constantemente a los

linfocitos T y B<sup>3</sup>. Dentro de los padecimientos con mecanismos inmunológicos observados con mayor frecuencia destacan crioglobulinemia mixta<sup>3</sup>, anemia aplásica<sup>4</sup>, linfomas, neuropatías, glomerulonefritis membranosa y glomerulonefritis membranoproliferativa<sup>5</sup>. Dentro de los problemas dérmicos se encuentran porfiria cutánea tarda, liquen plano y vasculitis leucocitoclástica<sup>3</sup>. De tal manera que es recomendable que ante una enfermedad autoinmune convenga descartar la presencia de VHC, ya que el uso de interferón en estos casos puede beneficiar al paciente<sup>7</sup>.

### **Detección del VHC y de la respuesta inmune**

Desde el punto de vista de su detección en el laboratorio clínico, las infecciones virales se caracterizan por dos etapas<sup>4</sup>:

Fase 1. Eclipse: detección del virus por métodos tales como cultivo, biología molecular o inmunoensayos. En VHC es de siete a 21 días.

Fase 2. Ventana: detección de los anticuerpos contra el virus, generalmente por medio de inmunoensayos. En VHC es de 49 a 63 días, si se emplean métodos ELISA de tercera generación. Durante el intervalo que existe entre las fases 1 y 2, el paciente es altamente infeccioso y su sangre es un potente transmisor. De ahí que resulte indispensable encontrar métodos confiables y económicos que permitan detectar la fase 1 con efectividad, eficiencia y eficacia.

### **Aminotransferasas**

A pesar de que TGO (AST) y TGP (ALT) son marcadores reconocidos de inflamación hepática ante VHC<sup>13,14,15</sup>, muestran un comportamiento atípico, ya que existen casos de pacientes infectados con enzimas normales o negativas, lo que plantea un dilema sobre si estos enfermos deben o no someterse a biopsia hepática<sup>8</sup> y tratamiento con interferón<sup>7</sup> y ribavirina. Se calcula que 25% de los pacientes con VHC tienen transaminasas dentro de límites normales, sobre todo pacientes del sexo femenino (58 a 90%), y que menos de 15% tienen niveles francamente elevados. Sin embargo, en pacientes que se han sometido a biopsia hepática es posible encontrar alteraciones histopatológicas hasta en 80% de los casos<sup>8</sup>. No obstante que los hallazgos sean moderados, existe evidencia de que la enfermedad es progresiva, aunque a paso más lento que en aquellos que tienen enzimas anormales<sup>3,8</sup>. Los estudios virológicos de los pacientes con enzimas normales no son muy diferentes en cuanto a genotipo o carga viral<sup>8</sup>. De manera que el paciente, y no el virus, es probablemente el responsable de la respuesta clínica<sup>3,4</sup>. Aparentemente, el tratamiento antiviral con interferón induce una remisión duradera sólo en un bajo porcentaje de pacientes con transaminasas normales, por lo que el costo-beneficio de las medidas terapéuticas en estos enfermos aún es cuestionado<sup>7</sup>. Aunque el VHC aún no había sido visualizado, su existencia se sospechó desde los años 70<sup>3</sup>. En 1989 se estableció la prueba para determinar el anticuerpo a VHC (anti-VHC), pero las primeras pruebas carecían de sensibilidad y especificidad. Las pruebas de segunda generación (ELISA II y RIBA II) tienen excelente sensibilidad y especificidad<sup>8</sup>. La diferencia básica entre las pruebas de primera y segunda generación es el número de antígenos

virales utilizados. Un inmunoensayo de tercera generación está en venta en ciertos países; la prueba incluye todos los antígenos virales de la prueba de segunda generación y un nuevo antígeno de la región NS5<sup>8</sup>. Se ha observado que tiene mayor sensibilidad que el inmunoensayo de segunda generación. El RIBA II incluye los dos antígenos originales C33-cy y C22-3<sup>4</sup>. La posibilidad de detectar el ARN del virus ha permitido entender mejor la patogenia de esta enfermedad viral. La hepatitis C comprende un grupo de varias cepas virales que pertenecen a un grupo mayor, el cual se subdivide en subtipos. Los genotipos del VHC tienen importancia clínica, ya que se sabe que el subtipo 1b es más resistente al tratamiento con antivirales<sup>5,6</sup>. El diagnóstico de VHC se debe hacer actualmente mediante la prueba de ELISA de tercera generación<sup>8</sup>. Esta prueba es la que más se utiliza en la actualidad. Detecta la presencia de anticuerpos a las cuatro semanas después de la inoculación, con sensibilidad y especificidad mayor de 95%. Con la prueba RIBA, se puede detectar el ARN del VHC en suero; en una o dos semanas después de la transfusión, se encuentra en forma transitoria en la hepatitis aguda y de manera indefinida durante la hepatitis crónica<sup>3</sup>. Esta prueba permite diagnosticar con mayor certeza la transmisión vertical del VHC, pero no es del todo adecuada para evaluar la respuesta al tratamiento antiviral. Se ha informado la visualización de partículas virales en tejidos de pacientes con hepatitis No-A No-B<sup>8</sup>. La presencia de partículas del antígeno viral en el citoplasma es un hallazgo muy temprano de la enfermedad, pero aún requiere verificación<sup>4,8</sup>. La reacción de la polimerasa en cadena PCRARN-VHC es una prueba en la que la amplificación de los ácidos nucleicos y, por tanto, del antígeno presente en sangre; se estima en un promedio de 39 días con intervalo de 23 a 72 días<sup>8</sup>.

Desafortunadamente, es poco utilizada debido a que no existe infraestructura tecnológica suficiente en México. Dado que el costo de la prueba PCR es muy elevado, para fines pretransfusionales generalmente se lleva a cabo en “minipools” de muestras. En Alemania y Austria se introdujo esta estrategia desde 1997<sup>8</sup>. A principios del año 2002, ellos ya contaban con una experiencia de 3.6 millones de donadores, los cuales estudiaron empleando microplacas de 12 x 8, con las que se prueban 96 donadores simultáneamente, empleando técnicas automatizadas (Genesis, Tecan, Switzerland) para preparar (100 uL cada una), concentrar por centrifugación (48,000 G x una hora) y analizar (Amplicor, Roche Diagnostics). Sus conclusiones son satisfactorias en cuanto a la reducción del periodo de ventana desde el punto de vista de confiabilidad y reducción del costo cuando se compara con PCR individual, pero no en cuanto a la oportunidad para los casos de urgencia<sup>4,8</sup>. Estudios realizados por diversos autores muestran que los marcadores de VHC tienen lapsos de 13 a 14 días para la presencia de antígenos (Ag) y ácidos nucleicos de VHC y de 70 días para la presencia de anticuerpos (Ac) VHC de 3a generación. La prevalencia de VHC y la gravedad del padecimiento, aunados a los avances tecnológicos para su detección económica, automatizada y confiable, justifican ampliamente el establecimiento de campañas de prevención y control en beneficio de los pacientes, de sus familias y de la sociedad. De tal manera que diversas agencias de salud en Europa y en los Estados Unidos han desarrollado normas y lineamientos para este fin, incluyendo la detección oportuna dentro del estudio integral del donador de sangre, así como en poblaciones de alto riesgo, incluyendo personal de salud expuesto y usuarios de drogas intravenosas<sup>2,8</sup>. Con objeto de detectar los antígenos virales sin requerir de pruebas de biología

molecular, recientemente se ha desarrollado una prueba inmunoenzimática altamente sensible y específica. El reactivo Ortho-VHC-Ag ELISA es la primera prueba desarrollada en el mundo para la detección del antígeno core de la hepatitis C en muestras individuales. Esta prueba ha sido diseñada y es fabricada de acuerdo a los requisitos de la Food and Drug Administration de los Estados Unidos<sup>8</sup>; actualmente ya ha sido validada para el tamizaje de los donadores de sangre, cumpliendo los requisitos que se definen como: “El establecimiento de evidencia documentada, que genere un alto nivel de seguridad, de que un proceso específico producirá repetidamente un resultado o un producto que satisfaga especificaciones predeterminadas y sus características de calidad”. Es claro que las pruebas inmunológicas tienen una serie de ventajas de aplicabilidad sobre las pruebas de biología molecular. Ortho-VHC-Ag ya ha sido presentado a las agencias gubernamentales de Europa y los Estados Unidos para su uso en los bancos de sangre, obteniendo ya su aprobación en Francia y Hungría<sup>8</sup>. El costo de la prueba VHC-Ag es más bajo que el de la PCR, con confiabilidad equiparable. Las pruebas de detección y cuantificación de antígeno, así como la medición de la carga viral por métodos cuantitativos de PCR son dos herramientas poderosas no sólo en el diagnóstico, sino también en el pronóstico y vigilancia de la respuesta terapéutica, por lo que han sido ampliamente utilizadas para: detectar genoma, cuantificar carga viral y evaluar eficacia terapéutica<sup>4,8</sup>. Desafortunadamente, como ya se mencionó, además de ser caras, estas pruebas tienen una serie de restricciones que impiden su uso masivo en los laboratorios clínicos convencionales. Actualmente es posible cuantificar la carga viral del virus de la hepatitis C con un método inmunométrico ELISA Ortho Trak-C Assay, el cual

reúne características de confiabilidad y aplicabilidad suficientes para ser usado rutinariamente en los laboratorios clínicos, el cual resultará más conveniente que los métodos de biología molecular incluyendo B-DNA y PCR<sup>7,8</sup>.

### **Evaluación inmunométrica del antígeno VHC**

Ortho Trak-C Assay es una prueba inmunométrica para la cuantificación de carga viral del antígeno core (Ag-Core) de la nucleocápside del VHC en suero o plasma humano (EDTA, heparina) en presencia o ausencia de anticuerpos anti-VHC (Ac anti-VHC). Antes de efectuar la prueba, para liberar al VHC, se realiza un pretratamiento que desintegra los complejos inmunes circulantes que puedan existir en las muestras del paciente<sup>8</sup>. Se emplean dos anticuerpos monoclonales específicos para dos regiones del VHC-Ag-Core, los cuales capturan al virus en las microplacas. Los fragmentos Fab de los anticuerpos monoclonales conjugados con peroxidasa se acoplan al Ag-Core previamente capturado, finalmente se lleva a cabo una prueba ELISA cuantitativa que correlaciona con la carga viral<sup>4,8</sup>.

### **Pronóstico**

Existe evidencia clínica de que, en ciertos casos, la infección por VHC se puede resolver espontáneamente cuando la dosis del inóculo es baja, gracias a una respuesta inmunocelular T efectiva, aún en ausencia de una seroconversión anti-VHC<sup>5</sup>. Se calcula que la resolución total, tanto desde el punto bioquímico como virológico, ocurre en 10 a 50% de los casos de hepatitis

aguda. Dentro de los factores probablemente involucrados destacan la ruta de infección, la magnitud del inóculo, el genotipo, la coinfección con HBsAg entre otras enfermedades virales, el abuso del alcohol, además de la presencia y la magnitud de la transaminasemia, entre otros. Es muy importante reconocer que la negatividad repetida de la carga viral y de la prueba PCR-VHC-ARN en suero no necesariamente correlaciona con la ausencia del VHC en el hígado<sup>7,8</sup>.

## **Tratamiento**

Los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos patrocinaron la Conferencia Sobre Manejo de la Hepatitis C en Marzo de 1997<sup>2</sup>. En el documento final del panel de expertos se estableció un consenso sobre la detección, diagnóstico, prevención y tratamiento del VHC. Las conclusiones de este grupo han sido ampliamente difundidas y aceptadas, lo que ha generado cierta uniformidad de criterios<sup>5</sup>. El reto actual es el de seguir desarrollando nuevas recomendaciones y que se apliquen de manera homogénea. A seis años de esta conferencia han surgido nuevas evidencias y nuevas tecnologías, por lo que al menos dos de las recomendaciones originales deben ser modificadas<sup>5</sup>. Una de ellas es sobre la genotipificación y la otra es sobre el tratamiento. El fármaco que en forma aislada tiene los mejores resultados es el interferón alfa<sup>7</sup>, el cual debe considerarse en aquellos pacientes con evidencia serológica de anticuerpo contra el VHC vinculada con elevación persistente de aminotransferasas y biopsia compatible con hepatitis crónica<sup>9</sup>. La dosis es de tres millones por vía subcutánea tres veces por semana por un mínimo de tres



meses; 50% alcanza respuesta completa; al suspender el interferón existe recaída de 50%; sólo se ha observado respuesta sostenida en 20% de los casos<sup>7</sup>. Los factores de falta de respuesta al interferón son enfermedad de larga evolución, carga viral con niveles altos de ARN, lesión histológica grave, genotipo 1b, niveles bajos de ALT<sup>7</sup>. Aunque aún está en investigación la terapia combinada ribavirina e interferón alfa, resultados preliminares de dos estudios multicéntricos ya han demostrado que el uso combinado de interferón con ribavirina es mejor que el uso de interferón alfa solo<sup>7</sup>. Así mismo se demostró que el tratamiento de 24 semanas es adecuado para los genotipos 2 y 3, mientras que el genotipo 1 requiere terapia por 48 semanas. Finalmente, vale la pena mencionar que el tratamiento contra VHC con interferón alfa y ribavirina es también una opción segura y efectiva en el manejo de pacientes pediátricos y adolescentes<sup>3,7</sup>.

### **Monitorización de la fibrosis hepática**

La importancia clínica de la monitorización de la fibrosis hepática radica básicamente en los siguientes aspectos: 1) la morbimortalidad de diversas hepatopatías crónicas está relacionada al estadio y progresión de la fibrosis; 2) su estabilización o regresión ha sido demostrada ampliamente en el contexto del tratamiento específico de la enfermedad de base; 3) la presencia de puentes de fibrosis en algunos escenarios es indicación de tratamiento (HCV) y en otros de suspensión del mismo (metotrexate en artritis reumatoidea); 4) las limitaciones implícitas de las biopsias hepáticas reiteradas en la práctica clínica

cotidiana. Por lo tanto, la correcta monitorización no invasiva podría darnos información clave en el manejo terapéutico de los pacientes<sup>10</sup>.

### **La biopsia hepática**

La biopsia hepática, en la que se extrae una pequeña muestra de tejido para examinarla bajo el microscopio, se considera el estándar de oro para calibrar el alcance del daño hepático en personas con hepatitis crónica<sup>9</sup>. Las biopsias pueden detectar cambios en los tejidos que indican la presencia de fibrosis o cirrosis. Normalmente, dado que el tratamiento para la hepatitis C con interferón muestra una eficacia sólo moderada y produce considerables efectos secundarios, casi todos los expertos recomiendan no tratar a las personas con un grado mínimo de fibrosis, y para determinar este grado el mejor método sigue siendo la biopsia hepática<sup>7,9</sup>. La repetición periódica de la biopsia (cada 3-5 años) sirve para apreciar el ritmo de progreso de la fibrosis y para comprobar si el tratamiento está funcionando<sup>9</sup>. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la biopsia es un procedimiento agresivo y caro, que causa dolor a una tercera parte de los pacientes y resulta angustiante para muchos de ellos<sup>9</sup>. Además, aunque las complicaciones derivadas del procedimiento son raras (inferiores al 1%), éstas pueden aparecer, ocasionando hemorragias excesivas e infecciones<sup>9</sup>. Por otra parte, incluso en las mejores circunstancias, las biopsias no ofrecen un diagnóstico preciso de la etapa en que se encuentra la fibrosis hepática en cerca de un 20% de los casos<sup>7,9</sup>. Por ello, los investigadores llevan tiempo buscando otros marcadores que puedan señalar

el daño hepático sin necesidad de realizar una biopsia<sup>10</sup>. Hay una serie de factores que se han asociado a un mayor riesgo de padecer fibrosis hepática, entre ellos la edad más avanzada, ser de sexo masculino y el consumo de alcohol<sup>3,4</sup>. La elevación de los niveles de alaninoaminotransferasa (ALT), una enzima hepática, está asociada a la inflamación del hígado, pero no es un buen indicador de fibrosis<sup>10</sup>. Algunos marcadores bioquímicos que se han propuesto como indicadores de progresión de la enfermedad hepática son la alfa-2-macroglobulina, la apolipoproteína A1, la haptoglobina, la bilirrubina, la gamma-glutamyl-transferasa (GGT), el nivel de colesterol, la concentración de plaquetas, y el tiempo de la protrombina<sup>10,13-15</sup>. Varios equipos de investigación han estudiado distintos índices, o combinaciones de marcadores bioquímicos, comparando los resultados de dichos índices con los de las biopsias, con objeto de determinar su grado de coincidencia en cuanto al alcance de la fibrosis<sup>15</sup>.

Aunque en la actualidad la biopsia hepática es el método de elección para establecer el estadio de fibrosis<sup>9</sup>, los errores de muestreo, la variabilidad inter-observador, los riesgos del procedimiento y la reticencia de los pacientes, son los puntos débiles de este método para evaluar el status de un paciente<sup>9,10,17</sup>. Estos aspectos sustentan la necesidad de acceder por métodos no invasivos al conocimiento del status de fibrosis en un paciente dado<sup>16</sup>.

### **Alternativas a la biopsia hepática**

Se han registrado avances en el desarrollo de marcadores séricos que correlacionan con la severidad de la fibrosis y representan una herramienta atractiva para estimar la severidad inicial y los cambios ocurridos en el tiempo<sup>10</sup>. Aunque estos avances son interesantes, los biomarcadores deben ser validados en estudios transversales y longitudinales y también demostrar reproducibilidad y diferenciación entre los distintos estadios de fibrosis (leve, moderada y severa)<sup>22</sup>.

Múltiples paneles de marcadores indirectos han incluido los tests de laboratorio utilizados para estimar la severidad de la enfermedad hepática<sup>13-18</sup>. Para la hepatitis C, se ha incorporado al panel los valores séricos de aspartoaminotransferasa, fosfatasa alcalina y recuento plaquetario, entre otros<sup>19</sup>. Las limitaciones de estos modelos incluyen la imposibilidad de diferenciar estadios moderados de severos, la no clasificación del 40-60% de los pacientes, la escasa sensibilidad en relación a los efectos del tratamiento y la falta de validación en cohortes independientes<sup>10</sup>. La mayoría de estos paneles sirven solo para identificar pacientes con enfermedad mínima y/o leve<sup>22</sup>.

También han sido reportados resultados de estudios con paneles de marcadores séricos que reflejan más la fisiopatología del proceso fibrogénico<sup>20</sup>. Sin embargo, los niveles séricos de citoquinas profibrogénicas como el factor de crecimiento de transformación beta (TGF- $\beta$ ) no logran reflejar la actividad de la enfermedad hepática o su estadio de fibrosis<sup>10,19</sup>. Aunque la determinación de los metabolitos de la síntesis y/o el turnover del colágeno (PIIINP, colágeno tipo IV) o de la matriz extracelular (ácido hialurónico, laminina) han demostrado

correlaciones razonables con los estadios de la enfermedad, determinados en forma individual carecen de la suficiente especificidad o sensibilidad. Por lo tanto, para incrementar su desempeño, los han incluido dentro de diversos paneles de estudio<sup>10</sup>. Por ejemplo el Fibrotest incluye  $\alpha$ -2-macroglobulina, haptoglobina, GGT, apolipoproteína A y bilirrubina total. Este test ha sido validado en pacientes con hepatitis C. Ha permitido ubicar el 50% de los pacientes con Metavir score F0-F1 versus F2-F4. Como debilidad este test utiliza parámetros que no son representativos del turnover de la matriz extracelular, más bien se relacionan a aspectos funcionales hepáticos. Otros algoritmos combinan parámetros relacionados con la matriz extracelular como el TIMP-1, el ácido hialurónico y PIIINP<sup>19-22</sup>.

La elastografía<sup>12</sup> es otro método no invasivo en evaluación. Consiste en la estimación de la rigidez del tejido a una profundidad por debajo de la piel entre 25 a 65 mm, midiendo la velocidad de propagación de una onda de deformación elástica dentro del tejido. Cuanto mayor sea la rigidez que presente el tejido, mayor será la velocidad de propagación de la onda. La medición se realiza con un instrumento que actúa como sonda colocado sobre la piel, entre las costillas a nivel del lóbulo derecho hepático. Entre noviembre del año 2002 y marzo del 2005 se realizaron 20 estudios multicéntricos y 10 unicéntricos con el objeto de establecer la validación del método para determinar el estadio de fibrosis. Respecto de la precisión en establecer el diagnóstico de cirrosis, la elastografía demostró éxito en más del 90% de los pacientes. Sin embargo aún es necesario precisar el nivel numérico que corresponde a un estado de cirrosis determinado para las distintas etiologías.

Por el contrario la capacidad de diagnosticar estadios tempranos de fibrosis fue menos contundente<sup>13</sup>. La sensibilidad en estos casos se ubicó entre un 56 a 67% y la especificidad entre un 89 y 91%, para diagnosticar un estadio de fibrosis F1 versus F 2,3,4 en pacientes con hepatitis crónica por virus C<sup>11,12</sup>. Respecto del uso de la elastografía para realizar un seguimiento de la enfermedad fibrótica, al momento no se dispone de datos obtenidos en estudios a largo plazo de biopsias pareadas<sup>9</sup>. Sin embargo, basándose en la relación a la respuesta virológica a los tratamientos antivirales y la regresión de la fibrosis, los resultados de la elastografía demostraron una disminución en la rigidez del hígado en 74% de pacientes respondedores versus un 53% de no respondedores. Otros trabajos revelan similares resultados que son prometedores en cuanto al uso de la elastografía para el seguimiento a largo plazo. Las limitaciones del uso de la medición del módulo de rigidez del tejido hepático son la presencia de ascitis y la obesidad (distancia entre la piel y el hígado mayor a 2.5 cm). En la primera circunstancia se asume que por encima de las dificultades de medición, no cabría la necesidad de medir la fibrosis. En la segunda condición, la medición no podría obtenerse. La elastografía<sup>12</sup> es un método prometedor para el diagnóstico de fibrosis avanzada o cirrosis. En cuanto a la precisión en el diagnóstico de estadios tempranos de fibrosis los resultados han sido moderados en igual manera que los marcadores séricos. Estudios proteómicos, genómicos y glicómicos prometen una mayor sensibilidad y especificidad al evaluar el proceso fibrogénico<sup>6</sup>. Se recomienda incorporar los biomarcadores séricos en los ensayos clínicos junto a otras modalidades no invasivas (elastografía) con el objeto de establecer su validación para cada causa de cirrosis<sup>12-18</sup>.

## **Fibrotest**

Poynard y colegas han elaborado un índice conocido como Fibrotest, que incluye factores como la concentración de alfa-2-macroglobulina, apolipoproteína-A1, haptoglobina, bilirrubina total y GGT, además de la edad y el sexo<sup>19-22</sup>. En 2001 publicaron que, en personas con puntuaciones muy bajas dentro de esta clasificación (por debajo de 0.10 en una escala de 0.00 a 1.00), el índice muestra un valor pronóstico de resultados negativos de hasta un 100% (es decir, indica correctamente la ausencia de fibrosis cuando no la hay)<sup>16</sup>. El valor pronóstico de los resultados positivos por encima de 0.60 es de más del 90% (es decir, indica correctamente la presencia de fibrosis cuando sí la hay)<sup>16</sup>. En 2003 publican que Fibrotest también pronostica con precisión la fibrosis hepática en personas con la coinfección por el VHC/VIH, y en 2002 afirman que las puntuaciones del índice decrecían en aquellos pacientes que habían logrado una respuesta virológica sostenida con el tratamiento de interferón<sup>7,20</sup>. El uso de las cinco variables del Fibrotest junto con la concentración de ALT —un índice combinado al que han denominado ActiTest— permite predecir la existencia de actividad inflamatoria junto con fibrosis<sup>21</sup>. Consecuentemente Forns desarrolla otro índice y concluye que puede evitar la necesidad de biopsias en cerca de una tercera parte de los pacientes con enfermedad hepática moderada<sup>10</sup>. Tanto Fibrotest como el índice de Forns son muy buenos a la hora de predecir la ausencia de fibrosis en personas con puntuaciones bajas, pero resultan menos exactos cuando tratan

de diagnosticar la presencia de daño hepático en personas con puntuaciones elevadas<sup>22</sup>. Ambos algoritmos son menos útiles con personas que obtienen puntuaciones indeterminadas o en el intervalo medio (aunque FibroTest ofrece una relación casi lineal entre las clasificaciones del índice y la fibrosis). Aun cuando los índices pueden diferenciar la fibrosis mínima (etapa 0-1) de la significativa (etapa 2-4), no son capaces de distinguir entre etapas histológicas específicas (por ejemplo, la etapa 2 de la etapa 3)<sup>21</sup>. Además, existen varios factores, aparte de la fibrosis, que pueden alterar los resultados del índice. La concentración de colesterol, por ejemplo, puede variar según el genotipo del VHC que se tenga<sup>21,22</sup>. Los niveles de GGT y de otras enzimas hepáticas tienden a ser más elevados en hombres que en mujeres<sup>10</sup>. El nivel de plaquetas no está bien estandarizado entre los distintos laboratorios (Fibrotest omite este factor por dicho motivo)<sup>10,19</sup>.

Actualmente se están investigando dichos marcadores, y aunque no se ha hallado que ninguno de ellos sirva por sí mismo como factor pronóstico fiable de la fibrosis, pueden emplearse como parte de un algoritmo o índice junto con otras variables<sup>11</sup>. Algunos expertos creen que con la aparición de nuevos y mejores tratamientos para la hepatitis C que benefician a más pacientes, las biopsias hepáticas pueden resultar menos necesarias ahora para ayudar a los médicos a decidir quién debe recibir tratamiento<sup>10,22</sup>.

En el metaanálisis de Fibrotest<sup>21</sup> (en relación con la biopsia hepática) para obtener validación en la determinación de fibrosis hepática, se utilizó un modelo de efectos aleatorios para obtener un estimado total en el AUROCs<sup>16</sup> (área bajo la curva del FT comparado con la biopsia de hígado, con un Índice de



Confianza del 95%). En la base de datos integrada, las biopsias del hígado fueron procesadas usando técnicas estándar. Intervino un patólogo que era ajeno al resultado de los marcadores bioquímicos, que evaluó la etapa de la fibrosis y el grado de la necrosis según el sistema de registro METAVIR. La fibrosis fue evaluada en una escala de 0-4 donde los criterios fueron: F0 (ninguna fibrosis), F1 (fibrosis porta sin septum), F2 (poco septum), F3 (numerosos septum sin cirrosis), F4 (cirrosis)<sup>16,19-22</sup>. Este metaanálisis demuestra que el valor diagnóstico de Fibrotest es similar en las cuatro enfermedades hepáticas crónicas más frecuentes (hepatitis C, hepatitis B, esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica)<sup>19</sup>. También demuestra que el valor diagnóstico de Fibrotest, así como de la biopsia de hígado, fueron similares en todas las etapas adyacentes de fibrosis, pero sin una zona gris específica o zona inexacta entre las etapas intermedias<sup>20</sup>. El Fibrotest, al igual que la biopsia, tiene un valor diagnóstico más bajo para discriminar entre dos etapas intermedias (F2 de F3, por ejemplo) que entre dos etapas extremas<sup>21</sup>.

El resultado de Fibrotest<sup>19-22</sup> se expresa en valor numérico en rango de 0.00 a 1.00 conjuntamente con un gráfico que incluye color semejante a un semáforo. Tiene entonces tres regiones: verde, amarilla y roja, cuya finalidad es alertar respecto al resultado ya que el grado de fibrosis y/o necrosis que se reporta son criterio para inicio de tratamiento de hepatitis crónica, de la misma manera

se puede traspolar el resultado de Fibrotest con el grado de estadificación METAVIR (ver anexos).

## **OBJETIVO PRINCIPAL**

Determinar la correlación entre Fibrotest y biomarcadores y carga viral en pacientes con hepatitis C del Hospital Central Norte de PEMEX y Sanatorio Durango.

## **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Describir la relación del grado de fibrosis y actividad necrótica por virus de hepatitis C con el genotipo viral en paciente del Hospital Central Norte de PEMEX y Sanatorio Durango.

## **HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN**

Existe correlación entre el grado de fibrosis y los cambios en los biomarcadores hepáticos y carga viral de los pacientes con hepatitis C.

## **HIPÓTESIS NULA**

No existe correlación entre el grado de fibrosis y los cambios en los biomarcadores hepáticos y carga viral de los pacientes con hepatitis C.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **TIPO DE ESTUDIO**

Estudio descriptivo, abierto, observacional, retrospectivo, transversal.

### **POBLACIÓN ESTUDIADA**

#### **UNIVERSO DEL ESTUDIO**

Previamente autorizado por el comité de Ética e Investigación del Hospital Central Norte de PEMEX y del Sanatorio Durango, con apoyo de la Jefatura de Medicina Interna y del Servicio de Gastroenterología de ambas instituciones, se revisaron los expedientes de los pacientes derechohabientes portadores de hepatitis C a quienes se realizó determinación de Fibrotest. Para el caso de PEMEX, dicha determinación es de reciente disponibilidad a partir del mes de Mayo de 2009.

#### **TAMAÑO DE MUESTRA**

El censo de pacientes portadores de hepatitis C del Hospital Central Norte de PEMEX (independientemente de su estado clínico individual) es de:

Hombres 52

Mujeres 94

La fórmula para el cálculo de muestra empleada es la siguiente:

$$n = \left( \frac{\sigma Z_{1-\frac{\alpha}{2}}}{d} \right)^2$$

Se revisaron a conveniencia todos los expedientes de los pacientes de ese censo que cuentan con determinación de Fibrotest/Actitest, se corroboró su reactividad a virus de hepatitis C y carga y genotipo virales, se capturaron también los siguientes parámetros paraclínicos (contemporáneos a la determinación de Fibrotest): biometría hemática, glucosa, triglicéridos y colesterol, bilirrubina total, transaminasas, albúmina, tiempo de protrombina y alfafetoproteína.

Se realizaron 42 determinaciones de Fibrotest/Actitest, se excluyeron 3 de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión establecidos, quedaron solamente 39.

## **RECURSOS HUMANOS**

- Médicos residentes.
- Personal de archivo clínico.
- Médicos adscritos a los servicios de Medicina Interna y Gastroenterología.

## **MATERIALES**

Oficina: lápices, goma, engrapadora, hojas de papel, computadora, impresora.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **INCLUSIÓN**

- Ambos sexos.
- Pacientes seropositivos a hepatitis C.
- Hospitalizados o ambulatorios.
- Con y sin tratamiento previo de la hepatitis C.
- Con y sin antecedente de hepatitis A.
- Con las siguientes determinaciones:
  - o Fibrotest.
  - o Carga y genotipo virales.
  - o Biometría hemática, bilirrubina total, lípidos, glucosa, alfafetoproteína, albúmina, tiempo de protrombina.

### **EXCLUSIÓN**

- Reactividad a hepatitis B.
- Etilismo.
- Cualesquiera otras causas de hepatopatía (autoinmunidad, infecciosas, esteatosis, esteatohepatitis, medicamentosa, etc.).

## CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Información NO disponible (expedientes ilegibles, Fibrotest o paraclínicos incompletos).

## VARIABLES

### VARIABLE INDEPENDIENTE

Se trata de un estudio transversal, por lo tanto no hay variables que el investigador haya podido modificar.

### VARIABLES DEPENDIENTES

<b>Fibrotest</b>
<b>Tipo de variable:</b> cuantitativa, continua.
Índice de grado de fibrosis hepática y de actividad necrótica hepática que se obtienen mediante cálculos matemáticos tomando como base niveles de biomarcadores de función hepática.
<b>Biomarcadores; biometría hemática; pruebas de función hepática</b>
<b>Tipo de variable:</b> cuantitativa, continua.
Recuento celular o sustancias químicas cuya concentración o nivel se puede determinar en suero y tienen referencia a la función hepática.

## **METODOLOGÍA**

El trabajo se llevará a cabo posterior a la aprobación del protocolo por un comité local de ética e investigación del hospital y autorización mediante consentimiento informado por parte de los pacientes.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente estudio no viola ninguno de los principios básicos éticos de la investigación en seres humanos, siendo los datos obtenidos de tipo confidencial y solamente se divulgarán para investigación científica y se apega a la Ley General de Salud de la República Mexicana vigente en materia de investigación y en base a la Declaración de Helsinki buscando ante todo el beneficio de los pacientes.

## **MEDIDAS DE SEGURIDAD**

Al no ser un estudio experimental no se requieren de éstas.



## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>Mayo 2009</b>	<b>Junio 2009</b>	<b>Julio 2009</b>
<b>Planteamiento del problema</b>			
<b>Recopilación de información bibliográfica</b>			
<b>Desarrollo de la investigación</b>			
<b>Recolección de datos</b>			
<b>Concentrado de información</b>			
<b>Análisis de resultados</b>			
<b>Conclusiones</b>			
<b>Presentación del trabajo</b>			

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se construyó una tabla de concentrado de datos en Microsoft Excel.

De cada uno de los pacientes se tenía la siguiente información: edad, género, fecha de diagnóstico de hepatitis C, años de evolución con la infección, mecanismo de transmisión (cuando se sabía), tratamiento(s) recibido(s) para hepatitis C y resultado, genotipo viral, carga viral, Fibrotest y sus biomarcadores correspondientes, lípidos, glucosa, alfafetoproteína, albúmina y tiempo de protrombina.

Se asignó una columna a cada dato con lo que se obtuvieron parejas de datos, se usó la fórmula de *r* de Pearson para determinar la correlación entre variables, dicha fórmula es la siguiente:

$$r = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x - \bar{x})^2 \sum(y - \bar{y})^2}}$$

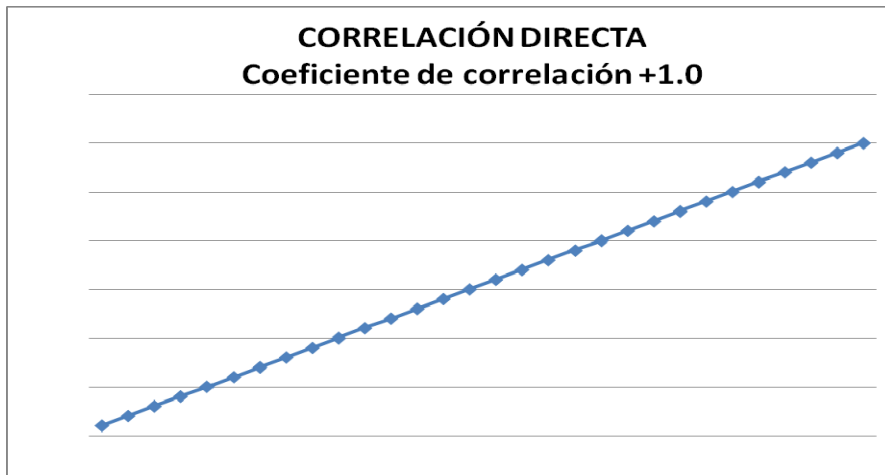
Donde  $\sum XY$  = es la suma de los productos de cada pareja X y Y (se llama también suma de productos cruzados).

El rango de resultados de este índice estadístico comprende desde -1, pasa por cero y llega hasta +1. Cuando no hay correlación el valor tiende a cero, pero cuando tiende a la unidad la correlación es más perfecta, siendo inversa si es hacia -1 y directa si lo hace hacia +1. Finalmente si el valor del coeficiente se encuentra tanto alejado de la unidad (positiva o negativa) y del cero, la correlación es inexistente.

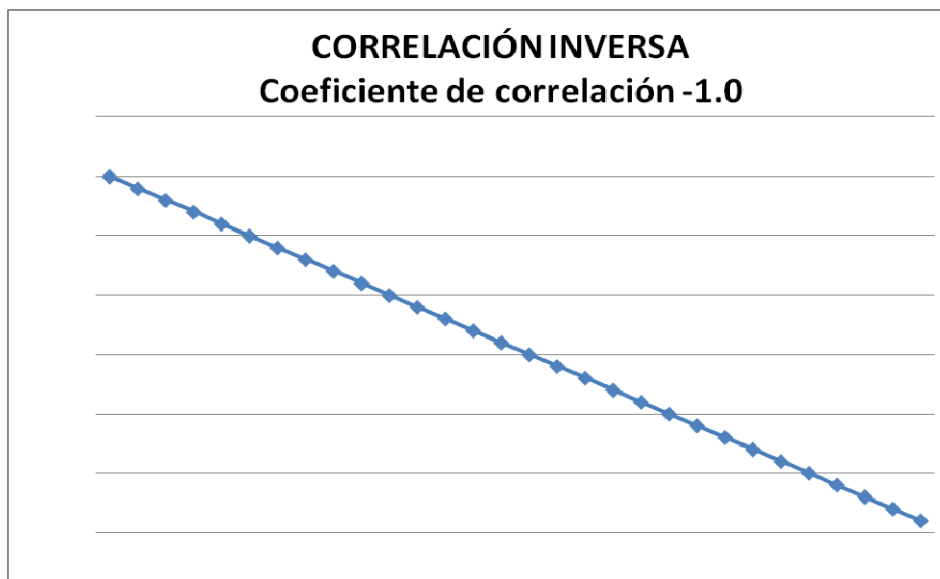
Las gráficas que se pueden obtener en una correlación son tres:



**Gráfica dispersa. Los valores de X aumentan pero el comportamiento de los valores de Y es totalmente sin correlación al aumento de X.**



**Gráfica de correlación directa. Toda vez que los valores de un eje aumenten, corresponde a aumento de los valores del otro.**



**Gráfica de correlación inversa. Toda vez que los valores de un eje aumenten, los valores del otro disminuirán, y viceversa.**

## **DIFUSIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Los resultados serán mostrados mediante tablas y gráficas.

## RESULTADOS

A continuación se describen las características de los pacientes del estudio:

Se consideraron para el estudio 42 pacientes. Cinco pacientes pertenecen al Hospital Durango y el resto son derechohabientes de PEMEX adscritos al Hospital Central Norte. Todos los pacientes del Hospital Durango cumplieron con los criterios de inclusión y no tenían criterios para excluirlos, sin embargo de los pacientes de PEMEX se excluyeron 3: el primero por no ser portador de hepatitis C, el segundo por ser portador de hepatitis C y el tercero por no contar con la información de su Fibrotest. Finalmente se incluyen en el estudio 39 pacientes.

El promedio de edad de los pacientes incluidos fue de 59.3 años, de los cuales 27 fueron mujeres y 12 hombres; como se mencionó antes, la infección por virus de hepatitis C se halla generalmente de forma incidental y por lo tanto no siempre es posible establecer el momento ni el mecanismo en que se adquirió la infección, así que solamente en 9 casos se determinó la transmisión ocurrió por transfusión sanguínea sucedida hace 30.6 años en promedio; 5 de los pacientes padecen hipertensión arterial; ninguno tenía alguna otra causa de hepatopatía; ninguno es diabético; 5 pacientes eran portadores del genotipo 1a, uno del genotipo 3a y el resto, 33, del genotipo 1b; 14 pacientes han recibido tratamiento, 2 de ellos tuvieron respuesta fallida, los 12 restantes desarrollaron buena respuesta pero 8 ya sufrieron recaída. De los 5 pacientes con genotipo

1a, 2 han recibido tratamiento y ambos ya sufrieron recaída; el paciente con virus genotipo 3a recibió tratamiento, tuvo buena respuesta y no ha sufrido recaída; los 11 pacientes restantes que han recibido tratamiento portan genotipo 1b, en dos de ellos la respuesta fue fallida, tres cursan con buena respuesta y no han recaído, los seis restantes desarrollaron buena respuesta para después recaer. En los pacientes con genotipo 1a que no han recibido tratamiento, el promedio del resultado de Fibrotest es 0.59 y de Actitest es 0.32, y los que sí lo han recibido es Fibrotest de 0.73 y Actitest de 0.68; los del genotipo 1b sin tratamiento el promedio de Fibrotest es 0.62 y Actitest 0.35, mientras que los que han recibido tratamiento es Fibrotest 0.66 y Actitest 0.37. Los 2 pacientes que recibieron tratamiento y su respuesta fue fallida tienen en promedio Fibrotest 0.14 y Actitest de 0.10; los que recibieron tratamiento, tuvieron buena respuesta y recayeron tienen Fibrotest 0.53 y Actitest 0.33; finalmente los que tras el tratamiento ganaron buena respuesta y no han recaído tienen Fibrotest 0.67 y Actitest 0.28.

Usando la fórmula de correlación de "r" de Pearson entre Fibrotest contra biomarcadores y carga viral se obtuvieron coeficientes de correlación entre los factores evaluados, siendo siempre un factor A contra solamente un factor B cada vez.

En la siguiente tabla se muestran los coeficientes de correlación entre las diferentes variables:

Factor 1	Factor 2	Correlación
Carga viral	Fibrosis	0.222
Carga viral	Actividad necrótica	0.372
Carga viral	Leucocitos	0.166
Carga viral	Plaquetas	0.077
Carga viral	Alfafetoproteína	0.178
Carga viral	Albúmina	-0.025
Carga viral	TP	0.032
Carga viral	BT	-0.009
Carga viral	TGO	0.158
Carga viral	TGP	0.184
Carga viral	Glucosa	-0.161
Carga viral	TAG	-0.146
Carga viral	Colesterol	-0.289
Carga viral	GGT	0.029
Fibrosis	BT	0.383
Fibrosis	TGO	0.199
Fibrosis	TGP	-0.098
Fibrosis	Actividad necrótica	0.347
Fibrosis	Glc	-0.045
Fibrosis	TAG	-0.245
Fibrosis	Colesterol	-0.454
Fibrosis	Leucocitos	-0.050
Fibrosis	Plaquetas	-0.212
Fibrosis	Alfafetoproteína	0.272
Fibrosis	Albúmina	-0.284
Fibrosis	TP	0.325
Fibrosis	GGT	0.110
Actividad necrótica	BT	-0.020
Actividad necrótica	TGP	0.822
Actividad necrótica	TGO	0.764
Actividad necrótica	Glc	-0.108
Actividad necrótica	TAG	0.049
Actividad necrótica	Colesterol	0.024
Actividad necrótica	Leucocitos	0.146
Actividad necrótica	Plaquetas	0.172
Actividad necrótica	Alfafetoproteína	0.238
Actividad necrótica	Albúmina	0.106
Actividad necrótica	TP	-0.095
Actividad necrótica	GGT	0.058

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Toda vez que los médicos nos encontramos con un paciente con datos de hepatopatía, generalmente la primera apreciación es clínica, misma que difícilmente sirve como una herramienta objetiva para determinar cuantitativamente el grado de daño hepático ya que ello es lo que determina la conducta terapéutica a seguir. Existen biomarcadores de la función y daño hepáticos ya descritos. Un buen ejemplo es el nivel de plaquetas; en teoría, cuando el daño hepático y, consecuentemente la fibrosis, son mayores, habrá mayor secuestro esplénico y destrucción plaquetaria, por lo que las plaquetas podrían ser un parámetro objetivo del grado de fibrosis.

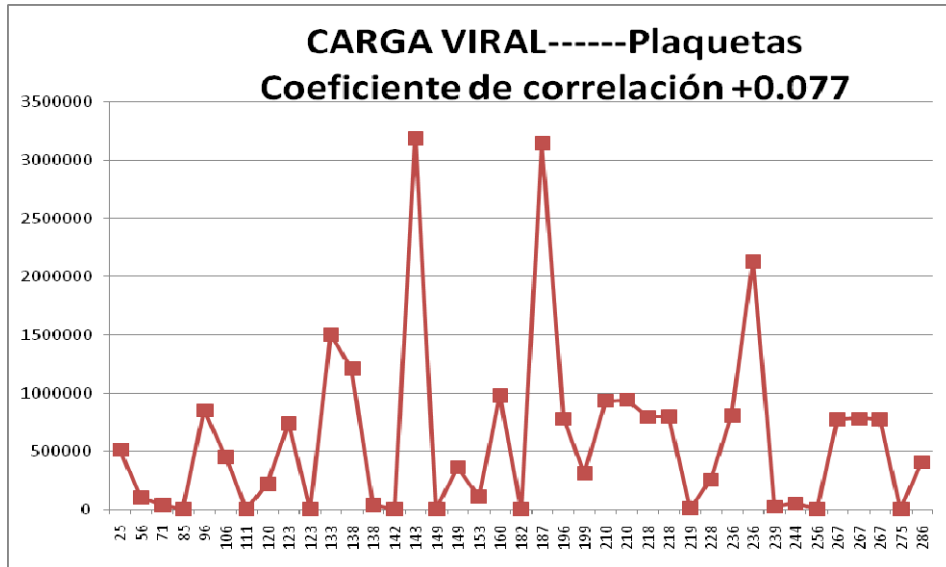
En este estudio se empleó un parámetro equiparable a la biopsia de hígado que se correlacionó con biomarcadores hepáticos y carga viral de hepatitis C.

De acuerdo a la correlación usada ( $r$  de Pearson), los valores de utilidad estadística en este caso y para este estudio serán:

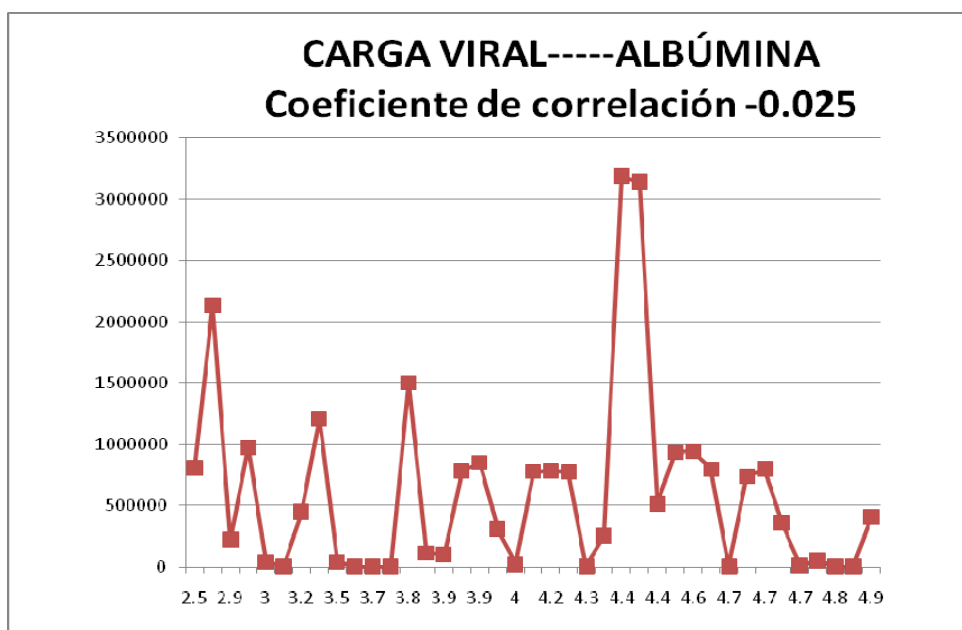
- a) Correlación directa (+1).
- b) Correlación indirecta (-1).
- c) No hay correlación (cero).
- d) Correlación inexistente (lejano a cero y a la unidad).

Las correlaciones útiles se muestran en las siguientes gráficas:

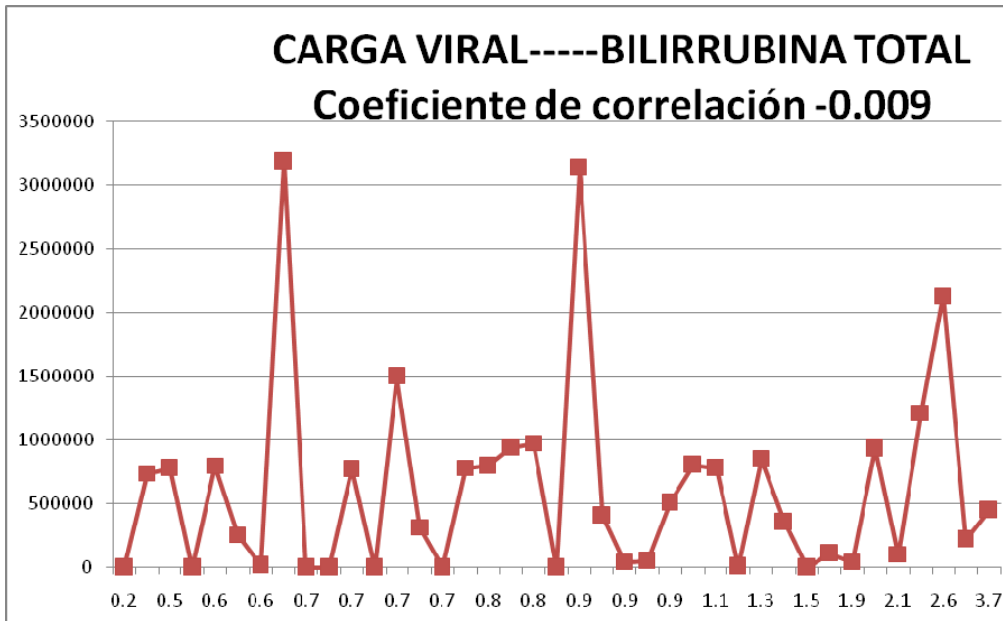




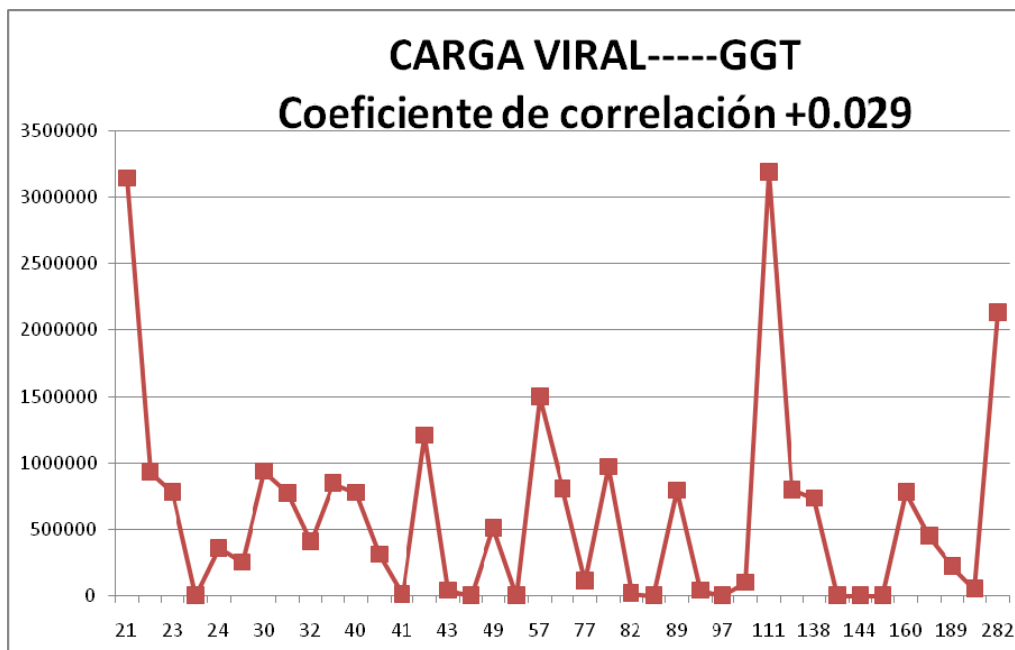
Eje X: recuento plaquetario; eje Y: carga viral de hepatitis C. El coeficiente de correlación tiende a cero, la gráfica se comporta de manera dispersa, no hay correlación entre los factores.



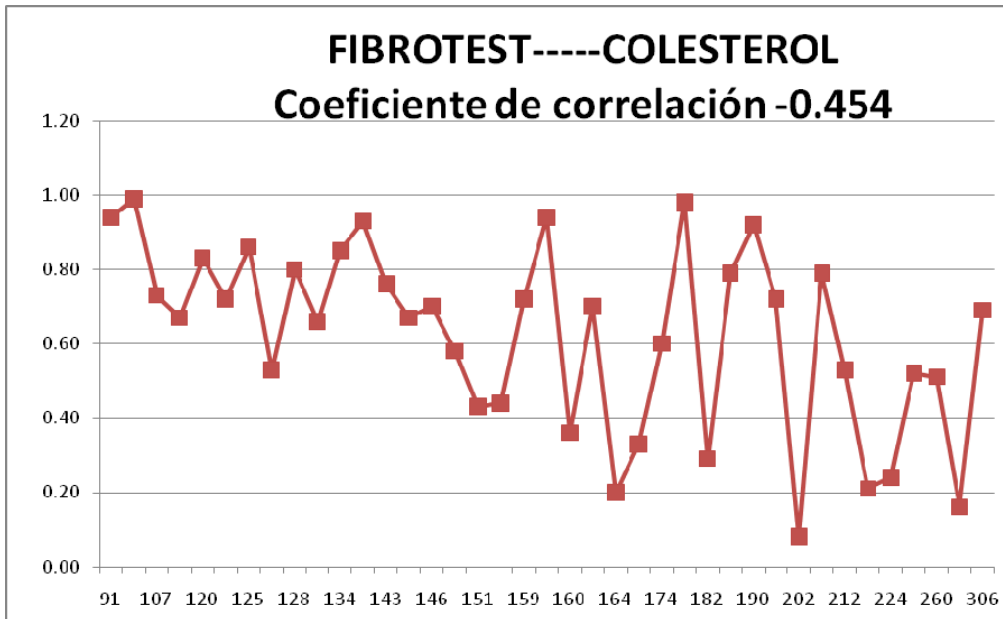
Eje X: albúmina; eje Y: carga viral de hepatitis C. Correlación negativa pero tendiente a cero, gráfica dispersa, no hay correlación entre los factores.



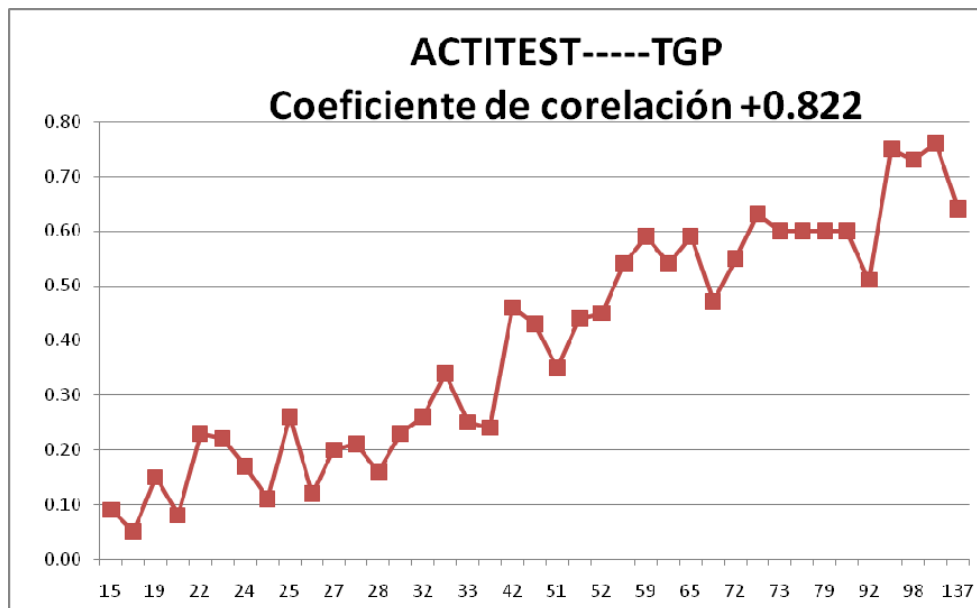
Eje X: bilirrubina total; eje Y: carga viral. El coeficiente de correlación es negativo pero tiende a cero, la gráfica es dispersa, no hay correlación entre los factores.



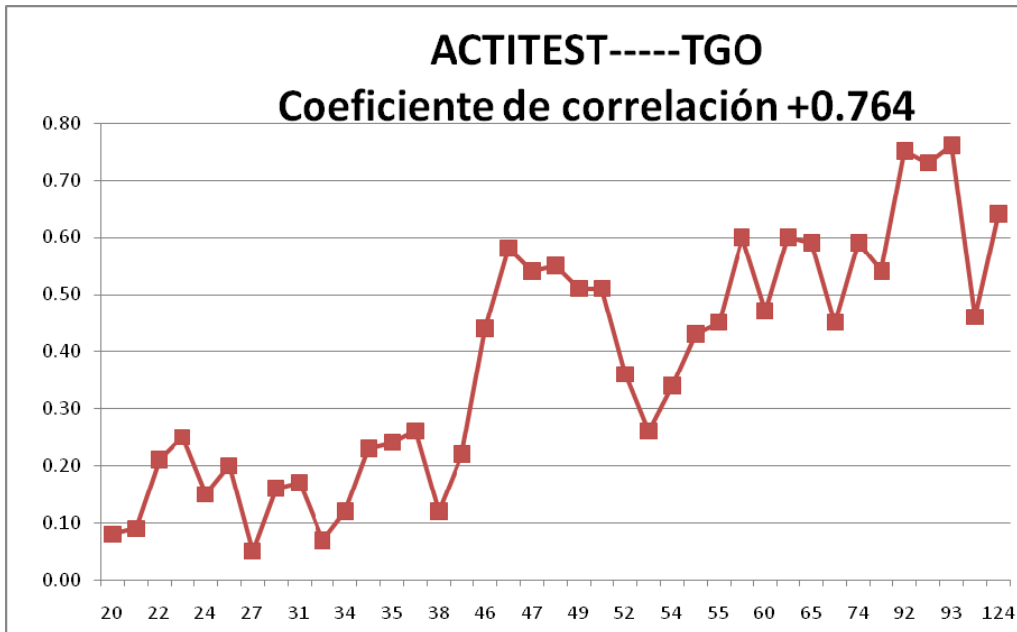
Eje X: GGT; eje Y: carga viral. El coeficiente de correlación tiende a cero, la gráfica es dispersa, no hay correlación entre los factores.



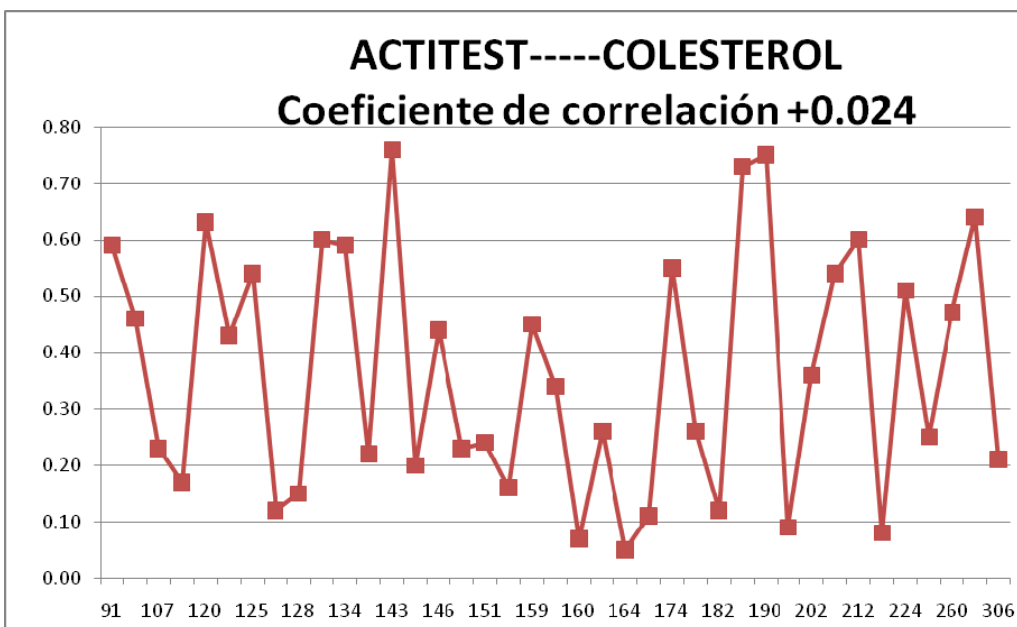
Eje X: colesterol; eje Y: fibrotest. El coeficiente de correlación no tiende a cero ni a la unidad, no existe correlación entre los factores.



Eje X: TGP; eje Y: actitest. El coeficiente tiende a +1, la gráfica se comporta de manera lineal, a mayor nivel de TGP, mayor valor de Actitest, la correlación es directa.



Eje X: TGO; eje Y: Actitest. El coeficiente tiende a +1, la gráfica se comporta de manera lineal, a mayor nivel de TGO, mayor valor de Actitest, la correlación es directa.



Eje X: colesterol; eje Y: Actitest. El coeficiente de correlación tiende a cero, la gráfica es dispersa, no hay correlación entre los factores.

La utilidad que se le puede dar a este estudio se engloba en los siguientes puntos:

- a. Corroborar las correlaciones ya descritas en la bibliografía en hepatitis C crónica entre biomarcadores de daño hepático y la fibrosis que ya presenta el hígado y la actividad necrótica viral.
- b. Corroborar la frecuencia, virulencia y refracteriedad al tratamiento del genotipo 1b del virus de hepatitis C.
- c. Integrar más información y datos objetivos al detectar un paciente con datos clínicos de hepatopatía antes de obtener una biopsia hepática o cuando ésta no es posible.
- d. Conocer la correlación entre los biomarcadores y el daño hepático propiamente dicho.
- e. Complementar el algoritmo de abordaje de estudio de hepatopatía.
- f. Mejorar los criterios de inicio de tratamiento de hepatitis C crónica en pacientes con y sin biopsia hepática.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en esta investigación podemos afirmar los siguientes puntos:

1. El recuento plaquetario no es útil para inferir el grado de daño hepático por virus C, sin embargo está relacionado a carga viral elevada.
2. El aumento de transaminasas traduce tanto fibrosis hepática como actividad necrótica en pacientes con virus de hepatitis C.
3. Se corrobora la frecuencia del genotipo 1b de hepatitis C en los derechohabientes de PEMEX y del Sanatorio Durango, lo cual corresponde a la frecuencia de dicho genotipo en México y que presenta una alta tasa tanto de falla como de recaída tras aplicar el tratamiento.
4. No se encontró correlación entre el grado de fibrosis hepática y bilirrubina total, actividad necrótica viral, tiempos de coagulación ni alfafetoproteína.
5. No se encontró relación entre la carga viral de virus de hepatitis C con la fibrosis hepática ni actividad necrótica viral.

# **ANEXOS**

## ANEXO 1A

Tabla de concentrado de información de los pacientes (primera parte)

Paciente	Edad	Sexo	Fecha dx hep C	Transfusión	Años de evolución	Genotipo	Carga viral	Fecha	Tx (fecha)	Resultado	Fibro	Acti
1	44	F	2008	1995	14	1b	3190000	mar-09	2005, 2007	Fallidos	0.60	0.55
2	46	F	2008	1985	24	3a	49	mar-09	2008	Bueno	0.36	0.07
3	50	M	2006	1970	39	1b	933000	ago-08	2007	Neg 12sem, reac 24sem	0.43	0.24
4	62	M	2006	-		1b	795000	mar-09	sep-06	Neg y recajó	0.83	0.63
5	63	F	2007	1977	32	1b	599	jul-08	2008	Buena resp	0.72	0.43
6	60	F	2004	-		1b	777000	feb-09	Revocado		0.70	0.26
7	60	F		-		1b	780000				0.70	0.44
8	67	F		-		1b	1000				0.72	0.45
9	48	F	2004	1980	29	1a	736000	jul-08	2005	Recaída	0.53	0.60
10	69	M		-		1b	800000				0.86	0.54
11	65	F		-		1b	940000				0.44	0.16
12	65	F		-		1b	775000				0.67	0.17
13	44	F	-	1995	14	1b	599	2008	2003	Neg y recaída	0.21	0.08
14	75	M	2005	-		1a	974000	oct-08	2008	Buena y recaída	0.92	0.75
15	64	F	2004	1969	40	1b	49	mar-09	2008, seg	Negativizó y recaída	0.67	0.20
16	45	F	1997	1968	41	1b	1210000	2006	ExtraPEMEX	Fallido	0.94	0.59
17	69	M	2008	1966	43	1b	3140000	nov-08	2006	Recaída	0.66	0.60
18	51	M				1b	805000				0.79	0.73
19	82	F	2003	T		1a	409199	jun-09	En valoración		0.76	0.76
20	67	F	2006	T		1b	39500	nov-07	2008	Buena	0.94	0.34
21	77	F				1b	450000				0.99	0.46
22	59	M				1b	220000				0.98	0.26
23	57	F				1b	1500000				0.85	0.59
24	64	M				1b	360000				0.72	0.09
25	60	F				1b	2130000				0.73	0.23
26	57	F				1b	50800				0.51	0.47
27	61	M				1b	310000				0.24	0.51
28	64	F				1b	599				0.53	0.12
29	71	M	2006	-		1b	512000	2008	2006	Buena resp	0.52	0.25
30	53	M	2003			1b	10200	2008	2003	Recaída	0.69	0.21
31	54	F				1a	253000				0.20	0.05
32	63	F				1b	40000				0.93	0.22
33	57	F				1a	110000				0.80	0.15
34	55	F				1b	100000				0.29	0.12
35	61	F				1b	780000				0.58	0.23
36	40	F				1b	20000				0.08	0.36
37	53	F				1b	49				0.33	0.11
38	55	M				1b	850000				0.79	0.54
39	55	F				1b	49				0.16	0.64



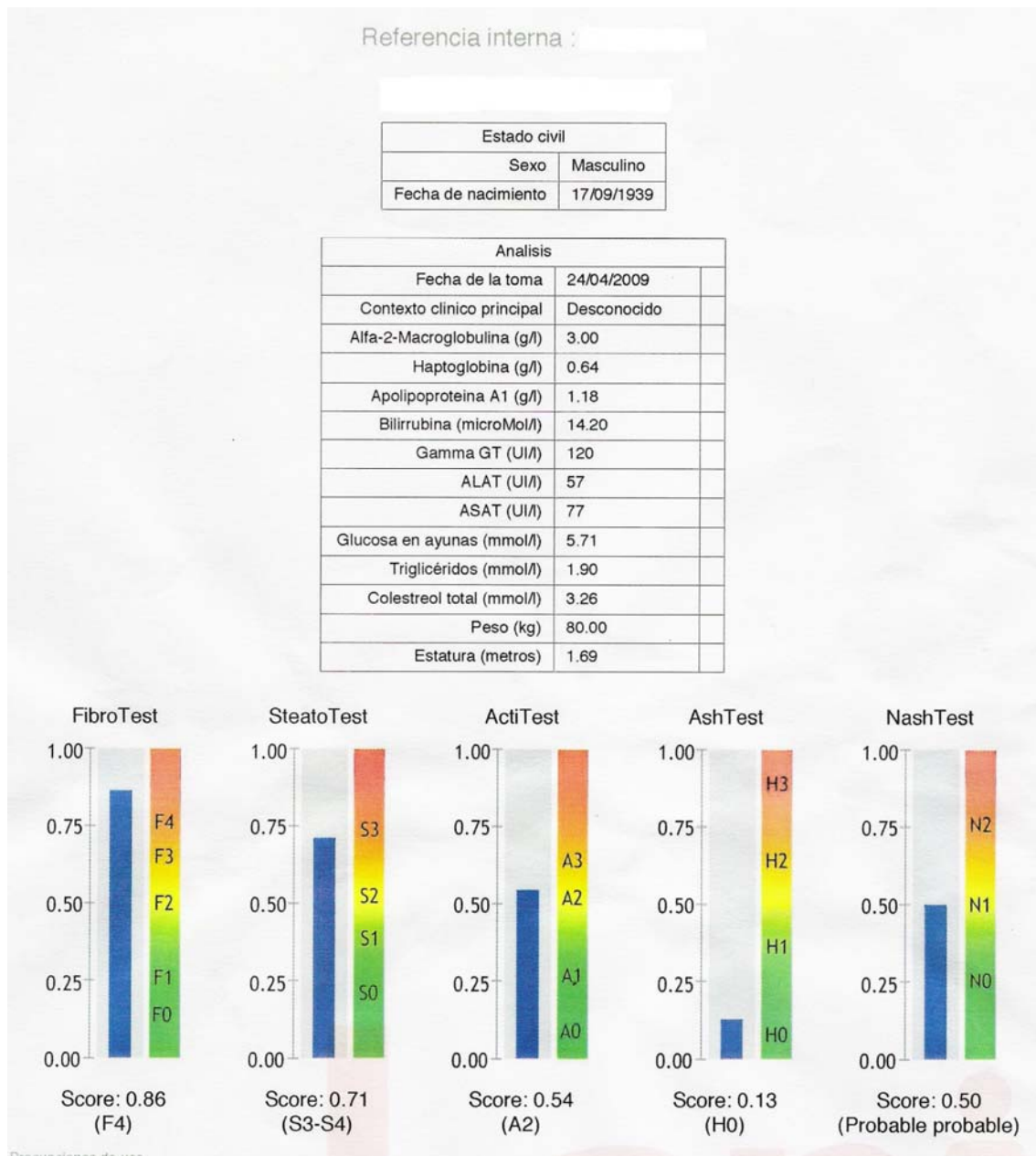
## Anexo 1B

Tabla de concentrado de información de los pacientes (segunda parte)

alfa 2 macro (g/L)	Hapto (g/L)	ApoA1 (g/L)	BT (mg/dL)	Gamma (U/L)	ALT/TGP (U/L)	AST/TGO (U/L)	Glc (mg/dL)	TAG (mmol/L)	Colect (mmol/L)	Leuc	Neut	Hemoglobina	Plaquetas	Alfafetoproteína	Albúmina	TP (Px / testigo)	Paciente
3	1	1.16	0.7	111	72	48	94	204	174	7.6	3.5	16	143	2.8	4.4	12.80	1
3	1	1.12	0.2	139	73	32	251	200	160	5.5	3	13	111	6.1	4.3	13.10	2
1.42	0.98	1.05	2	22	38	35	85	102	151	6.3	3.8	16	210	2.1	4.6	14.5	3
4	1	1.15	0.6	89	72	47	98	123	120	6.2	3.4	16	218	2.7	4.7	12.2	4
3	1	1.07	0.7	85	50	55	103	100	125	8.2	6.1	9.6	142	5.1	3.7	14.4	5
4	1	1.4	0.8	40	32	38	103	210	163	6.9	3.9	16	267	8.3	4.2	12.9	6
3.56	0.54	1.43	1.1	23	52	46	91	95	146	6.9	3.9	16	267	8.3	4.2	12.9	7
3.59	0.82	1.59	0.7	97	52	55	84	113	159	3.2	1.4	11	149	3.4	4.7	14.5	8
3	1	1.55	0.5	138	87	55	91	158	212	5.2	3.5	15	123	11	4.7	12.9	9
3	0.64	1.18	0.8	120	57	77	103	168	125	6.2	3.4	16	218	2.7	4.7	12.2	10
2.37	1.09	1.37	0.8	30	28	29	97	70	152	6.3	3.8	16	210	2.1	4.6	14.5	11
2.09	0.22	1.12	0.7	30	24	31	111	81	113	6.9	3.9	16	267	8.3	4.2	12.9	12
2	1	1.37	0.7	23	22	20	89	125	215	2.9	1.3	11	256	2.2	3.6	12.7	13
4.75	0.84	1.2	0.8	81	93	92	133	226	190	5	2.8	19	160	3	3	12.9	14
2.76	1.24	1.18	0.8	145	27	27	87	103	144	2.5	1	12	182	3.1	4.9	13	15
2.99	0.07	0.97	2.4	42	59	65	91	114	91	6.6	4.6	14	138	137	3.5	14.3	16
2.26	0.62	1.11	0.9	21	79	62	107	77	134	4.7	2.2	16	187	2.7	4.4	14.4	17
276	18.7	132	1.04	66	98	92	84	120	185	4.6	2.3	9	236	5.6	2.5	17.5	18
2.99	1.13	1.46	0.9	32	113	93	103	76	143	4.2	2.1	12	286	1	4.9	12.7	19
1.97	0.07	0.76	0.9	89	32	54	112	105	159	1.5	0.7	9.6	71	8.7	3	13.4	20
1.62	0.35	0.24	9.7	161	42	94	144	106	107	6.7	4.7	9.9	106	4.7	3.2	20	21
1.92	0.07	0.96	3.9	189	25	53	153	135	177	5.9	2.7	12	120	4	2.9	17.7	22
2.04	0.07	0.82	0.7	57	65	74	83	64	134	3.5	2.1	13	133	46	3.8	14.3	23
2.45	0.44	1.45	1.5	24	15	20	93	105	201	3.2	1.4	11	149	3.4	4.7	14.5	24
0.89	0.48	0.6	2.6	282	28	67	107	90	107	4.6	2.3	9	236	5.6	2.5	17.5	25
1.58	0.69	1.32	0.9	213	65	60	92	86	260	4.3	2.7	14	244	4.2	4.8	10.5	26
1.12	0.79	1.25	0.7	40	92	49	118	142	224	5.3	2.8	15	199	3.1	4	13	27
0.89	0.89	0.43	1.5	47	51	38	182	108	125	4.8	3	9.9	85	3.8	3	19.4	28
3	2	1.52	0.9	49	33	24	130	126	245	8.7	6	16	25	3.5	4.4	12.7	29
3	1	1.34	1.3	41	27	22	92	489	306	5.3	2.3	16	219	2.3	4.7	13.4	30
2.28	1.88	1.41	0.6	26	17	27	87	94	164	3.6	1.3	12	228	4.1	4.3	12.3	31
2.67	0.1	1.29	1.9	43	23	44	98	71	134	6.6	4.6	14	138	3.5	3.5	15.2	32
2.85	0.42	1.37	1.6	77	19	24	94	115	128	5	2.8	14	153	3	3.9	16	33
2	0.23	1.42	2.1	100	26	34	109	112	182	3.6	2.3	13	56	1.6	3.9	15.8	34
1.78	0.58	0.97	0.5	160	22	34	96	135	149	6.5	3.7	11	196	1.6	3.9	14.5	35
2	2	1.04	0.6	82	73	52	73	363	202	8.3	4.1	15	239	3	4	13	36
2	1.17	1.31	0.7	53	24	49	70	103	166	5.1	1.9	15	123	6.4	3.7	12.5	37
4	1	1.38	1.3	38	60	47	111	114	205	6.4	3.1	17	96	3	3.9	16	38
1	1.13	1.26	0.5	144	137	124	166	289	280	7.1	3.3	14	275	3	4.8	14	39

## ANEXO 2

Formato de reporte de Fibromax (que incluye Fibrotest y Actitest).



## Bibliografía

### Artículos

1. World Health Organization. Weekly epidemiological record 1999. Acceso en 2009.
2. Lavanchy D, et al. Worldwide prevalence and prevention of hepatitis C. San Diego California Academic Press. 185-202. 2000.
3. Terrés-speziale AM, et al. Hepatitis C. Historia natural y estado actual de su manejo. Rev Mex Patol Clin, vol. 50, núm. 4, pp 179-189. 2003.
4. Lauer GM, et al. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med, vol. 345, no. 1. 2001.
5. Management of hepatitis C. SIGN Guidelines. 2006.
6. León-Buitimea A, et al. Tratamiento de la enfermedad hepática crónica inducida por el virus de la hepatitis C: bases moleculares y celulares. Rev Biomed; 17: 195-211. 2006.
7. Poynard T, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Gastroenterology; 122(5):1303-13. 2002.
8. Albanis E, et al. Diagnosis of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Clin Liver Dis;10(4):821-33. 2006.
9. Cadranel JF, et al. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the group of epidemiology of the french association for the study of the liver. Hepatology; 32(3):477-81. 2000.
10. Rockey DC, et al. Noninvasive measures of liver fibrosis. Hepatology; 43(2 suppl 1): 113-20. 2006.
11. Csendes P, et al. Hígado graso: ultrasonido y correlación anatomopatológica. Revista Chilena de Radiología. Vol. 10 no. 2, 50-52. 2004.
12. Sandrin I, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. Ultrasound Med Biol; 29(12):1705-13. 2003.
13. Rosenberg WM, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. Gastroenterology; 127(6):1704-13. 2004.

14. Imbert-Bismut F, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*. 357:1069-75. 2001.
15. Poynard T, et al. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized trial of peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology*. *Hepatology*, vol. 38, no. 2: 481-492. 2003.
16. Poynard T, et al. Standardization of ROC curve areas for diagnostic evaluation of liver fibrosis markers based on prevalences of fibrosis stages. *Clinical chemistry* 53:9. 2007.
17. Sakugawa H, et al. Clinical usefulness of biochemical markers of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2005;11(2):255-259. 2005.
18. Ratziu V, et al. Valor pronóstico de marcadores bioquímicos en la predicción de la fibrosis hepática en el hígado graso. *BMC Gastroenterology*. 6:6, 2006.
19. Poynard T, et al. Overview of diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis (Fibrotest, HCV Fibrosure) and necrosis (Actitest) in patients with chronic hepatitis C. *Comparative Hepatology*; 3: 8. 2004.
20. Morali A, et al. Fibrotest-Actitest™: the biochemical marker of liver fibrosis—the israeli experience. *IMAJ*. Vol. 9. 2007.
21. Poynard T, et al. Meta-analyses of Fibrotest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterology*. 7:40. 2007.
22. Rossi E, et al. Validation of the Fibrotest biochemical markers score in assessing liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clinical Chemistry* 49:3. 2008.

## Libros

- Dawson B. 2005. Bioestadística médica. Ed. Manual Moderno. 392pp.
- Hernández R. 2007. Metodología de la investigación. Ed. McGraw-Hill. Cuarta ed. 850pp.
- Hulley S. 2007. Diseño de investigaciones clínicas. Ed. Lippincot W & W. Tercera ed. 417pp.
- Greenberg R. 2005. Epidemiología médica. Ed. Manual moderno. Cuarta ed. 236pp.
- Pagano R. 2006. Estadística para las ciencias del comportamiento. Ed. Thomson. Séptima ed. 563pp.