

Variabilidad genómica e historia natural de la infección por el virus de la hepatitis C

M. García-Retortillo y X. Forns

Unidad de Hepatología. Institut de Malalties Digestives (IMD). Hospital Clínic e IDIBAPS. Universitat de Barcelona. España.

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) está considerada como un problema de salud de gran relevancia, ya que se calcula que afecta a un total de unos 170 millones de personas en todo el mundo. Aunque la importancia de la infección en cuanto a morbilidad aún presenta puntos oscuros debido a su particular historia natural, está plenamente demostrado que la progresión de la fibrosis hepática en pacientes afectados por la infección crónica por el VHC puede desembocar en complicaciones graves, como la aparición de cirrosis hepática y el desarrollo sobre la misma de hepatocarcinoma¹⁻⁴. En los últimos años, los avances en biología molecular han permitido ahondar en el conocimiento de este virus, que cuenta con una gran capacidad de adaptación debido a la variabilidad genética que le caracteriza. Aunque también se ha progresado de forma notable en el tratamiento de la infección crónica gracias a la terapia combinada con interferón y ribavirina, existen aún gran cantidad de pacientes para los que dicho tratamiento no es efectivo.

EL VIRUS DE LA HEPATITIS C Y SU VARIABILIDAD GENÓMICA

El VHC pertenece a la familia *Flaviviridae*, que incluye patógenos que afectan a humanos y animales. La familia *Flaviviridae* está compuesta, al menos, por 3 géneros diferentes; los pestivirus, entre los que se encuentra el virus de la diarrea bovina, los flavivirus, principales causantes de enfermedades virales transmitidas por artrópodos (como el dengue o la fiebre amarilla) y, finalmente, los hepacivirus, cuyo único miembro es el virus de la hepatitis C⁵.

El VHC es un virus cuyo genoma está compuesto por una única cadena ARN de polaridad positiva que contiene

TABLA I. Proteínas estructurales y no estructurales del virus de la hepatitis C

Proteína	Peso molecular (kDa)	Función
C	21	Proteína de la nucleocápside
E1	31-35 (21 si no N-glucosilación)	Proteína de la envoltura del virión
E2	68-72 (36 si no N-glucosilación)	Proteína de la envoltura del virión
p7	7	Desconocida
NS2	23	Componente de la proteasa NS2-3
NS3	70	Componente de la proteasa NS2-3, serinproteasa, NTPasa y helicasa
NS3	70	Componente de la proteasa NS2-3, serinproteasa, NTPasa y helicasa
NS4A	8	Cofactor para la serinproteasa NS3
NS4B	27	Desconocida
NS5A	58	Desconocida, involucrada en la resistencia al interferón
NS5A	58	Desconocida, involucrada en la resistencia al interferón
NS5B	68	ARN-polimerasa dependiente de ARN

9.600 nucleótidos. Este genoma codifica una poliproteína de unos 3.000 aminoácidos sobre la que actúan las proteasas (virales y del huésped) para dar como resultado al menos 10 proteínas diferentes que se dividen en dos grupos: proteínas estructurales y proteínas no estructurales⁶ (tabla I).

El VHC es un virus de pequeño tamaño. A pesar de que su estructura no se conoce totalmente, algunos estudios han mostrado que la partícula viral tiene un tamaño de unos 30-60 nm de diámetro⁷. La nucleocápside está formada por la proteína del *core* (C) y por el ARN genómico. El virus cuenta con una envoltura lipídica en la que se sitúan las dos glucoproteínas virales, E1 y E2, necesarias para formar partículas infectivas. La proteína del *core* está compuesta por una secuencia altamente conservada de 191 aminoácidos con una masa molecular de unos 21 Kd. El extremo carboxiterminal de esta proteína contiene una región hidrofóbica, la cual actúa como una secuencia señal para el transporte de E1 dentro del retículo endoplasmático y para el procesamiento dependiente de membrana del *core*⁸. Según los resultados de diversos estudios de inmunofluorescencia, el *core* se localiza en el citoplas-

Correspondencia: Dr. X. Forns.

Unidad de Hepatología, IMD. Hospital Clínic.
Villarroel 170. 08036 Barcelona.

Correo electrónico: xforns@clinic.ub.es

Recibido el 8-2-2002; aceptado para su publicación el 10-3-2002.

ma. También se han localizado formas menores de la proteína en el núcleo y, de hecho, la translocación de proteína del *core* desde el citoplasma al núcleo se ha propuesto como mecanismo potencial de transformación celular⁹. Estudios *in vitro* han demostrado que la proteína del *core* podría interactuar con protooncogenes de las células del huésped y algunos trabajos la han implicado en el desarrollo de hepatocarcinoma en pacientes con infección crónica por el VHC¹⁰, al igual que ha ocurrido con otras regiones genómicas del VHC¹¹.

Las proteínas de la envoltura E1 y E2 son proteínas N-glucosiladas con peso molecular de 31 y 70 Kd, respectivamente. Ambas glucoproteínas contienen un dominio hidrofóbico en el extremo N-terminal que tiene la función de anclaje a la membrana. Las dos proteínas, E1 y E2, interaccionan entre sí y, de hecho, se cree que actúan como heterodímeros¹². E1 y E2 estarían implicadas en la unión a receptores celulares y su posterior fusión, es decir, en la entrada del virus dentro de las células del huésped. Las proteínas de la envoltura pertenecientes a diferentes aislados de VHC presentan un alto grado de heterogeneidad genética¹³. El extremo N-terminal de E2 es el que presenta mayor variabilidad, por lo que la región situada en la posición 384-410 recibe el nombre de región hipervariable 1 (HVR-1). Existen datos que indican que la HVR-1 se sitúa en superficie dentro de la estructura de la proteína de la envoltura y que representa un dominio de neutralización^{8,14-16}.

El grupo de las proteínas no estructurales está formado por 7 integrantes. Básicamente son proteínas con acción proteasa, helicasa y polimerasa, necesarias para la replicación viral. La NS5A se ha implicado en la modulación de la respuesta antiviral del huésped mediada por el interferón. En concreto, se ha observado que la acumulación de mutaciones en una determinada región de NS5A, la conocida como ISDR (*interferon sensitivity determining region*) se relaciona con una mejor respuesta al interferón en pacientes infectados por el genotipo 1b del VHC¹⁷⁻¹⁹.

Una de las características más importantes y con mayores implicaciones en la patogenia de la hepatitis C es la gran heterogeneidad genética del VHC. Esta complejidad genómica es el resultado de la acumulación de mutaciones durante la replicación viral. Como otros virus ARN, el VHC no cuenta con enzimas responsables de corregir los posibles errores que se producen durante la replicación, lo que se traduce en una alta tasa de mutaciones. Algunos estudios han estimado que esta tasa se sitúa en 10³-10⁴ sustituciones de base por «lugar genómico» por año^{20,21}. La heterogeneidad genética del VHC se ha descrito bajo dos conceptos: los genotipos y las semiespecies¹³. El genotipo hace referencia a la heterogeneidad genética existente entre los diferentes aislados de VHC en áreas geográficas diversas y refleja la acumulación de mutaciones durante un largo período de la evolución de estos virus. En cambio, las semiespecies son la traducción de la heterogeneidad genética en un determinado individuo. En efecto, el análisis del virus circulante en un paciente revela la presencia de múltiples cepas muy similares pero con algunas diferencias en su secuencia nucleotídica.

Los análisis genéticos del VHC han demostrado la existencia de al menos 6 genotipos diferentes. Las diferencias entre éstos pueden llegar al 35% de la secuencia nucleotídica. La mayoría de los aislados se puede incluir dentro de los principales genotipos, que se designan con números arábigos (1, 2, 3, 4, 5 y 6). A su vez, dentro de cada genotipo existen subgrupos con pequeñas diferencias entre sí, conocidos como subtipos, a los que se les asigna una letra (a, b, c, etc.).

Los diferentes genotipos pueden aparecer en cualquier parte del mundo, pero existen diferencias en cuanto a la distribución geográfica^{13,22,23} (fig. 1). Por ejemplo, los genotipos 1a, 1b, 2a, 2b, 2c y 3a constituyen el 90% de todas las infecciones por el VHC en toda América, Europa, China, antigua Unión Soviética, Japón, Australia y Nueva Zelanda. Los genotipos 1a y 1b son los causantes del 40% de todas las infecciones por el VHC en los EE.UU. El genotipo 1b es especialmente prevalente en el sur y este de Europa y también en China y Japón. El genotipo 3 es altamente prevalente en zonas de Nepal, Bangladesh, India y Pakistán. En Egipto existe una alta prevalencia del genotipo 4a y tanto éste como otros subtipos del genotipo 4 se pueden encontrar más frecuentemente en África central. En Sudáfrica, el genotipo 5 es el causante de alrededor del 50% de las infecciones por el VHC. Por último, el genotipo 6 se encuentra especialmente en el sudeste asiático. A pesar de las variaciones geográficas, es importante remarcar que, además, existen diferencias dentro de una misma área según los diferentes grupos de población. Así, en los países occidentales destaca la mayor prevalencia del genotipo 3a entre los jóvenes, especialmente entre aquellos que son usuarios de drogas por vía parenteral²⁴.

Como se ha mencionado anteriormente, la variabilidad genética del VHC hace que éste nunca se presente *in vivo* como una población homogénea con idéntica secuencia de ARN, sino que aparece como un conjunto de genomas muy similares conocidos como semiespecies²⁵. La semiespecie predominante sería aquella que contara con una mayor capacidad replicativa en el huésped.

La variabilidad genética en los virus, representada por las diferentes semiespecies, posee una gran importancia biológica. Así, durante el curso natural de la infección aparecen mutantes de escape al sistema inmunológico del individuo, es decir, variantes que no son reconocidas y neutralizadas por las defensas del huésped²⁶. De la misma forma, es posible que la variabilidad genética sea responsable, al menos en parte, de la resistencia a los fármacos antivirales. Como se ha demostrado en el caso del virus de la inmunodeficiencia humana, donde el cambio de un solo aminoácido es suficiente para conferir resistencia a un determinado fármaco, puede ser más importante el hecho de que algunas de estas cepas resistentes puedan estar presentes incluso antes de comenzar el tratamiento puesto que, una vez iniciado el mismo, se seleccionarán dichas cepas y serían responsables de la persistencia de la infección²⁷. Sin embargo, este hecho no ha sido claramente demostrado en el caso de la infección por el VHC.

Las infecciones virales pueden persistir por diferentes mecanismos. Por ejemplo, algunos virus que dan lugar a



Fig. 1. Distribución geográfica de los diferentes genotipos del virus de la hepatitis C.

infecciones crónicas son capaces de atenuar la expresión de sus proteínas de membrana para disminuir la posibilidad de ser reconocidos por los mecanismos efectores del sistema inmunológico. Otros poseen fenotipos no líticos que les permiten persistir en el interior de las células del huésped.

Aunque no se sabe con exactitud cuál o cuáles son los mecanismos que emplea específicamente el VHC para lograr la persistencia, se cree que la heterogeneidad de las semiespecies es uno de dichos mecanismos al permitir la aparición de mutantes de escape. Una vez se produce la infección del huésped por el VHC, se pone en marcha una respuesta inmunitaria, tanto humoral como celular. Una de las principales dianas de la respuesta inmunológica humoral es precisamente la región hipervariable de la proteína E2, la cual se cree que contiene diferentes epítopos de neutralización. Los primeros datos que apoyaban la presencia de un mecanismo de selección de semiespecies el VHC mediado por anticuerpos corresponde a los trabajos de Weiner et al²⁸. En dichos estudios se puso de relieve que la existencia de anticuerpos contra la secuencia predominante de la HVR1 en un paciente se siguió de la aparición de una nueva variante viral, contra la cual no se detectaban anticuerpos. Farci et al²⁹, por su parte, demostraron que anticuerpos contra la secuencia dominante de la HVR1 de una cepa de VHC pudieron neutralizar el virus *in vitro*. La importancia de la presión inmunológica humoral sobre el VHC se demostró en estudios llevados a cabo con pacientes con agammaglobulinemia o con inmunodeficiencia variable común. Así, se comprobó a través

del análisis de secuencias de muestras obtenidas a diferentes tiempos en la evolución de la infección que, en estos pacientes, la tasa de mutación del virus era menor que en los pacientes con un sistema inmunológico normal³⁰. Esto indicaría que, en ausencia de una presión inmunitaria de tipo humoral, la frecuencia de mutaciones decrece. También el escape a la respuesta inmunológica celular parece desempeñar un papel en los mecanismos de persistencia del VHC. En varios estudios se ha demostrado que la presencia de linfocitos T citotóxicos específicamente dirigidos contra determinados epítopos virales, como regiones de NS3, parecen facilitar la selección de unas variantes más virulentas y con mayor poder replicativo en el huésped^{31,32}. En un trabajo en el cual se estudiaba la respuesta aguda a la infección por el VHC se demostró que la actividad de los linfocitos T citotóxicos contra un determinado epítopo de HVR-1 era significativamente más intensa en aquellos pacientes que lograron curar la infección frente a los que desarrollaron la infección crónica^{33,34}.

Sin embargo, el escape inmunitario no parece ser el único mecanismo que utiliza el virus para persistir en el huésped. En estudios realizados recientemente en chimpancés se ha observado la persistencia de la infección tras la inyección de ARN del virus proveniente de un clon infeccioso de cADN. Es decir, se procedió a infectar a dichos animales con una secuencia única (sin semiespecies). A pesar del desarrollo de anticuerpos contra E1 y E2, casi no se detectaron mutaciones de la región HVR-1, y la infección se cronificó en la mayoría de los animales³⁵⁻³⁷. En

un reciente trabajo³⁸ se procedió a eliminar la región HVR-1 del clon infeccioso y se estudió su viabilidad tras la infección de dos chimpancés mediante ARN derivado de dicho clon. En uno de los dos animales, la infección se cronificó, apoyando la hipótesis de que la variabilidad del virus en la región hipervariable 1 no es el único mecanismo que el VHC utiliza para persistir en el huésped. Recientemente se ha propuesto la interferencia de determinadas proteínas virales con la vía del interferón como mecanismo de persistencia del virus³⁹.

LA HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR EL VHC

En la historia natural de la infección por el VHC existen algunos puntos oscuros que han impedido establecer con precisión el impacto de la infección en términos de morbilidad. La infección por el VHC se cronifica en más del 50% de los casos, dado que la inmunidad del huésped es insuficiente para lograr eliminar el virus.

Se considera que la infección se cronifica cuando se detecta ARN del virus durante más de 6 meses. Una vez la infección se hace crónica, en la mayoría de los casos permanece asintomática durante décadas y frecuentemente se llega al diagnóstico de forma casual, cuando por algún problema médico no relacionado con el hígado se realizan análisis y aparece una alteración de las transaminasas. Por este mismo motivo, gran parte de portadores crónicos del virus C desconoce su situación, ya que al no tener síntomas no consulta a los servicios médicos^{40,41}.

A medida que se han conocido los resultados de estudios encaminados a analizar la historia natural de la infección por el VHC, se está más de acuerdo en que la infección no parece seguir una progresión lineal, sino que tendría consecuencias potencialmente graves sólo en un subgrupo de sujetos⁴²⁻⁴⁵. Sin embargo, hasta el momento no se dispone de datos que identifiquen fácilmente a los pacientes de riesgo, que hipotéticamente obtendrían mayor beneficio de una intervención terapéutica. Algunos de los factores que se han relacionado con una peor evolución de la enfermedad son la edad avanzada en el momento en el que se contrajo la infección, el sexo masculino o la ingesta de alcohol^{3,4}.

En los últimos años se ha intentado estudiar la relación entre diversos factores virológicos y la historia natural de la infección. Se conoce poco sobre la evolución de las semiespecies durante la fase aguda de la infección y su relación con la evolución de la misma. Aunque tras la infección aguda la infección se cronifica en muchos casos y sigue un curso silente durante décadas, existe un pequeño grupo de pacientes en los cuales, una vez se produce la infección, ésta progresá más rápidamente hasta los estadios avanzados de la enfermedad, como la cirrosis y el hepatocarcinoma. Por otro lado, el otro extremo del espectro de la enfermedad sería aquellos pacientes en los que la infección aguda se autolimita y son capaces de eliminar el virus por completo. Últimamente, el grado de heterogeneidad genética se ha contemplado como factor

patogénico que podría influir en la evolución de la enfermedad. Farci et al⁴⁶ estudiaron muestras secuenciales de suero de pacientes con hepatitis postransfusional durante los primeros 4 meses después de la misma y que posteriormente habían seguido una diferente evolución. De los 12 pacientes estudiados, tres siguieron un curso fulminante, tres consiguieron resolver la infección tras la fase aguda, tres presentaron una evolución a la cronicidad pero con lenta progresión de la hepatopatía y, finalmente, los tres restantes evolucionaron hacia hepatitis crónica rápidamente progresiva con resultado de muerte secundaria a la hepatopatía en los 5 años siguientes a la infección. Los resultados de este estudio confirman que, ya desde las fases tempranas de la infección, el VHC circula como un conjunto de semiespecies. En las primeras fases no pareció advertirse ninguna diferencia entre el grado de complejidad viral (número de cepas diferentes) y la posterior evolución de la infección. Ésta tampoco se correlacionó con el genotipo ni con la carga viral. En el estudio longitudinal y seriado de las diferentes muestras sí se pudo constatar que la complejidad de las semiespecies virales se mantenía baja durante todo el curso de la infección entre aquellos pacientes con hepatitis fulminante, disminuyó a lo largo del tiempo entre aquellos pacientes que lograron que la infección se autolimitara, aumentó entre aquellos con infección crónica de curso lento y se incrementó de forma dramática en aquellos pacientes con infección crónica y progresión rápida de la hepatopatía. Así pues, este estudio indica que la evolución de las semiespecies dentro de los primeros meses tras la infección podría constituir un dato de interés pronóstico, ya que un aumento marcado de la complejidad viral tras la infección se correlacionaría con una rápida evolución de la enfermedad hepática.

Mediante el análisis de secuencia del extremo carboxiterminal de E1, Honda et al⁴⁷ comprobó que la heterogeneidad genética intrapaciente aumentaba en función de la severidad de la enfermedad (era baja en pacientes con hepatitis aguda y alta en aquellos que evolucionaban a cirrosis), sugiriendo que la diversidad de las semiespecies (grado de diferencia entre las semiespecies del mismo individuo) se correlacionaba con la progresión de la enfermedad. El mecanismo responsable de estas diferencias en la evolución de la enfermedad es desconocido por el momento. No se sabe si es la traducción de determinadas características virales, de la respuesta inmunológica del huésped o una combinación de ambos factores.

La heterogeneidad de las semiespecies se cree que también puede influir en la respuesta al interferón. En numerosos estudios ya se ha comprobado que a menor divergencia entre semiespecies, mejor respuesta al tratamiento. Polyak et al⁴⁸ analizaron la evolución de las semiespecies en base al análisis de dos regiones: HVR-1 y la ISDR en pacientes en tratamiento con interferón y la compararon con la evolución natural del virus. Los pacientes que recibían interferón presentaban una mayor tasa de mutaciones en diversas zonas del genoma viral y, especialmente, en HVR-1, lo que sugería la existencia de una presión inmunitaria selectiva.

También se ha especulado sobre la influencia del genotipo en la gravedad de la infección por el VHC. En numerosos trabajos se ha asociado al genotipo 1b con una enfermedad hepática más grave y con el desarrollo de hepatocarcinoma⁴⁹⁻⁵¹. Sin embargo, esta asociación podría ser sólo aparente, ya que en algunas áreas geográficas el genotipo 1b puede haber existido desde hace más tiempo y la asociación con hepatopatía grave y hepatocarcinoma reflejaría una mayor duración de la enfermedad⁵². En realidad son las dificultades en la realización de estudios de seguimiento a largo plazo y la escasa información epidemiológica las que dificultan la investigación del papel que realmente desempeña el genotipo en la gravedad de la enfermedad. Menos equívoca parece ser la relación entre determinados genotipos y la respuesta a los antivirales. Así, por ejemplo, el genotipo 1 responde significativamente peor al interferón que los genotipos 2 o 3⁵³. Los infectados por el genotipo 4 también cuentan con una baja tasa de respuesta al interferón⁵⁴. Estas diferencias también se han observado en la terapia combinada con interferón y ribavirina^{55,56}. La diferente respuesta a los antivirales hace que el tratamiento deba ser más prolongado que en los casos de infección por los genotipos 2 o 3. Dentro de un mismo genotipo también pueden existir diferencias genéticas que determinen una distinta sensibilidad al tratamiento antiviral. Enomoto et al^{17,18} observaron que aquellos aislados del VHC con mayor número de mutaciones en la región de NS5A conocida como ISDR, respondían mejor al interferón. El mecanismo por el cual las mutaciones en esta zona de NS5A pueden influir sobre la sensibilidad al interferón es desconocido, pero se cree que NS5A interactúa con una proteíncinasa celular inducida por IFN (PKR), lo que constituiría para el virus un mecanismo de escape al efecto antiviral del fármaco.

LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL VHC EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

En los pacientes trasplantados por hepatopatía crónica secundaria a la infección por el VHC, la recurrencia de la infección viral es la norma^{57,58}. De hecho, tras la mejoría notable en las técnicas quirúrgicas, la reinfección del injerto constituye actualmente unos de los problemas más graves para los programas de trasplante de todos los países. En España, si consideramos que al menos un 50% de los pacientes en lista de espera están infectados por el VHC, el problema adquiere un especial interés. Aunque en los estudios que se han llevado a cabo en los últimos años no se ha demostrado que la supervivencia de los trasplantados por hepatopatía secundaria al VHC sea distinta de la de los trasplantados por otras causas, existen evidencias de que, por ejemplo, en nuestro medio, a los 5 años del TOH un 50% de estos pacientes ya tienen una biopsia diagnóstica de cirrosis. Este hecho constituirá una importante fuente de morbilidad en los próximos años⁵⁹. El trasplante hepático puede ser considerado como un modelo para el estudio de la transmisión del VHC y de sus mecanismos patogénicos. Diversos trabajos han anali-

zado el papel de las semiespecies en la evolución del órgano transplantado. Durante el trasplante hepático, la fuente principal de viriones –el hígado– es extraído y sustituido por un nuevo órgano que se infectará a partir de las partículas virales circulantes o de partículas virales producidas fuera del hígado. En general, se sabe que tras el trasplante, la complejidad de las semiespecies tiende a disminuir. Este hecho, observado por Martell et al⁶⁰, podría deberse a que en el huésped existe ya una respuesta inmunológica preexistente humoral y celular. Además, la inmunodepresión a la que se somete el paciente transplantado actuaría disminuyendo la presión inmunológica selectiva sobre el VHC. También es posible que tras el trasplante sólo determinadas cepas virales se adapten al nuevo entorno y cuenten con ventajas biológicas para su replicación, hecho que contribuiría a la disminución de la complejidad de las semiespecies.

En los trabajos de Gretch et al⁶¹ se analizó la evolución de las semiespecies en 5 pacientes sometidos a trasplante hepático que estaban infectados por el genotipo 1 del VHC. Aunque después del trasplante el número de variantes virales disminuyó, la semiespecie dominante antes del trasplante se propagó eficientemente en tres de los 5 pacientes. En dos de los 5 pacientes aparecieron nuevas cepas después del trasplante, lo que se acompañó de una disminución de la viremia durante las primeras 2 semanas post-TOH. Esto sugería que la semiespecie dominante antes del TOH no se propagó eficientemente en el nuevo injerto y que esas dos semanas serían el período necesario para que cepas menos representadas o de nueva aparición pudieran crecer. Lo más interesante es que ambos grupos de pacientes siguieron una evolución diferente. En aquellos en los que la especie dominante antes del TOH logró propagarse con éxito en el nuevo injerto, la hepatopatía secundaria al VHC progresó de forma significativamente más rápida que en el grupo de pacientes en los que las especies *minor* consiguieron predominar tras el TOH. Se han propuesto algunas explicaciones a este hecho. Por un lado, la posibilidad de que existan cepas virales con mayor poder patógeno y, por otro, el hecho de que una respuesta inmunitaria preexistente favorezca la más rápida evolución de la enfermedad.

Respecto a la influencia del genotipo sobre la evolución de la infección sobre el injerto, Laskus et al⁶² obtuvieron resultados similares a los trabajos publicados por Gretch et al⁶¹. Se estudió a 14 pacientes trasplantados por hepatopatía secundaria al VHC, los cuales recibieron un injerto procedente de un donante también infectado. El genotipo del receptor predominó después del trasplante en seis de los 14 pacientes. En los restantes, fue el genotipo del donante el que dominó después del trasplante. La coexistencia de ambos genotipos se detectó sólo durante la primera semana tras el trasplante. El genotipo 1 siempre resultó el dominante en las combinaciones en las que estuvo presente. Además, entre aquellos receptores que mantuvieron el mismo genotipo después del trasplante, la hepatopatía sobre el injerto progresó de forma más rápida que cuando prevaleció el genotipo del donante. Otros estudios han demostrado que la superinfección de variantes distan-

tes siempre se sigue de la sustitución de un genotipo por otro, lo que sugiere que algunas cepas virales contaría con ventajas biológicas para su replicación, o que tal vez se produzcan fenómenos de interferencia viral en el huésped⁶³.

BIBLIOGRAFÍA

1. Seeff LB. Natural history of hepatitis C. Am J Med 1999;27: 10S-5S.
2. Pagliaro L, Peri V, Linea C, Cammà C, Giunta M, Magrin S. Natural history of chronic hepatitis C. Ital J Gastroenterol Hepatol 1999;31:28-44.
3. Poynard T, Bedossa P, Opolon P, for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC groups. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. Lancet 1997;349:825-32.
4. Forns X, Ampurdanès S, Sánchez-Tapias JM, Guilera M, Sans M, Sánchez-Fueyo A, et al. Long-term follow-up of chronic hepatitis C in patients diagnosed at a tertiary-care center. J Hepatol 2001;35:265-71.
5. Neysts J, Leyssen P, De Clerq E. Infections with *Flaviviridae*. Verh K Acad Geneeskd Belg 1999;61:661-97.
6. Major ME, Feinstone SM. The molecular virology of hepatitis C. Hepatology 1997;25:1527-30.
7. He LF, Alling D, Popkin T, Shapiro M, Alter HJ, Purcell RH. Determining the size of non-A, non-B hepatitis virus by filtration. J Infect Dis 1987;156:636-40.
8. Hijikata M, Kato N, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Shimotohno K. Gene mapping of the putative structural region of the hepatitis C virus genome by *in vitro* processing analysis. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:5547-51.
9. Rüster B, Zeuzem S, Roth WK. Hepatitis C virus sequences encoding truncated core proteins detected in a hepatocellular carcinoma. Biochem Biophys Res Commun 1996;219:911.
10. Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Ishibashi K, et al. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. Nat Med 1998;4: 1065.
11. Giménez-Barcons M, Franco S, Suárez Y, Forns X, Ampurdanès S, Puig-Basagoiti F, et al. High amino acid variability within the NS5A of hepatitis C virus (HCV) is associated with hepatocellular carcinoma in patients with HCV-1b-related cirrhosis. Hepatology 2001;34:158-67.
12. Ralston R, Thudium K, Berger K, Kuo C, Gervase B, Hall J, et al. Characterization of hepatitis C virus envelope glycoprotein complexes expressed by recombinant vaccinia viruses. J Virol 1993;67:6753-61.
13. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. Semin Liver Dis 1995;15:41-54.
14. Kato N, Ootsuyama Y, Tanaka T, Nakagawa M, Nakazawa T, Muraiso K, et al. Marked sequence diversity in the putative envelope proteins of hepatitis C viruses. Virus Res 1992;22:107-23.
15. Farci P, Shimoda A, Wong D, Cabezon T, De Gioannis D, Strazzera A, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:15394.
16. Shimizu YK, Igarashi H, Kiyohara T, Cabezon T, Farci P, Purcell RH, et al. A hyperimmune serum against a synthetic peptide corresponding to the hypervariable region 1 of hepatitis C virus can prevent viral infection in cell cultures. Virology 1996;223:409.
17. Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, et al. Comparison of full-length sequences of interferon -sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. J Clin Invest 1995;96:224.
18. Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. N Engl J Med 1996;334:77.
19. Sáiz JC, López-Labrador FX, Ampurdanès S, Dopazo J, Forns X, Sánchez-Tapias JM, et al. The prognostic relevance of the nonstructural 5A gene interferon sensitivity determining region is different in infections with genotype 1b and 3a isolates of hepatitis C virus. J Infect Dis 1998;177:839-47.
20. Ogata N, Alter HJ, Miller RH, Purcell RH. Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:3392-6.
21. Okamoto H, Kojima M, Okada S-I, Yoshizawa H, Iizuka H, Tanaka T, et al. Genetic drift of hepatitis C virus during an 8.2-year infection in a chimpanzee: Variability and stability. Virology 1992;190:894-9.
22. Forns X, Bukh J. Methods for determining the hepatitis C virus genotype. Viral Hepatitis Rev 1998;4:1.
23. Maertens G, Stuyner L. Genotypes and genetic variation of hepatitis C virus. En: Harrison TJ, Zuckerman A, editors. The molecular medicine of viral hepatitis. Medical Science Series. Chichester: John Wiley & Sons, 1997; p. 183.
24. Bukh J, Emerson SU, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus and related viruses. En: Rizzetto M, Purcell RH, Gerin JL, Verme G, editors. Viral hepatitis and liver disease. Turin: Minerva Medica, 1997; p. 167.
25. Martell M, Esteban JI, Quer J, Genesca J, Weiner A, Esteban R, et al. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. J Virol 1992;66:3225.
26. Purcell RH. Hepatitis C and its sequelae: the biology of hepatitis C virus and implications for its control. En: Kobayashi K, Purcell RH, Shimotohno K, Tabor E, editors. Hepatitis C virus and its involvement in the development of hepatocellular carcinoma. Princeton: Princeton Scientific Publishing, 1995; p.1-113.
27. Domingo E, Menéndez-Arias L, Quiñones-Mateu ME, Holguín A, Gutiérrez-Rivas M, Martínez MA, et al. Viral quasispecies and the problem of vaccine-escape and drug-resistant mutants. Prog Drug Res 1997;48:99-128.
28. Weiner AJ, Geysen HM, Christopherson C, Hall JE, Mason TJ, Saracco G, et al. Evidence for immune selection of hepatitis C virus (HCV) putative envelope glycoprotein variants: potential role in chronic HCV infections. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89:3468.
29. Farci P, Alter HJ, Wong DC, Miller RH, Govindarajan S, Engle R, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees after antibody-mediated *in vitro* neutralization. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:7792.
30. Booth JC, Kumar U, Webster D, Monjardino J, Thomas HC. Comparison of the rate of sequence variation in the hypervariable region of E2/NS1 region of hepatitis C virus in normal and hypogammaglobulinemic patients. Hepatology 1998;27:223-7.
31. Weiner A, Erickson AL, Kansopon J, Crawford K, Muchmore E, Hughes A, et al. Persistent hepatitis C virus infection in a chimpanzee is associated with emergence of a cytotoxic T lymphocyte escape variant. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92:2755-9.
32. Chang KM, Rehermann B, McHutchinson JG, Pasquinelli C, Southwood S, Sette A, Chisari FV. Immunological significance of cytotoxic T lymphocyte epitope variants in patient chronically infected by the hepatitis C virus. J Clin Invest 1997;100: 2376-85.
33. Tsai SL, Chen YM, Chen MH, Huang CY, Sheen IS, Yeh CT, et al. Hepatitis C virus variants circumventing cytotoxic T lymphocyte activity as a mechanism of chronicity. Gastroenterology 1998;115:954-65.
34. Takaki A, Wiese M, Maertens G, Depla E, Seifert U, Liebetrau A, et al. Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. Nat Med 2000;6:578-82.
35. Hong Z, Beaudet-Miller M, Landford RE, Guerra B, Wright-Minogue J, Skelton A, et al. Generation of transmissible hepatitis C virions from a molecular clone in chimpanzees. Virology 1999;256:36-44.
36. Bukh J, Yanagi M, Emerson SU, Purcell RH. Course of infec-

- tion and evolution of monoclonal hepatitis C virus (HCV) strain H77 in chimpanzees transfected with RNA transcripts from an infectious cDNA clone. *Hepatology* 1998;28:319A.
37. Major ME, Mihalik K, Fernández J, Seidman J, Kleiner D, Kolykhalov AA, et al. Long-term follow-up of chimpanzees inoculated with the first infectious clone for hepatitis C virus. *J Virol* 1999;73:3317-25.
 38. Forns X, Thimme R, Govindarajan S, Emerson SU, Purcell RH, Chisari FV, et al. Hepatitis C virus lacking the hypervariable region 1 of the second envelope protein is infectious and causes acute resolving or persistent infection in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:13318-23.
 39. Taylor DR, Shi ST, Romano PR, Barber GN, Lai MM. Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein. *Science* 1999;285:107-10.
 40. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E, Gibo Y, Yoshizawa K, Nakano Y, et al. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology* 1990;12:671-5.
 41. Tong MJ, al-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995;332:1463-6.
 42. Kenny-Walsh E, and the Irish Hepatology Research Group. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med* 1999;340:1228-33.
 43. Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic post-transfusion hepatitis. *Hepatology* 1991;14:969-74.
 44. Khan MH, Farrell GC, Byth K, Lin R, Weltman M, George J, et al. Which patients with hepatitis C develop liver complication? *Hepatology* 2000;31:513-20.
 45. Seef LB, Buskell-Bales Z, Wright EC, Durako SJ, Alter HJ, Iber FL, et al. Long-term mortality after transfusion-associated non-A, non-B hepatitis. The National Heart, Lung and Blood Institute Study Group. *N Engl J Med* 1992;327:1906-11.
 46. Farci P, Shimoda A, Coiana A, Díaz G, Peddis G, Melpolder JC, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science* 2000;288:339-44.
 47. Honda M, Kaneko S, Sakai A, Unoura M, Murakami S, Kobayashi K. Degree of diversity of hepatitis C virus quasispecies and progression of liver disease. *Hepatology* 1994;20:1144.
 48. Polyak SJ, Faulkner G, Carithers RL, Corey L, Gretch DR. Assessment of hepatitis C virus quasispecies heterogeneity by gel shift analysis: correlation with response to interferon therapy. *J Infect Dis* 1997;175:1101.
 49. Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T, Urushishara A, Matsumoto A, Kiyosawa K. The natural course of chronic hepatitis C: a comparison between patients with genotypes 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology* 1996;23:695-9.
 50. Nausbaum JB, Pol S, Nalpas B, Landais P, Berthelot P, Brechot C, and the collaborative study group. Hepatitis C virus 1 b in France and Italy. *Ann Intern Med* 1995;122:161.
 51. Silini E, Bottelli R, Asti M, Bruno S, Candusso ME, Brambilla S, et al. Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a case-control study. *Gastroenterology* 1996;111:199.
 52. López-Labrador FX, Ampurdanès S, Forns X, Castells A, Sáiz JC, Costa J, et al. Hepatitis C virus (HCV) genotypes in Spanish patients with HCV infection: relationship between HCV genotype 1b, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1997;27:959-65.
 53. Davis GL, Lau JYN. Factors predictive of a beneficial response to therapy of hepatitis. *Hepatology* 1997;26(Suppl 1):1225-75.
 54. El Zayadi A, Simmonds P, Dabbous H, Prescott L, Selim O, Ahdy A, et al. Response to interferon-alpha of Egyptian patients infected with hepatitis C virus genotype 4. *J Viral Hepat* 1996;3:261.
 55. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC, Trepo C, et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339:1493.
 56. McHutchinson JG, Stuart CG, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998;339:1485.
 57. Berenguer M, Wright TL. Hepatitis C and liver transplantation. *Gut* 1999;45:159-63.
 58. Samuel D, Feray C. Recurrent hepatitis C after liver transplantation: clinical and therapeutical issues. *J Viral Hepat* 2000;7:87-92.
 59. Prieto M, Berenguer M, Rayon JM, Cordoba J, Arguello L, Carrasco D, et al. High incidence of allograft cirrhosis in hepatitis C virus genotype 1b infection following transplantation: relationship with rejection episodes. *Hepatology* 1999;29:250-6.
 60. Martell M, Esteban JI, Quer J, Vargas V, Esteban R, Guardia J, et al. Dynamic behavior of hepatitis C virus quasispecies in patients undergoing orthotopic liver transplantation. *J Virol* 1994;68:3425.
 61. Gretch DR, Polyak SJ, Wilson JJ, Carithers RL, Perkins JD, Corey L. Tracking hepatitis C virus quasispecies in symptomatic and asymptomatic liver transplant recipients. *J Virol* 1996;70:7622-31.
 62. Laskus T, Wanf LF, Rakela J, Vargas H, Pinna AD, Tsamandas AC, et al. Dynamic behavior of hepatitis C virus in chronically infected patients receiving liver graft from infected donors. *Virology* 1996;220:171.
 63. Okamoto H, Mishiro S, Tokita H, Tsuda F, Miyarama Y, Miyumi M. Superinfection of chimpanzees carrying hepatitis C virus of genotype II/1b with that of genotype III/2a or I/1a. *Hepatology* 1994;20:1131.