

Genotipos del virus de la Hepatitis C en pacientes hemofílicos

Genotypes of Hepatitis C virus in hemophilic patients

Olga M. Agramonte Llanes,¹ Licel de los A. Rodríguez Lay,² Susel Sariego Frometa,² Rene A. Rivero Jiménez,¹ Gelquin Luis Mustelier Celsa,¹ Marité Bello Corredor,² Rosa Maria Lam Diaz,¹ Gladys Graña Ayllon¹

¹ Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

² Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: Una de las principales causas del carcinoma hepatocelular y enfermedad hepática crónica es la infección por el virus de la hepatitis C (VHC), que muestra una amplia diversidad molecular a nivel mundial. Dentro de los grupos de riesgo más elevado están los pacientes hemofílicos, los cuales tienen un alto consumo de hemocomponentes.

Objetivos: Determinar la frecuencia de distribución de los genotipos del virus de la hepatitis C (VHC) en pacientes hemofílicos atendidos en el Instituto de Hematología e Inmunología de Cuba, así como identificar la presencia de genotipos mezclados.

Métodos: Se estudiaron 34 pacientes, a los que se le realizó el diagnóstico serológico mediante prueba inmunoenzimática de tercera generación (EIA-3) y la determinación del ARN viral por medio del estudio molecular sensible de reacción en cadena de la polimerasa reverso transcriptasa (RT-PCR). Para la determinación del genotipo se usó la técnica RT-PCR; los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) y la secuenciación en el laboratorio de virología del Instituto de Medicina Tropical.

Resultados: Los 34 pacientes mostraban una serología repetidamente reactiva para el VHC, pero solo 30 (88,2 %) tenían carga viral positiva. Predominó el genotipo 1 en 19 pacientes (56 %), 13 fueron 1b (38,2 %); mientras que 6 (18 %) mostraron genotipos mezclados. Solo un paciente presentó genotipo 2 (2,9 %). En 14 pacientes no se pudo obtener el genotipo.

Conclusiones: La alta heterogeneidad genética del VHC es un obstáculo importante en el tratamiento de los pacientes infectados, por lo que la identificación oportuna del genotipo, es una posibilidad diagnóstica, pronóstica y terapéutica que reviste gran importancia en el desarrollo de vacunas para la terapia antiviral.

Palabras clave: hemofilia; hemaptitis C; genotipo del VHC; pronóstico.

ABSTRACT

Introduction: One of the major causes of hepatocellular carcinoma and chronic liver disease is hepatitis C virus (HCV) infection, which shows wide molecular diversity worldwide. Among the most affected risk groups are hemophiliac patients, which have a high consumption of blood components.

Objectives: To determine the frequency of distribution of hepatitis C virus (HCV) genotypes in hemophiliacs treated at the Institute of Hematology and Immunology of Cuba, as well as to identify the presence of mixed genotypes.

Methods: We studied 34 patients, who underwent serological diagnosis by means of a third generation immunoenzymatic test (EIA-3) and the determination of viral RNA by means of the reverse transcriptase polymerase chain reaction RT-PCR. For the determination of the genotype the RT-PCR technique was used; restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) and sequencing in the virology laboratory of the Institute of Tropical Medicine.

Results: The 34 patients showed a repeatedly reactive HCV serology, but only 30 (88.2 %) had a positive viral load. Prevalence of genotype 1 in 19 patients (56 %): 13 were 1b (38.2 %); While 6 (18 %) showed mixed genotypes. Only one patient presented genotype 2 (2.9 %). In 14 patients the genotype could not be obtained.

Conclusions: High genetic heterogeneity of HCV is a major obstacle in the treatment of infected patients, so the timely identification of genotype is a diagnostic, prognostic and therapeutic possibility that is of great importance in the development of vaccines for antiviral therapy.

Keywords: hemophilia; hepatitis C; HCV genotype; prognosis.

INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es el mayor problema de salud pública en el mundo. Esta infección es una de las mayores causas de hepatitis crónica, con el riesgo de progresión a cirrosis y el desarrollo de carcinoma hepatocelular. La mayoría de los pacientes infectados no reconocen el periodo agudo de la infección y esta progresa a la cronicidad. Este virus muestra una amplia diversidad molecular a nivel mundial.¹⁻³

Se reconocen 6 genotipos, pero exhibe más de 70 subtipos, denominados consecutivamente según las letras del alfabeto (a, b, c, d, etc).^{4,5}

Se ha demostrado una relación directa entre la distribución y prevalencia de los genotipos del VHC con la situación geográfica y el modo de transmisión, aunque se ha comprobado que la infección en América, Europa y Japón son causadas por los genotipos 1, 2 y 3 en más del 90 % de los casos. Existen tres patrones de distribución de los genotipos. El primer patrón presenta una alta diversidad genética y abarca áreas geográficamente separadas donde el virus ha sido endémico por muchos años como en África Occidental con los genotipos 1 y 2, en África Central y en países del medio oriente que incluye Egipto, Siria, y Arabia Saudita con el tipo 4 y en Asia con los tipos 3 y 6.⁵⁻⁷ Otro patrón implica áreas con unos pocos subtipos que circula en grupos de riesgo específicos, por ejemplo el subtipo 3a en adictos a las drogas.⁸ El tercer patrón involucra áreas en las que un solo subtipo está presente, como en Egipto con subtipo 4a y Sudáfrica con el subtipo 5a.⁹

La importancia de conocer los genotipos del VHC, está en relación con su carácter predictor independiente de la respuesta virológica sostenida, la cual se refiere a un nivel indetectable de ARN del VHC 24 semanas después del final del tratamiento con interferón y ribavirina. Los genotipos 2 y 3 se asocian significativamente con una mejor respuesta terapéutica, por lo que su alto impacto clínico influye directamente en la modalidad y la duración del tratamiento, el cual es más largo (48 semanas) para el genotipo 1, 4, 5 y 6 que para el genotipo 2 y 3 (24 semanas).^{9,10}

Los pacientes hemofílicos tratados con hemoderivados no inactivados se han expuesto a múltiples cepas del VHC y con frecuencia aparecen pacientes con infecciones de genotipos virales mezclados.¹¹ Esto hace que tengan altas posibilidades de padecer una enfermedad hepática crónica, la cual en ocasiones es muy difícil de estudiar, por la limitación que genera la enfermedad hemorrágica que presentan.

Estudios seroepidemiológicos realizados en América Latina para determinar la presencia de anticuerpos contra el VHC en hemofílicos, revelaron cifras de prevalencia que van desde el 26,9 % en Honduras hasta el 64,3 % en Brasil, mientras que en Cuba se encontró el 59 %.¹¹

MÉTODOS

Se realizó un estudio longitudinal descriptivo en 34 pacientes con edades comprendidas entre 11 y 78 años de edad atendidos en el servicio de hemostasia del Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) en un período de 2 años. Se incluyó a todos los pacientes hemofílicos que aceptaron participar en el estudio, previa firma de consentimiento. El diagnóstico serológico de infección por hepatitis C se realizó mediante prueba inmunoenzimática de tercera generación (EIA-3) UMELISA-HCV y la determinación del ARN viral por medio del estudio molecular sensible de reacción en cadena de la polimerasa reverso transcriptasa (RT-PCR).¹²⁻¹⁴ Para la determinación del genotipo se usó la técnica RT-PCR; los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) y la secuenciación en el laboratorio de virología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".¹⁵

RESULTADOS

La edad promedio fue de 39,29 ± 14,2 años. Se estudiaron dos niños. El tipo de hemofilia más frecuente fue la hemofilia A, 29 pacientes (85,3 %). La mayoría, 20 pacientes (69 %), resultó tener hemofilia leve. Solo cinco pacientes (14,7 %) tenían diagnóstico de hemofilia B ([tabla](#)).

Tabla. Características demográficas de los pacientes hemofílicos infectados con VHC

Características de los pacientes hemofílicos (n= 34)		
Edad (años), X ± Desviación Estándar	39,29 ± 14,2	
Tipo de hemofilia	n	%
Hemofilia A	29	85,3
Grave	3	10,3
Moderada	6	20,7
Leve	20	69,0
Hemofilia B	5	14,7
Grave	0	0,0
Moderada	2	40,0
Leve	3	60,0
Coinfección con otras enfermedades virales		
Hepatitis B	2	5,8
VIH	2	5,8

Del total de pacientes estudiados, 30 (88,2 %) presentaron anticuerpos contra el VHC por (EIA-3) UMELISA-HCV, mientras que la confirmación por VHC-ARN se logró en 23 pacientes (67,6 %).

Se encontró coinfección con el virus de la hepatitis B en 2 pacientes (5,8 %) e igual porcentaje para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Para determinar la frecuencia de distribución de los genotipos fueron tipados 20 pacientes (58,8 %) (Fig.). El genotipo 1b fue identificado en 13 pacientes (38,2 %). Se encontró presencia de genotipos mezclados en 6 pacientes (17,6 %), distribuidos en 1b/3a y 1b/4a. Solo un paciente presentó genotipo 2 (2,9 %). No se obtuvo el genotipo en 14 pacientes.

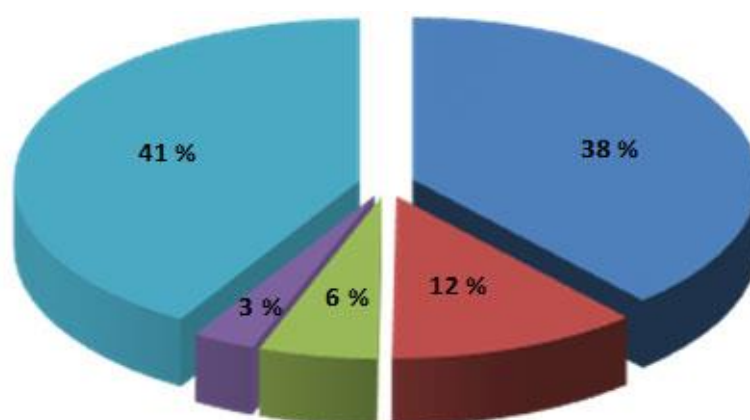


Fig. Genotipos del virus de la hepatitis C en pacientes hemofílicos.

Leyenda. NT: no tipado (■); genotipo 1b (■); genotipo 1b/3a (■); genotipo 1b/4a (■); genotipo 2 (■).

Fuente: Laboratorio de Virología IPK.

DISCUSIÓN

El genotipo y la presencia de cuasiespecies guardan relación con la evolución a la cronicidad y la respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina de los pacientes infectados con el VHC. Está demostrado que los pacientes que presentan el genotipo 1, 4 o su mezcla tienen una evolución hacia la cronicidad más rápida y una respuesta escasa al tratamiento, mientras que en los que muestran genotipos 2, 3, 5 o 6 la duración del tratamiento con interferón y ribavirina es menor y alcanzan una respuesta virológica sostenida de mayor duración. El genotipo más frecuente encontrado en el presente estudio fue el 1, lo que coincide con lo reportado internacionalmente,¹⁶ pero es de destacar la identificación del genotipo 4 en nuestros pacientes, el cual además de ser infrecuente confiere una evolución más rápida hacia la enfermedad hepática crónica y una escasa respuesta virológica al tratamiento.^{15,17-19} Los genotipos del VHC difieren en tres propiedades principales que destacan la importancia de la diversidad genética entre los diferentes genotipos del VHC: la prevalencia del genotipo del VHC está frecuentemente asociado con ciertas zonas geográficas;²⁰ la patogenicidad de la infección por el VHC varía entre los diferentes genotipos; por ejemplo, la infección por el genotipo 3 del VHC, se asocia con un grado mayor de esteatosis hepática y la infección por genotipo 1 con un mayor riesgo de desarrollo HCC, así como otras enfermedades malignas;²¹ y las tasas de respuesta a la terapia basada en IFN varían significativamente.²²

La existencia de coinfección con el virus de la hepatitis B en 2 pacientes, al igual que para el VIH en otros 2 pacientes del estudio, evidencia la similitud entre las vías de transmisión y los grupos de riesgo. También se observó la presencia de genotipos mezclados y al relacionarlo con la coinfección con VIH se ha planteado que los pacientes VIH positivos podrían tener una mayor diversidad de poblaciones virales del VHC que los VIH negativos, debido a una menor presión selectiva de su sistema inmune.¹¹

Tanto la coinfección con VHB como con VIH le confieren al paciente hemofílico infectado con el VHC, un peor pronóstico en cuanto a su evolución clínica. No se ha observado un incremento marcado en la afección renal ni cardiovascular, pero si está reconocido el compromiso hepático aumentado ya que la cirrosis hepática se presenta de 3-5 veces más que en los pacientes mono infectados y por tanto un número mayor de muertes por esta causa. También se ha observado una mayor hepatotoxicidad con la terapia antirretroviral en los pacientes coinfectados con VIH.²³

Las limitaciones en cuanto al diagnóstico histológico de la enfermedad hepática en los pacientes hemofílicos, por los altos riesgos de sangramiento que implican los procedimientos invasivos, hacen que cada vez sea más necesario un aumento en la vigilancia de las enfermedades virales transmitidas por la sangre y sus derivados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Welzel TM, Bhardwaj N, Hedskog C, Chodavarapu K, Camus G, McNally J, et al. Global epidemiology of HCV subtypes and resistance-associated substitutions evaluated by sequencing-based subtype analyses. *J Hepatol.* 2017 Aug;67(2):224-36.
2. Wang Y. Scotomas in molecular virology and epidemiology of hepatitis C virus. *World J Gastroenterol.* 2013 Nov;19(44):7910-21.

3. Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol.* 2014 Nov;61(1 Suppl):S58-68.
4. Wang CB, Cheng ZX, Chen JJ, Chen YY, Nie HM, Ling QH, et al. Epidemiological characteristics and risk factors of hepatitis C virus genotype 1 infection: a national epidemiological survey of Chinese Han population. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(6):1052-6.
5. Khodabandehloo M, Roshani D. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in Iranian patients: a systematic review and metaanalysis. *Hepat Mon.* 2014 Dec;14(12):e22915.
6. Peng J, Lu Y, Liu W, Zhu Y, Yan X, Xu J, et al. Genotype Distribution and Molecular Epidemiology of Hepatitis C Virus in Hubei, Central China. *PLoS One.* 2015 Sep;10(9):e0137059.
7. Wasitthankasem R, Vongpunsawad S, Siripon N, Suya C, Chulothok P, Chaiear K et al. Genotypic distribution of hepatitis C virus in Thailand and Southeast Asia. *PLoS One.* 2015 May;10(5):e0126764.
8. Zhang Z, Yao Y, Wu W, Feng R, Wu Z, Cun W, et al. Hepatitis C virus genotype diversity among intravenous drug users in Yunnan Province, Southwestern China. *PLoS One.* 2013 Dec;8(12):e82598.
9. Aman W, Mousa S, Shiha G, Mousa SA. Current status and future directions in the management of chronic hepatitis C. *Virology.* 2012 Mar;9:57.
10. Corrales Alonso S, Ramos Pachón CM, Celestrín Tápanes H, Morales Díaz M, Abreu Jarrín M, Bayoll Escalona A. Tratamiento de la hepatitis crónica por virus C con interferón pegilado cubano y ribavirina. *Rev. Med. Electrón.* 2014 Jun;36(3):290-303.
11. Rivero Jiménez RA. Antecedentes, diagnóstico y estudio evolutivo de la hepatitis C y la hemofilia. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2009 Abr [citado 2017 Feb 20];25(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000100005&lng=es
12. Rivero Jiménez RA, Merlín Linares JC, Blanco de Armas M, Navea Leyva LM, Lam Díaz RM, Castillo González D, et al. Eficacia diagnóstica de sistemas de inmunoensayos para el virus de la hepatitis C en muestras de pacientes multitransfundidos. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2009 Dic [citado 2017 Feb 20];25(3): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000300006&lng=es
13. Zauli DA, Menezes CL, Oliveira CL, Mateo EC, Ferreira AC. In-house quantitative real-time PCR for the diagnosis of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections. *Braz J Microbiol.* 2016 Oct-Dec;47(4):987-92.
14. Bello Corredor M, Montalvo Villalba MC, Rodríguez Lay LA, Valdés Alonso L, Sariago Frómata S, Pedroso Flaquet P, et al. Hepatitis C en pacientes VIH positivos. *Rev Cubana Med Trop* [Internet]. 2008 Dic [citado 2017 Feb 20];60(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000300012&lng=es

15. Rodríguez Lay LL, Montalvo Villalba MC, Bello Corredor MB, Sariego Frómeta S, Hernández JM, Carrera SD, et al. HCV genotype determination in monoinfected and HIV co-infected patients in Cuba. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012 Dec;106(12):711-7.
16. Rivero Jiménez René A. Tratamiento de la infección en la hepatitis C y la hemofilia. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2009 Abr [citado 2017 Feb 20];25(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000100006&lng=es
17. Hundie GB, Raj VS, Michael DG, Pas SD, Haagmans BL. Genetic diversity of hepatitis C virus in Ethiopia. *PLoS One.* 2017 Jun;12(6):e0179064.
18. Kamal SM. Hepatitis C virus genotype 4 therapy: progress and challenges. *Liver Int.* 2011 Jan;31(Suppl 1):45-52.
19. Khattab MA, Ferenci P, Hadziyannis SJ, Colombo M, Manns MP, Almasio PL, et al. Management of hepatitis C virus genotype 4: recommendations of an international expert panel. *J Hepatol.* 2011 Jun;54(6):1250-62.
20. Chlibek R, Smetana J, Sosovickova R, Gal P, Dite P, Stepanova V, Pliskova L, Plisek S. Prevalence of hepatitis C virus in adult population in the Czech Republic-time for birth cohort screening. *PLoS One.* 2017 Apr;12(4):e0175525.
21. Fiorino S, Bacchi-Reggiani L, de Biase D, Fornelli A, Masetti M, Tura A, et al. Possible association between hepatitis C virus and malignancies different from hepatocellular carcinoma: A systematic review. *World J Gastroenterol.* 2015 Dec;21(45):12896-953.
22. Daneshvar M, Nikbin M, Talebi S, Javadi F, Aghasadeghi MR, et al. Role of IL28-B Polymorphism (rs12979860) on Sustained Virological Response to Pegylated Interferon/Ribavirin in Iranian Patients With Chronic Hepatitis C. *Iran Red Crescent Med J.* 2016 Jul;18(9):e28566.
23. Tengan FM, Ibrahim KY, Dantas BP, Manchiero C, Magri MC, Bernardo WM. Seroprevalence of hepatitis C virus among people living with HIV/AIDS in Latin America and the Caribbean: a systematic review. *BMC Infect Dis.* 2016 Nov;16(1):663.

Recibido: 30 de junio de 2017.

Aprobado: 18 de septiembre de 2017.

Olga M. Agramonte Llanes. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, Cuba.
Correo electrónico: oagramonte@infomed.sld.cu