



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN GASTROENTEROLOGÍA

CARACTERIZACIÓN DE LA DISTRIBUCIÓN GENOTÍPICA DEL VIRUS DE
HEPATITIS C EN ADULTOS CON INFECCIÓN CRÓNICA ATENDIDOS EN UN
HOSPITAL DE TERCER NIVEL EN LA CDMX.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN MEDICINA (GASTROENTEROLOGÍA)

PRESENTA:
DR. OSCAR YAMIL HUACUJA SALMÓN

DIRECTOR DE TESIS
DR. JAVIER MANUEL MEZA CARDONA
HOSPITAL ESPAÑOL DE MÉXICO

CIUDAD DE MÉXICO

2019



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.

Dr. Manuel Álvarez Navarro
Jefe del Departamento de Enseñanza e Investigación.
Hospital Español de México

Dr. Mauricio de Ariño Suárez
Jefe del Curso Gastroenterología
Hospital Español de México

Dr. Javier Manuel Meza Cardona
Servicio de Gastroenterología
Asesor de Tesis
Hospital Español de México

Agradecimientos

En primer lugar a los pacientes, que otorgaron en mi su confianza durante toda mi carrera y me permiten a diario aprender de ellos.

A mi mujer Aline que es mi motor y mi motivo para despertarme cada día tratando de ser un mejor médico pero sobre todo un mejor hombre del cual ella siempre se sienta orgullosa.

A mis padres Federico y Elsa que siempre me han apoyado tanto en los mejores como en los peores momentos y que sin su apoyo nunca hubiera logrado esta meta.

A mis hermanos Karim y Laila, cada quien en su campo, son ejemplos claros de que la perseverancia es la guía para lograrlo todo en la vida y que me demuestran diariamente que los obstáculos se enfrentan y se vencen.

A mis maestros y amigos del servicio de Gastroenterología del Hospital Español de México en especial al Dr. Mauricio De Ariño Suárez, Javier Manuel Meza Cardona y Juan Pablo Borbolla Arizti.

A mis colegas desde la facultad Ricardo, Mikey, Murakami, Mancera, Choza y Javier que aunque en distintos caminos siempre logramos encontrarnos y sé que siempre han estado y estarán ahí.

Y al final, no menos importante, a Dios, que aunque en momentos me he alejado de él al recurrir con fé siempre he encontrado las respuestas a esas preguntas y dudas que aparecen; a mi parecer, en todos los que nos dedicamos a la Medicina.

Índice General

1.- Resumen -----	5
2.- Introducción -----	6
3.- Antecedentes -----	8
3.1 Evolución genética y molecular del VHC	
3.1.1 Ciclo de vida y variables genéticas del VHC -----	9
3.2 Transmisión del virus -----	10
3.3 Historia Natural de la enfermedad, tratamiento y la relevancia de genotipos distintos -----	11
3.4 Prevalencia e Importancia de los genotipos en el mundo y en México -----	14
4.- Justificación -----	16
5.- Pregunta de investigación	
6.- Objetivos	
6.1.- Objetivo general	
6.2.- Objetivos específicos	
7.- Hipótesis -----	17
8.- Metodología	
8.1.- Diseño	
8.2.- Población de estudio	
8.3.- Criterios de inclusión	
8.4.- Criterios de exclusión	
8.5.- Criterios de eliminación	
8.6.- Tamaño de muestra	
8.7.- Procedimiento general -----	18
8.8.- Consideraciones éticas	
8.9.- Definición de variables y unidades de medida -----	20
9.- Resultados -----	22
10.- Discusión -----	23
11.- Conclusión -----	24
12.- Bibliografía	

Caracterización de la distribución genotípica del virus de Hepatitis C en adultos con infección crónica atendidos en un hospital de tercer nivel en la CDMX.

1.- Resumen

El virus de la Hepatitis C (VHC) es una de las principales causas de muerte a nivel mundial ya que se asocia de manera directa con cirrosis, cáncer hepatocelular y falla hepática. [1, 2] Se estima que más de 185 millones de personas padecen esta enfermedad a nivel mundial y se espera un crecimiento importante en los próximos 20 años.[2, 3]

A pesar de la gran cantidad de investigación acerca de esta patología y de los avances en su terapéutica, hasta este momento no se ha logrado establecer una aproximación farmacológica ideal para su manejo. Lo anterior es debido, cuando menos en parte, a la alta variabilidad que tiene el VHC.[4] Con base en esto se han desarrollado modelos que puedan pronosticar la presencia de un determinado genotipo en nuestro país. [5] Sin embargo, la información acerca de la distribución genotípica específica en la zona centro del país, particularmente en el la Ciudad de México aún se desconoce.

Con esto en mente, se llevó a cabo un estudio que busca caracterizar la distribución genotípica de una población de 49 pacientes atendidos en el Hospital Español en la Ciudad de México. Se encontró que el genotipo de mayor prevalencia fue el 1a (52.4%), seguido del genotipo 1b (21.4%). El genotipo de menor prevalencia fue el tipo 4 con 2.4% y adicionalmente el 6.9% presentó dos diferentes genotipos.

Los hallazgos de nuestro estudio nos permiten presentar un panorama real del estado actual de nuestra institución y pueden formar parte de la información a utilizarse para el manejo adecuado de nuestros pacientes.

2.-Introducción

El virus de la hepatitis C (VHC) es un miembro de la familia de los *flaviviridae* que fue descrito por primera vez en 1989 por medio de un proceso de clonación molecular sin el uso de métodos biológicos o biofísicos. [6] El genoma de este virus es de tipo ARN monocatenario positivo de aproximadamente 9.6 kb de largo.[7] La relevancia clínica de este virus proviene de su alta tasa de replicación y su relación con la incidencia de cirrosis, cáncer hepatocelular y falla hepática. [1] Lo anterior se acendra con la dificultad de su tratamiento y la incapacidad actual de elaborar una vacuna para su prevención.

Tanto la comparativa inefectividad del tratamiento como la dificultad para el desarrollo de una vacuna pueden ser explicados por las características genéticas del VHC. Como se comentó previamente, el genoma del VHC es de tipo ARN y contiene un solo marco abierto de lectura (ORF por sus siglas en inglés) flanqueado por regiones no traducibles (NTRs). El ORF codifica una poliproteína, estructura protéica que tiene la capacidad de ser dividida en polipéptidos variados.[4, 7] Hasta este momento se reconocen cuando menos 7 genotipos principales del VHC y diversos subtipos.[7] Su importancia y sus características serán abordadas en esta tesis.

Entre uno de los conceptos a resaltar, la efectividad del tratamiento de elección fue altamente variable debido a que no se contaba con terapias que tomaran en cuenta este evento en particular. Durante varios años, el tratamiento de elección para la infección con VHC fue la combinación de IFN α pegilado y RIV, sin embargo, esta aproximación tenía resultados que variaban entre un 20% hasta un 80% para lograr una respuesta virológica sostenida, medida como la no detección de RNA viral en muestras de suero 6 meses posteriores al tratamiento.[8] Se encontró que esto se relacionaba con una gran cantidad de variables pero no se encontraba una relación predecible con exactitud.[7, 9]

Después de extensa investigación y al conocer más acerca del virus se ha logrado un mejor resultado en los tratamientos con el advenimiento de moléculas dirigidas a alguno de los pasos de la replicación del VHC y que se describirán también a lo largo de este texto. [7, 10]

Agregado a lo anterior, las características genotípicas del VHC afectan otras características importantes como los mecanismos de transmisión virales, la historia natural de la enfermedad y los propios mecanismos de modulación génica viral. [7] Con base en todo lo anterior, diversos grupos de estudio han investigado, ya sea de manera directa o indirecta, la distribución genotípica en distintos países.[3] Sin embargo, en nuestro país, la información es aún escasa. Particularmente en hospitales de nuestro estado.

Tomando en cuenta la importancia de este tema para la salud de nuestro país se decidió realizar un estudio que respondiera a la pregunta acerca de la distribución de los genotipos del VHC en el hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca en el Estado de México. La intención de este proyecto no fue exclusivamente el conocimiento teórico sino que se espera que con esta información pueda cumplirse con la meta mundial determinada por la OMS [11] sino que nos ayudará a fomentar una visión epidemiológica tanto en nuestra institución como en todas las del país. A continuación expondremos los conocimientos más actuales acerca de la epidemiología, características virales y los genotipos, su distribución conocida en el mundo actual y el conocimiento de nuestro país hasta este momento.

3.- Antecedentes

3.1.- Evolución genética y molecular del VHC

Para poder analizar adecuadamente las características del VHC debemos observarlo desde el punto de vista genético por lo que se describirá el estado actual de este conocimiento en las siguientes líneas.

Como se comentó previamente se han identificado en el mundo 7 genotipos principales y, cuando menos, 67 subtipos. [12] La diversidad entre genotipos es de aproximadamente 30% y entre subtipos de cuando menos un 15% cada uno con una distribución geográfica característica. [13] En particular los genotipos 1, 2 y 3 se encuentran distribuidos en todo el mundo mientras los genotipos 4 y 5 se encuentran principalmente en Africa, particularmente en Egipto. Por su parte el genotipo 6 es endémico de Asia y, hasta este momento, la distribución específica del genotipo 7 no ha sido descrita.[2, 3]

En cuanto a su tiempo estimado de existencia, el genotipo 2 es reconocido como el que tiene un linaje más antiguo seguido de los genotipos 3, 5 y 6 mientras que el tipo 1 y el 4 son relativamente recientes.[2] En el caso de los subtipos y la heterogenicidad de la incidencia de cada uno de los genotipos principales se especula que pudiera relacionarse con métodos de transmisión como las drogas intravenosas, infecciones nosocomiales o transfusiones sanguíneas. La determinación de la edad se relaciona a que cuando existe una variabilidad genética alta en una zona geográfica relativamente pequeña sugiere una evolución de mayor tiempo.[14]

Por otro lado, la evolución molecular se debe a otros muchos factores entre los que se encuentra la mutación de novo, selección natural o por deriva genética. Como muestra debe entenderse que la mutación genética *in vivo* del VHC se estima sea

de aproximadamente 2.5×10^{-5} por nucleótido por cada replicación.[15] Otro de los mecanismos involucrados podría ser la presión clonal debido a la respuesta inmune de un anfitrión o el tratamiento antiviral. Este mecanismo en particular ha mostrado ser determinante en la acumulación de mutaciones en regiones subgenómicas específica.[16] Es importante recalcar que, a pesar de la gran variabilidad genética en el virus, la cantidad de antígenos que genera el VHC es relativamente restringida. Esto puede deberse a ciertos mecanismos de restricción estructurales.[17]

3.1.1 Ciclo de vida y variables genéticas del VHC

Como ya se comentó, el VHC tiene aproximadamente 9600 nucleótidos que codifican para una poliproteína de más de 3000 aminoácidos. La poliproteína contiene el sitio core que es el que representa las proteínas estructurales E1 y E2 así como proteínas no estructurales p7, NS2, NS3, NS4A y B y NS5A y B. Cuando el virus encuentra lípidos del paciente infectado las proteínas core, E1 y E2 forman una partícula viral que se une al receptor celular del hepatocito (en la mayoría de los casos).[18] Entre los receptores de mayor importancia se encuentran los CD81, Claudina-1 y ocludina entre varios otros.[19] De la unión del VHC a los receptores sigue una endocitosis mediada por su activación y el desnudamiento del contenido viral. Una vez liberado el ARN viral al medio intracelular se forma un complejo de unión con la subunidad ribosomal 40s y se inicia la traducción de la poliproteína.[20]

El segmento NS2 es una serín-proteasa que al unirse con el segmento NS3 forma un complejo que permite la generación de una proteína con terminal NS3. El NS3 contiene un dominio de serín-proteasa al mismo tiempo que uno de helicasa/NTPasa y sus actividades catalíticas dependen de la formación de un complejo con la proteína NS4A.[21] La unión de estos dos segmentos son requeridos para la replicación del VHC y la producción de partículas.[21]

Cuando el complejo de replicación del VHC está activo se asocia con proteínas propias de la célula infectada, principalmente del retículo endoplásmico, formando cúmulos de vesículas uni y bi membranales en la red membranosa que pudiera

tener efectos importantes para escapar de la actividad del sistema inmune. En el momento que esto ocurre, la proteína NS5B actúa como RNA polimerasa e induce la replicación al producir un RNA monocatenario negativo con mala fidelidad y alta tasa de errores.[22] Esto pudiera estar relacionado con la alta variabilidad presentada por el VHC.

3.2 Transmisión del virus

A pesar de que el hecho de que la transmisión del VHC ocurre principalmente por vías parenterales, siendo uno de los factores de riesgo más importantes el uso de drogas por vía intravenosa es un hecho relativamente conocido es importante ahondar un poco en la biología molecular del proceso mismo para entender la importancia de los subtipos génicos.[2] [23]

Desde mediados del siglo pasado se sabe que la sangre es capaz de contener virus que pueden causar hepatitis crónica y que una transfusión sanguínea podía transmitir la enfermedad.[24] Sin embargo, el proceso específico de los mecanismos que permiten la transmisión del virus son mucho más recientes.

En una infección inicial las partículas del HCV son transportadas a través del torrente sanguíneo y entran en contacto con los hepatocitos tras cruzar el endotelio de las sinusoides del hígado. Una vez en contacto con la superficie basolateral de los hepatocitos, el VHC interactúa con factores de agregación y receptores de superficie de estas células, principalmente el proteoglicano del heparán sulfato syndecan-1 o su receptor SRB1.[25]

El resto de los eventos que ocurren a continuación son menos conocidos, aunque se sabe que involucran una serie específica de factores de entrada celular. Se sabe que cuando menos los receptores SRB1 la tetraspanina CD81, las ocludinas y las proteínas de unión claudinas 1 (CLDN1) son indispensables para la transmisión del

virus.[25] La interacción de cada una de estas variables con el virus puede ser modulada por diferencias genéticas. [26]

Al estar dentro del hepatocito se inicia la traducción del ARN con la ayuda de factores celulares. Los NTR contienen un sitio de entrada ribosomal (IRES) que inicia la traducción del genoma del VHC en una poliproteína. Tanto las proteasas virales como algunas de la célula afectada procesan esta poliproteína en 10 proteínas maduras conocidas como: core, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B.[21]

Una vez traducidas, estas proteínas se asocian con la membrana del retículo endoplásmico. En conjunto las proteínas NS3/4, NS4B, NS5A y NS5B constituyen la maquinaria de replicación viral que convierte la cadena positiva del virus en una intermedia negativa. La polimerasa viral dependiente de ARN NS5B es una enzima indispensable para la síntesis de RNA y una vez iniciado el proceso se inducen rearrreglos a las membranas intracelulares para crear un microambiente conocido como “telaraña membranosa”[22]. En esta conformación se encuentran vesículas de doble membrana, túbulos de doble membrana y posteriormente vesículas multimembrana, probablemente como consecuencia del daño celular.[27] Todos estos procesos parecen diferir ligeramente entre genotipos, haciendo que formen parte de la variabilidad que altera la patología en si misma.

3.3 Historia Natural de la enfermedad, tratamiento y la relevancia de genotipos distintos

Una de las características que a la fecha afectan en mayor medida el tratamiento oportuno de esta patología es que un paciente infectado prácticamente no presenta un cuadro clínico característico.[28] En la mayoría de los casos se presentan cuadros similares a un proceso gripal siendo una minoría en aquellos en los que se

encuentran datos como ictericia, coluria, anorexia o aversión al cigarro en aquellos pacientes fumadores. [28] Debido a esto, la gran mayoría de los casos se detectan en pacientes en quienes el cuadro viral ha progresado a hepatitis crónica que se caracteriza por una elevación de aminotransferasas séricas y que puede terminar causando fibrosis y cirrosis hepática.[28] Una vez diagnosticada la infección y considerándose probable el paciente diagnosticado desarrolle hepatitis crónica, el paso siguiente es necesariamente la elección de un tratamiento adecuado. Desgraciadamente, el tiempo en el que pueda progresar la enfermedad es altamente variable ya que algunos pacientes pueden presentar viremia por varios meses antes de detectar la enfermedad. Es importante recalcar que este hecho también puede ser modificado por los subtipos genéticos del VHC como se explicará en las siguientes líneas.

Desde la aceptación de una nomenclatura única para el VHC se ha intentado encontrar una correlación entre los distintos subtipos y características clínicas específicas. Por ejemplo, en el caso de pacientes pediátricos infectados con VHC, se encuentra una relación directa con la presencia del genotipo 1 y la historia de malignidad y el uso de inmunosupresores.[29] Por otra parte se ha encontrado relación entre la incidencia de esteatosis hepática y el genotipo 3a que no depende de la carga viral.[30] De hecho, este genotipo también ha mostrado estar asociado con una fibrosis acelerada.[31]

Otro de los conceptos que se ha modulado desde el descubrimiento de los distintos genotipos del VHC ha sido el tratamiento farmacológico. Durante los primeros años posteriores al descubrimiento del VHC el tratamiento de elección fue el uso de interferón- α recombinante.[32] Esta aproximación tuvo efectos excelentes disminuyendo los niveles de aminotransferasas, sin embargo, recientemente se ha descubierto que esa terapia solo mostraba una respuesta virológica sostenida (RVS definida como ARN de VHC indetectable 24 semanas posteriores a la finalización de un tratamiento).[33] Por otro lado, la rivavirina (RIV) es un nucleósido con actividad diversos virus que mostró un efecto despreciable cuando fue inicialmente

propuesto como monoterapia ya que no mostraba una RVS significativa.[34] Sin embargo, cuando se administra en conjunto con IFN se logra un efecto sinérgico aumentando hasta el doble la RVS comparado con IFN.[35] Posteriormente se intercambi6 el IFN por interfer6n α pegilado (IFNP) lo que mejoraba las características farmacocinéticas del interfer6n.[36]

La importancia de los genotipos estriba particularmente en este 6mbito ya que a pesar de las mejoras importantes en el tratamiento la RVS difiere de manera muy importante entre grupos de pacientes. Uno de los predictores m6s importantes para esta variaci6n es el genotipo del VHC. Por ejemplo, el tratamiento de IFNP/RIV por 48 semanas resulta en una RVS adecuada en el 40 al 50% de los pacientes tratados con el genotipo 1 del VHC, en los pacientes con genotipo 2 o 3 se logra una erradicaci6n en entre el 70 y 90% de los pacientes.[37] Del mismo modo, otro factor que pareciera haber afectado es el genotipo propio del sujeto infectado. Se ha encontrado una relaci6n entre el gen IL28B y el genotipo de VHC 1 con la tasa de respuesta al tratamiento. Cuando se encuentra un IL28B favorable es m6s probable una respuesta correcta al tratamiento con IFNP/RIV.[38] Esta correlaci6n permanece a pesar de la introducci6n de los nuevos agentes antivirales directos (AAD) cuyo blanco terap6utico es espec6fico de funciones virales esenciales. Por ejemplo, el uso de los inhibidores de la funci6n proteasa del complejo NS3-NS4 (telaprevir y boceprevir) fueron una mejora notable en el tratamiento de pacientes con genotipo 1 pero no tuvieron un efecto similar en los genotipos 2 y 3.[39]

3.4 Prevalencia e Importancia de los genotipos en el mundo y en México

Como se comentó previamente, el tipo y la distribución de las mutaciones del genoma del VHC es resultado de un balance entre procesos externos e internos. Desde un punto de vista teórico, la proteína NS5B podría inducir mutaciones aleatorias en distintas posiciones del genoma. Sin embargo, es reconocido que solo ciertas regiones del mismo son aquellas que sufren esta mutación, por ejemplo las regiones hipervariables del gen E2 y del dominio V3 de la proteína NS5A mientras que otras regiones pueden ser altamente conservadas.[40] Evidentemente tanto los factores externos (características virales y medioambientales) como los internos (genéticos e inmunológicos) son altamente variables a lo largo del mundo por lo que el estudio específico de las variables locales es importante.

Considerando la importancia que tienen las diferencias genotípicas que se han comentado previamente tanto en la progresión clínica como en la elección del tratamiento, el conocer la distribución geográfica de estos subtipos ha adquirido una importancia mayúscula a lo largo de los años. Con esto en mente, distintos grupos han descrito las incidencias conocidas en distintos países de diversos modos. Por ejemplo, un grupo liderado por Gower, Estes [3] en el 2014 realizó una revisión de la literatura disponible acerca del tema en las variables de prevalencia del VHC, la respuesta al ARN del VHC, el número de infecciones y distribución de genotipos. Sin embargo, los autores comentan que debido a la falta de información en algunos lugares del mundo (incluyendo a México) se utilizaron extrapolaciones matemáticas para establecer su probable incidencia y características genotípicas.

De hecho, la primera aproximación a este modelo se dio por parte de un grupo multidisciplinario de América Latina liderado por un equipo en México. Los resultados arrojan una prevalencia dominante del VHC tipo 1 en un estimado de 1.4% de adultos siendo un 95% considerando la población total. Reportan que en un estudio con 8802 pacientes el 70.36% de los pacientes presentaron un VHC tipo 1 teniendo un 21.77% para tipo 2, un 7.18% para tipo tres y solo un 0.3% para el tipo 4. Refieren

también que cada año se diagnostican entre 7000 y 9000 individuos nuevos solo a través de los bancos de sangre por lo que aproximadamente el 14% de los casos totales entre 1994 y 2007 habrían sido diagnosticados en un hospital o por parte de un médico.[5]

Por otro lado, recientes estudios han mostrado la importancia de estudiar genéticamente a nuestra población de manera intencionada. Un estudio realizado en pacientes mexicanos mostró una fuerte relación entre una RVS y la presencia del polimorfismo rs12979860 del gen IL28B cuya frecuencia fue de 24% para CC, 41% para CT y 35% para TT. En este estudio, la presencia del alelo CC fue el mejor factor predictivo para la RVS.[41] Esto pone en el centro de la atención el análisis de vida real de esta población. Otro estudio realizado en México mostró un aumento en la incidencia de VHC tipo 3 en pacientes jóvenes en el oeste y norte de nuestro país.[42] Sin embargo, hasta este momento, se tiene poca información acerca de las características genóticas del VHC de nuestra área geográfica y en particular de nuestra institución.

4.- Justificación

Considerando la gran importancia que, como hemos expuesto, tiene la infección con el VHC y la poca información que existe en nuestro país acerca del tema, la intención de nuestro estudio fue la de caracterizar la distribución genotípica del VHC en el Hospital Español en la Ciudad de México.

Nuestros resultados podrían, una vez publicados en una revista de impacto internacional, mejorar de manera sustantiva la respuesta al tratamiento de pacientes con este diagnóstico, disminuyendo las comorbilidades y disminuyendo los costos en nuestro sistema de salud.

5.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la distribución de genotipos del virus de la Hepatitis C en adultos atendidos en Hospital Español de México entre enero de 2015 y diciembre 2017?

6.- Objetivos

6.1.- Objetivo general:

Describir la distribución de genotipos del virus de la Hepatitis C en adultos atendidos en el Hospital Español de la ciudad de México en el periodo comprendido entre el 1º de enero 2015 y el 1º de enero de 2018.

6.2.- Objetivos específicos:

- Identificar los casos de adultos infectados con el virus de hepatitis C atendidos durante el periodo comprendido entre el 1º de enero 2015 y el 1º de enero de 2018.
- Caracterizar los genotipos de VHC específicos de cada paciente identificado.
- Estimar la frecuencia de aparición de cada uno de los genotipos del VHC en los pacientes identificados.

7.- Hipótesis

La distribución genotípica de los pacientes captados será similar a la descrita en la literatura mundial.

8.- Metodología

8.1.- Diseño:

Se realizó un estudio descriptivo observacional transversal

8.2.- Población de estudio:

Pacientes atendidos en la consulta externa de gastroenterología del Hospital Español de México durante el periodo comprendido entre el 1 de enero de 2015 y el 1 de enero de 2018

8.3.- Criterios de inclusión:

- Expedientes de pacientes diagnosticados con primoinfección con Hepatitis C en el Hospital Español de México en el periodo comprendido entre el 1º de enero de 2015 y el 1º Enero del 2018.
- Expedientes que presenten caracterización del genotipo viral por medio de RT-PCR

8.4- Criterios de exclusión:

- Co-infección con Hepatitis B

8.5.- Criterios de eliminación:

- Expedientes incompletos

8.6.- Tamaño de muestra:

- Se incluirán la totalidad de casos de Hepatitis C atendidos en el Hospital Español de México durante el periodo comprendido entre el 1 de enero de 2015 al 31 de diciembre de 2017.

8.7.- Procedimiento general

Previo al inicio del proyecto se realizaron sesiones con el grupo de trabajo para estandarizar el instrumento de recolección de datos.

A través del sistema de gestión hospitalaria MEDSYS, se realizó una búsqueda de todos los casos de pacientes positivos al virus de Hepatitis C que fueron atendidos en el Hospital Español de México, durante el periodo comprendido entre el 1 de Enero de 2015 al 31 de Diciembre de 2017

Una vez identificados los expedientes de los casos, se procedió a su revisión para la recolección de variables clínicas y bioquímicas de interés para el estudio.

La información fue capturada en una base de datos en el software Microsoft Excel la cual posteriormente fue exportada al software de análisis estadístico Graph pad Prism 6.0 para su análisis final.

8.7.- Análisis estadístico

Se realizó análisis descriptivo mediante medidas de tendencia central, dispersión, frecuencias y proporciones de acuerdo con el tipo de variable a describir. Se utilizaron métodos gráficos y tabulaciones para resumir los datos. La asociación de riesgo entre las variables de interés se estableció mediante el cálculo de razón de momios para estudios transversales.

Se utilizará un nivel de confianza de 95% y un valor de $p < 0.05$ para establecer la presencia de significancia estadística. Para realizar dichos análisis estadísticos se utilizó el programa estadístico Graph pad Prism 6.0.

8.8.- Consideraciones éticas

De acuerdo a la Ley General de Salud en materia de investigación **en el ARTICULO 17**, el estudio es catalogado como:

Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran:

cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta.

La información proporcionada por los sujetos de estudio para identificarla/o (como su nombre, teléfono y dirección) será guardada de manera confidencial. Únicamente tienen acceso a esta información el equipo de investigadores. Sólo se proporciona esta información si fuera necesario para proteger los derechos o el bienestar del participante (por ejemplo en caso de que el participante llegara a necesitar cuidados de emergencia), o si lo requiere la ley.

Cuando los resultados de este estudio son publicados o presentados en conferencias, no se da información que pudiera revelar la identidad de los participantes. Para proteger la identidad de los participantes les asignaremos un número que utilizaremos para identificar los datos, y usaremos ese número en lugar de los nombres en nuestras bases de datos.

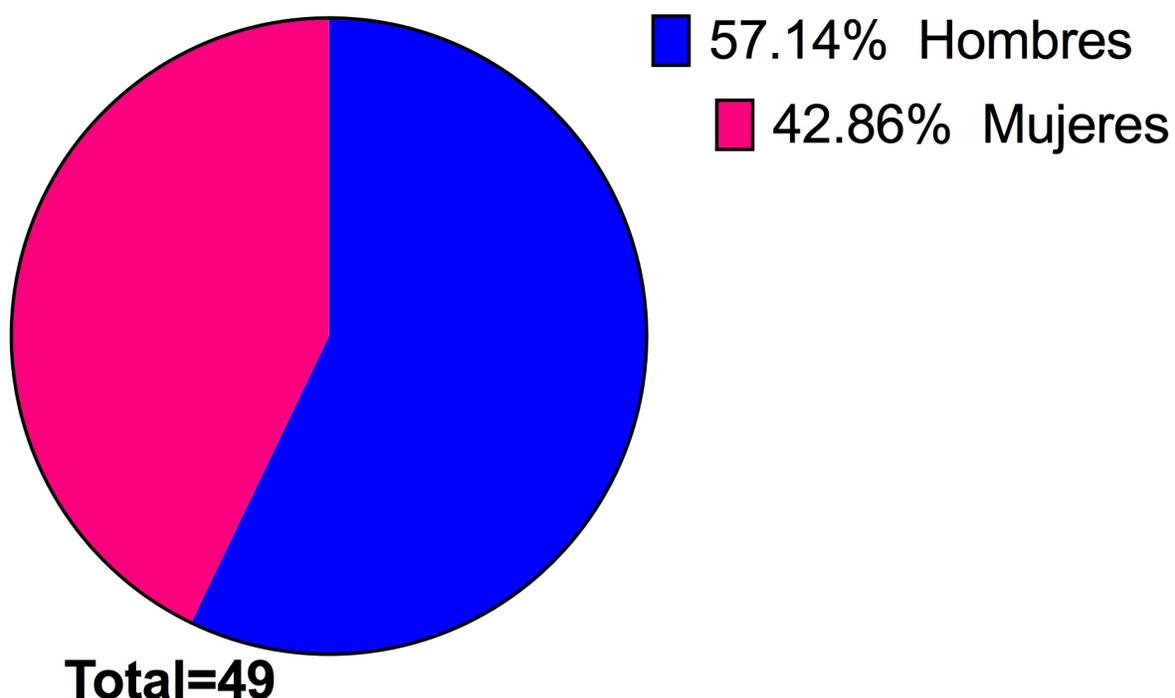
8.9.- Definición de variables y unidades de medida

VARIABLE	TIPO	DEFINICIÓN	INDICADOR
Genotipo del virus de Hepatitis C	Cualitativa Nominal	Se obtiene mediante ELISA y se reporta en 6 distintos genotipos con múltiples subtipos determinados por letras.	Genotipo
Carga viral	Cuantitativa	PCR en tiempo real de tercera generación con medición del RNA. Detecta niveles por arriba de 6 log considerándose positiva con niveles igual ó mayor a 15 UI/ml.	UI/ml
Edad	Cuantitativa	Para fines de este estudio se consideró la edad en años cumplidos de acuerdo a la fecha de nacimiento	Años
Sexo	Cualitativa Nominal	Se refiere a las características biológicas diferenciales que existen entre mujeres y hombres	Femenino/ Masculino
Transfusión sanguínea	Cualitativa dicotómica	Se refiere al antecedente positivo de haber recibido la administración intravenosa de paquetes globulares u otro componente hemáticos	Positivo / negativo
Cirrosis	Cualitativa dicotómica	Se define mediante métodos invasivos y no invasivos en este caso tanto por biopsia como elastografía reportándose de acuerdo a la clasificación de METAVIR como F4.	Presente/ Ausente
Clasificación CHILD	Cualitativa nominal	Escala diseñada para valorar disfunción hepática y es un predictor independiente de mortalidad en pacientes con cirrosis compensada y descompensada. Por definición se clasifica como descompensada a todo paciente que presenta	Se divide en A (5–6 puntos), B (7–9 puntos) y C (10–15 puntos). Pacientes en B y C se consideran descompensados.

		ascitis, sangrado variceal, encefalopatía hepática e ictericia.	
MELD	Cuantitativa discreta	Escala diseñada para valorar mortalidad temprana en pacientes que van ser sometidos a TIPS (corto circuitos porto-sistémicos transyugulares) ó trasplante además de tener una alta concordancia para predecir mortalidad a 3 meses.	El parámetro para ingresar a un paciente a la lista de trasplante hepático es a partir de 15 puntos en la escala de MELD
Co-infección de VIH	Cualitativa dicotómica	Serología positiva para la presencia de Virus de Inmunodeficiencia Humana	Presente / ausente
Comorbilidades	Cualitativa nominal	Presencia de enfermedades concomitantes a la patología de base por la cual se recluta al sujeto	Presente /ausente

9.- Resultados

Se incluyeron un total de 49 sujetos con diagnóstico confirmado de VHC atendidos en el periodo 2015 a 2018. De estos, 29 (58.00%) fueron hombres y 21 (42.00%) fueron mujeres (gráfica 1), con una media de edad de 49.6 ± 15.1 años.



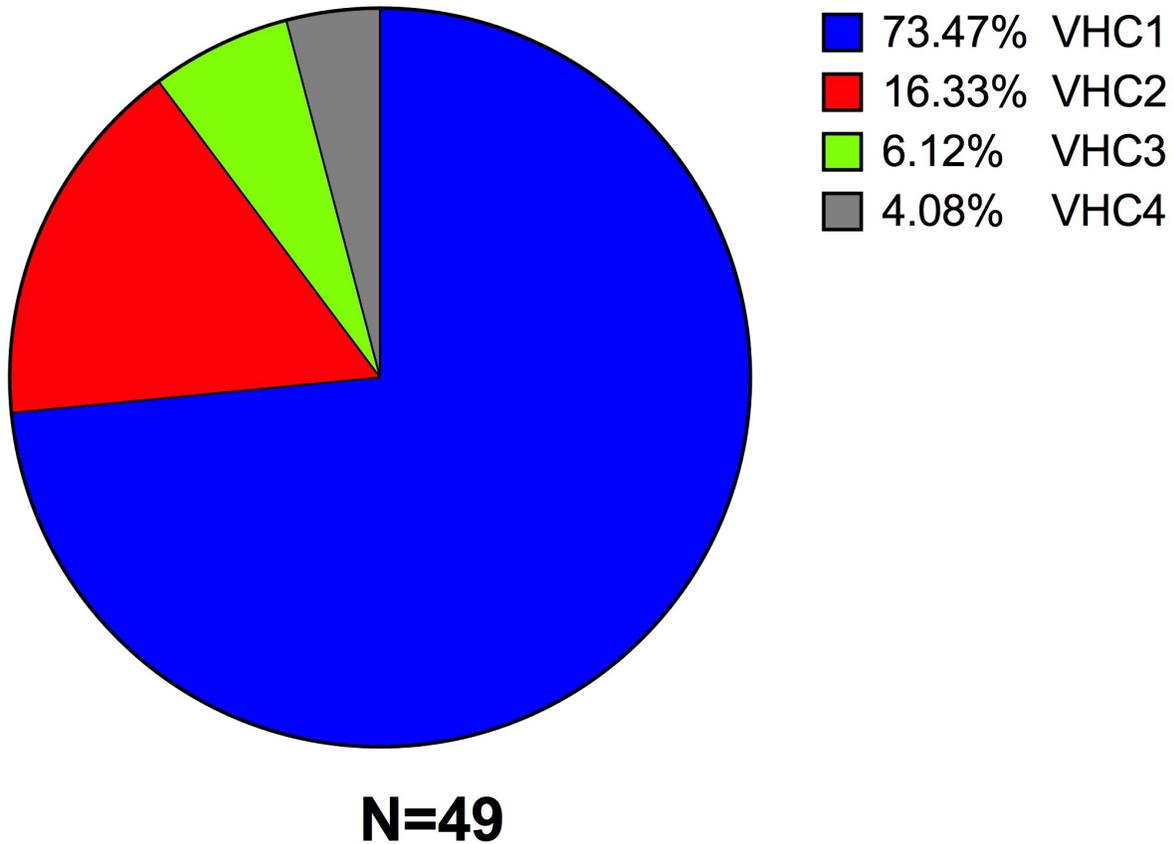
Gráfica 1.- Tamaño de la muestra y distribución de género

Se encontró que en nuestra población de estudio uno de los antecedentes más relevantes fue la transfusión sanguínea ya que el 51.02% de los pacientes había requerido esa intervención, previo al diagnóstico. Por otro lado, se encontró una incidencia de uso de drogas por vía intravenosa en solo el 4.08% (2 pacientes). (tabla 1)

	Frecuencia
n	49
Transfusión sanguínea, n (%)	26 (53.1%)
Diabetes tipo 2, n (%)	7 (14.3%)
Hipertensión arterial, n (%)	8 (16.3%)
Dislipidemia, n (%)	1 (2%)
Insuficiencia Renal, n (%)	1 (2%)
Cardiopatía, n (%)	1 (2%)
Consumo crónico de alcohol, n (%)	3 (6.1%)
Usuario de drogas intravenosas/inhaladas, n (%)	2 (4.1%)
Historia de neoplasias, n (%)	2 (4.1%)

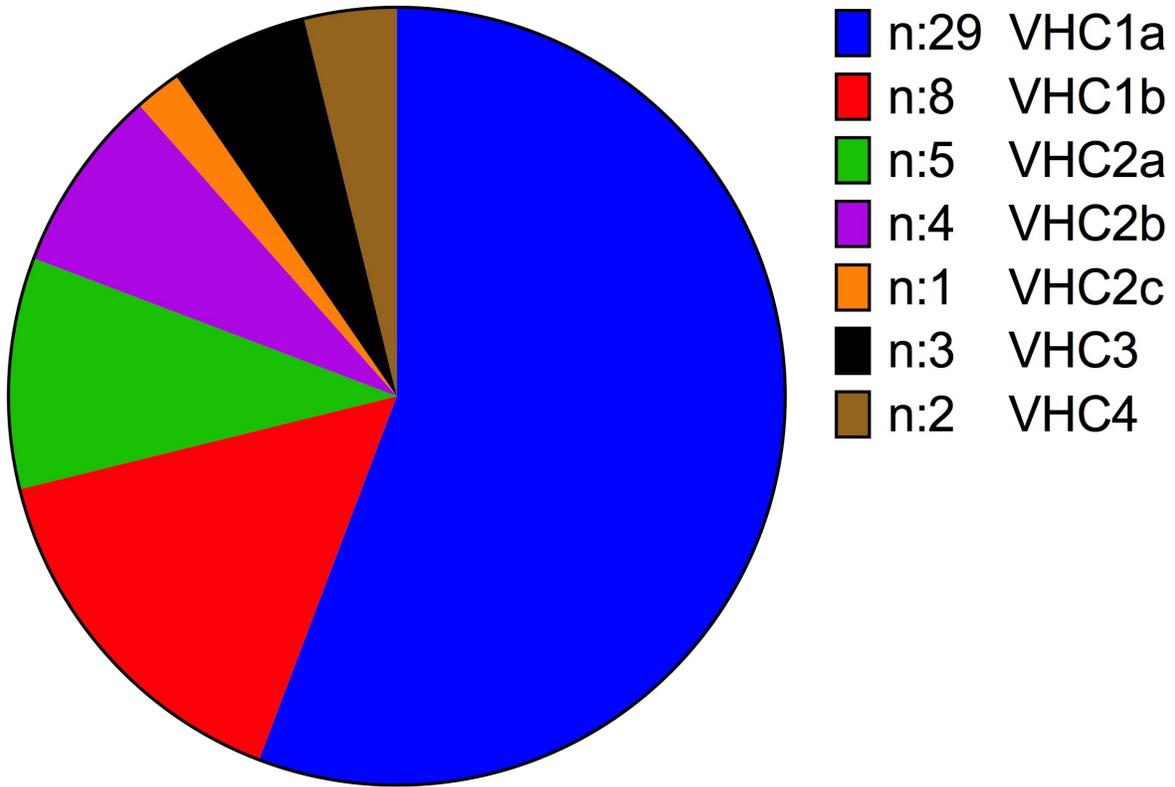
Tabla 1. Antecedentes personales patológicos de los sujetos estudiados (n=49)

Del total de sujetos participantes, en 46 (93.87%) se identificó un único genotipo del VHC. El genotipo más prevalente fue el VHC1 el cual se encontró en un 73.47% de los casos (36 pacientes). El resto tuvo una incidencia menor con un 16.33% para el tipo 2 (8 pacientes), 6.12% para el tipo 3 (3 pacientes) y 4.08% del tipo 4 (2 pacientes). (gráfica 2)



Gráfica 2. Análisis de frecuencias de genotipos identificados en la población estudiada (n=49)

En cuanto a los subgenotipos, el que se identificó en más ocasiones VHC1a en 22 casos (44.89%), seguido del genotipo 1b identificado en 8 pacientes (16.32%). El genotipo de menor prevalencia fue el tipo 4 el cual únicamente se identificó en 2 sujetos (4.08%). (gráfica 3) Adicionalmente, 3 pacientes presentaron dos diferentes genotipos (6.9%). De estos, en un caso se identificaron los genotipos 1a y 2, otro paciente presentó 1a y 4 y en el tercer caso se identificaron los genotipos 2a y 2c.



Gráfica 3. Análisis de frecuencias de genotipos identificados en la población estudiada se incluyen los pacientes con coinfección con distintos genotipos por lo que la n mostrada sobrepasa a la n del estudio.

10.- Discusión

La intención de nuestro estudio fue describir las características genotípicas de una población de pacientes con diagnóstico de VHC en el Hospital Español de México. Con base en lo anterior, nuestra hipótesis inicial consideraba que se iba a encontrar una incidencia idéntica a la reportada en revistas indizadas a nivel mundial, particularmente aquellas que incluyen a México dentro de sus análisis. Sin embargo, nuestros resultados nos brindan un panorama muy superior a las expectativas.

En el mundo actual se estima que hay aproximadamente 115 millones de pacientes infectados con VHC siendo pacientes mayores de 15 años quienes son principalmente los afectados.[3] Por su parte, la incidencia genotípica más comúnmente reportada es para el VHC1 siendo responsable de aproximadamente el 46% de las infecciones mundiales. En nuestro estudio observamos una distribución en este genotipo mucho más elevada. Como comentamos, nuestra incidencia total de VHC1 fue de 73.47% siendo, a nuestro conocimiento, la primera vez que se demuestra esta característica en nuestra población.

Por otra parte, la epidemiología mundial encuentra una mayor incidencia para el genotipo 3 (22%) que para el genotipo 2 o el 4 (13% cada uno) mientras que en nuestro estudio encontramos una superioridad del tipo 2 con 16%. Esta incidencia correlaciona cuando menos en parte con reportes en otros estudios [5], sin embargo en esos mismos estudios se consideraba probable encontrar el genotipo VHC1a en 14.9% de las ocasiones y en nuestra población en el 44% de los casos. Este conocimiento es fundamental ya que obliga al cambio de paradigma en el tratamiento ya que se han encontrado tendencias a una diferencia en la respuesta a la terapia antiviral dependiente del subgenotipo [9, 30]

Nuestro estudio es aparentemente el primero que presenta, en nuestro país, una visión real a las características genotípicas de una cohorte en la vida real. Como se había comentado se han realizado aproximaciones matemáticas previamente [5] que

trataban de proyectar la incidencia genotípica y subgenotípica probable en nuestro país. Otros estudios han mostrado un aumento en un genotipo particular dependiente del uso de drogas intravenosas [42], sin embargo este estudio no muestra las características genotípicas específicas fuera del VHC3.

Considerando nuestros resultados creemos que pueden desarrollarse líneas de investigación nuevas que puedan convertirnos en punta de lanza a nivel latinoamérica. Por ejemplo, el tratamiento antiviral específico es modulado en parte por las características genéticas del paciente. Nuestra población mexicana tiene características farmacogenómicas particulares que han mostrado tener relevancia en la respuesta a fármacos de otro tipo [43]. El tener resultados adecuadamente documentados de los tratamientos prescritos de pacientes diagnosticados con VHC podrían darnos información muy valiosa para nuestro país y para otros de latinoamérica. Por otro lado, las diferencias que encontramos en nuestro estudio nos obligan a continuar la tipificación buscando involucrar a otros centros de salud en el área centro. Esto pudiera complementar las proyecciones matemáticas o refutarlas por completo, modificando directamente nuestra concepción acerca del VHC.

11.- Conclusión

El objetivo de nuestro estudio era mostrar las características genotípicas del VHC de un grupo de pacientes estudiados en el Hospital Español de México.

Los resultados que obtuvimos cumplen con este objetivo y abren un panorama muy amplio para continuar la línea de investigación a profundidad.

12.- Bibliografía

1. Cooke, G., et al., *Viral hepatitis and the Global Burden of Disease: a need to regroup*. Journal of viral hepatitis, 2013. **20**(9): p. 600-601.
2. Petruzzello, A., et al., *Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes*. World journal of gastroenterology, 2016. **22**(34): p. 7824.
3. Gower, E., et al., *Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection*. Journal of hepatology, 2014. **61**(1): p. S45-S57.
4. Zein, N.N., *Clinical significance of hepatitis C virus genotypes*. Clinical microbiology reviews, 2000. **13**(2): p. 223-235.
5. Kershenovich, D., et al., *Trends and projections of hepatitis C virus epidemiology in Latin America*. Liver International, 2011. **31**: p. 18-29.
6. Choo, Q.-L., et al., *Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome*. Science, 1989. **244**(4902): p. 359-362.
7. Preciado, M.V., et al., *Hepatitis C virus molecular evolution: transmission, disease progression and antiviral therapy*. World journal of gastroenterology: WJG, 2014. **20**(43): p. 15992.
8. Zeuzem, S., et al., *Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3*. Journal of hepatology, 2004. **40**(6): p. 993-999.
9. Ge, D., et al., *Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance*. Nature, 2009. **461**(7262): p. 399.
10. Lange, C.M., et al., *Emerging therapies for the treatment of hepatitis C*. EMBO molecular medicine, 2014. **6**(1): p. 4-15.
11. Organization, W.H., *Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030: advocacy brief*. 2016, World Health Organization.
12. Smith, D.B., et al., *Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource*. Hepatology, 2014. **59**(1): p. 318-327.

13. Bukh, J., R.H. Miller, and R.H. Purcell. *Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes*. in *Seminars in liver disease*. 1995. © 1995 by Thieme Medical Publishers, Inc.
14. Jackowiak, P., et al., *Phylogeny and molecular evolution of the hepatitis C virus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 2014. **21**: p. 67-82.
15. Ribeiro, R.M., et al., *Quantifying the diversification of hepatitis C virus (HCV) during primary infection: estimates of the in vivo mutation rate*. *PLoS pathogens*, 2012. **8**(8): p. e1002881.
16. Lohmann, V., et al., *Mutations in hepatitis C virus RNAs conferring cell culture adaptation*. *Journal of virology*, 2001. **75**(3): p. 1437-1449.
17. Penin, F., et al., *Conservation of the conformation and positive charges of hepatitis C virus E2 envelope glycoprotein hypervariable region 1 points to a role in cell attachment*. *Journal of virology*, 2001. **75**(12): p. 5703-5710.
18. Moradpour, D., F. Penin, and C.M. Rice, *Replication of hepatitis C virus*. *Nature reviews microbiology*, 2007. **5**(6): p. 453.
19. Zeisel, M.B., D.J. Felmlee, and T.F. Baumert, *Hepatitis C virus entry*, in *Hepatitis C Virus: From Molecular Virology to Antiviral Therapy*. 2013, Springer. p. 87-112.
20. Niepmann, M., *Hepatitis C virus RNA translation*, in *Hepatitis C Virus: From Molecular Virology to Antiviral Therapy*. 2013, Springer. p. 143-166.
21. Moradpour, D. and F. Penin, *Hepatitis C virus proteins: from structure to function*, in *Hepatitis C virus: from molecular virology to antiviral therapy*. 2013, Springer. p. 113-142.
22. Lohmann, V., *Hepatitis C virus RNA replication*, in *Hepatitis C virus: from molecular virology to antiviral therapy*. 2013, Springer. p. 167-198.
23. Seeger, C. and W.S. Mason, *Molecular biology of hepatitis B virus infection*. *Virology*, 2015. **479**: p. 672-686.
24. MacCallum, F., *Homologous serum hepatitis*. 1946, SAGE Publications.
25. Dubuisson, J. and F.-L. Cosset, *Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle—An update*. *Journal of hepatology*, 2014. **61**(1): p. S3-S13.
26. Prentoe, J. and J. Bukh, *Hypervariable region 1 in envelope protein 2 of hepatitis C virus: A linchpin in neutralizing antibody evasion and viral entry*. *Frontiers in immunology*, 2018. **9**.
27. Hillaire, M.L., E. Décembre, and M. Dreux, *Autophagy: A home remodeler for hepatitis C virus*. *Autophagy, Infection, and the Immune Response*, 2014: p. 101-126.
28. Westbrook, R.H. and G. Dusheiko, *Natural history of hepatitis C*. *Journal of hepatology*, 2014. **61**(1): p. S58-S68.
29. Mania, A., et al., *Clinical picture and liver histology of chronic hepatitis C in children*. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 2012. **20**(2): p. 141-147.
30. Castera, L., et al., *Effect of antiviral treatment on evolution of liver steatosis in patients with chronic hepatitis C: indirect evidence of a role of hepatitis C virus genotype 3 in steatosis*. *Gut*, 2004. **53**(3): p. 420-424.

31. Probst, A., et al., *Role of hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression—a systematic review and meta-analysis*. Journal of viral hepatitis, 2011. **18**(11): p. 745-759.
32. Hoofnagle, J.H., et al., *Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon*. New England Journal of Medicine, 1986. **315**(25): p. 1575-1578.
33. Hoofnagle, A.N. and M.H. Wener, *The fundamental flaws of immunoassays and potential solutions using tandem mass spectrometry*. Journal of immunological methods, 2009. **347**(1-2): p. 3-11.
34. di Bisceglie, A.M., et al., *A pilot study of ribavirin therapy for chronic hepatitis C*. Hepatology, 1992. **16**(3): p. 649-654.
35. McHutchison, J.G., et al., *Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C*. New England Journal of Medicine, 1998. **339**(21): p. 1485-1492.
36. Manns, M.P., et al., *Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial*. The Lancet, 2001. **358**(9286): p. 958-965.
37. Hadziyannis, S.J., et al., *Peginterferon- α 2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose*. Annals of internal medicine, 2004. **140**(5): p. 346-355.
38. Prokunina-Olsson, L., et al., *A variant upstream of IFNL3 (IL28B) creating a new interferon gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus*. Nature genetics, 2013. **45**(2): p. 164.
39. Craxi, A., et al., *European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection*. Journal of hepatology, 2011. **55**.
40. Simmonds, P., *Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus—15 years on*. Journal of General Virology, 2004. **85**(11): p. 3173-3188.
41. Martínez-Gómez, L.E., et al., *IL28B polymorphisms predict the response to chronic hepatitis C virus infection treatment in a Mexican population*. Annals of hepatology, 2012. **11**(6): p. 876-881.
42. Muñoz-Espinosa, L.E., et al., *Increase of drug use and genotype 3 in HCV-infected patients from Central West and Northeast Mexico*. Annals of hepatology, 2015. **14**(5): p. 642-651.
43. Favela-Mendoza, A.F., et al., *Genetic variability among Mexican Mestizo and Amerindian populations based on three ABCB1 polymorphisms*. Molecular biology reports, 2018: p. 1-9.