



## CASOS CLÍNICOS

# *Presencia del virus de la hepatitis C en tejido renal en glomerulonefritis membranoproliferativa y crioglobulinemia*

A. Tormo\*, F. Rivera\*\*, C. Muñoz\* y M. Trigueros\*

\*Servicios de Nefrología, Anatomía Patológica e Inmunología. Hospital General Universitario de Alicante. \*\*Sección de Nefrología. Hospital Alarcos. Ciudad Real.

### RESUMEN

*Aunque la infección por el virus de la hepatitis C se asocia con varias enfermedades extrahepáticas, la detección de RNA viral en las estructuras glomerulares es difícil. No obstante, algunos autores lo han encontrado, con resultados dispares. Describimos un paciente con glomerulonefritis membranoproliferativa, crioglobulinemia mixta tipo III e infección por virus de la hepatitis C con presencia de RNA VHC en suero, crioprecipitado y tejido renal mediante RT-PCR. Estos hallazgos apoyan el papel directo del VHC en el daño renal.*

Palabras clave: **Virus hepatitis C. Glomerulonefritis membranoproliferativa. Crioglobulinemia.**

### DETECTION OF HEPATITIS C VIRUS IN RENAL TISSUE IN MEMBRANOPROLIFERATIVE GLOMERULONEPHRITIS AND CRYGLOBULINEMIA

### SUMMARY

*Although hepatitis C virus infection has been documented in several extrahepatic diseases, the deposition of HCV RNA in glomerular structures has proved to be difficult to demonstrate. We report a patient with membranoproliferative glomerulonephritis, type III circulating cryoglobulins and hepatitis C virus infection with detection of HCV RNA in serum, cryoprecipitate and renal tissue using specific RT-PCR technique. These data confirm that HCV could have a direct role in renal damage.*

Key words: **Hepatitis C virus. Membranoproliferative glomerulonephritis. Cryoglobulinemia.**

Recibido: 20-IX-2002.

En versión definitiva: 16-XII-2002.

Aceptado: 17-XII-2002.

**Correspondencia:** Dr. Francisco Rivera  
Servicio de Nefrología. Hospital Alarcos  
Avda. Pío XII, s/n.  
13002 Ciudad Real  
E-mail: francisco.rivera@wanadoo.es

## INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) se asocia con varias manifestaciones extrahepáticas. Entre ellas destacan la glomerulonefritis (GN) membranoproliferativa (GNMP) con o sin crioglobulinas circulantes, nefropatía membranosa y otras<sup>1-7</sup>. No obstante, el papel directo del VHC en estas nefropatías es difícil de establecer por la dificultad para identificar material viral en las estructuras renales, por diversos motivos: escasa cantidad de proteínas del VHC en los tejidos, disminución de su antigenicidad por el procesamiento de la muestra y enmascaramiento de los antígenos por los anticuerpos. De hecho, la búsqueda de antígenos del VHC en riñón se ha investigado por varios autores con resultados negativos<sup>1</sup> o dispares<sup>8,9</sup>.

Presentamos un paciente con GNMP, crioglobulinemia mixta tipo III e infección por VHC donde hemos detectado RNA viral (RNA VHC) en suero, crioprecipitado y tejido renal mediante RT-PCR. Estos hallazgos sugieren la participación directa del VHC en las lesiones glomerulares.

## CASO CLÍNICO

Varón de 66 años diagnosticado hace 4 años de hepatitis crónica, sin biopsia hepática, con serología positiva para VHC. No tiene antecedentes de transfusiones, adicción a drogas u otros factores de riesgo. Unos meses antes de su primera visita desarrolla una vasculitis cutánea con hipocomplementemia y crioglobulinas circulantes positivas. Posteriormente presenta elevación de las cifras de presión arterial que se controlan con felodipino. Además se detecta proteinuria de 4,6 g/día, microhematuria y deterioro de función renal (creatinina sérica 1,4 mg/dl). La albúmina sérica es normal. Los datos de laboratorio más relevantes son: AST 31 U/l, ALT 54 U/l, Fosfatasa Alcalina 186 U/l,  $\gamma$ GT 54 U/l. Los anticuerpos para los virus de la hepatitis B y VIH se investigan mediante ELISA de 3ª generación (AxSYM System®, Abbott) con los siguientes resultados: AgHBs (-), Anti-HBs (-), Anti-HBc (+), Anti-HBc IgM (-), Anti-HBe (+) y Anti HIV (-). El valor de complemento hemolítico total (Complement Activation EIA Test System®, DiaSorin) es 56 U. CAE/mL (normal 80-160), con C<sub>3</sub> normal y C<sub>4</sub> 6,1 mg/dL (Behring BNA nephelometer). Los anticuerpos para VHC son positivos con ELISA de 3ª generación (Abbott Diagnostics HCV 3.0®, Maidenhead, UK), confirmados mediante LIA (Inno-Lia HCV Ab III®, Innogenetics). La detección de RNA VHC es positiva mediante técnica RT-PCR (Amplificor PCR 2.0®, Diagnostics, Roche Diagnostics System, Lewes, UK) y la carga viral cuantificada mediante el mismo procedimiento es 350.000 copias/mL. El genotipo del VHC es 1b (Inno-lipa®, Innogenetics).

Las crioglobulinas circulantes son positivas. La cuantificación de inmunoglobulinas en el crioprecipitado se estima mediante nefelometría con los siguientes resultados: IgM 436 mcg/mL, IgG 293 mcg/mL, con criterios de tipo III (policlonal-policlonal). La actividad de factor reumatoide en el crioprecipitado es 78,5 UI/mL. La detección de VHC RNA en el crioprecipitado es positiva empleando el mismo método.

Se realiza biopsia renal percutánea cuyo resultado, tras estudio con microscopio óptico e inmunofluorescencia, es GNMP tipo I. Guardamos un fragmento en fresco para estudio inmunológico e investigamos la presencia de VHC RNA en tejido renal no fijado mediante RT-PCR. Antes de este procedimiento se hace elución ácida para eliminar complejos inmunes circulantes. La detección de genoma viral VHC es positiva con el mismo procedimiento empleado en suero y crioprecipitado. Asimismo, en el tejido renal, el genotipo del VHC es 1b y la carga viral 34.000 copias/ml (fig. 1).

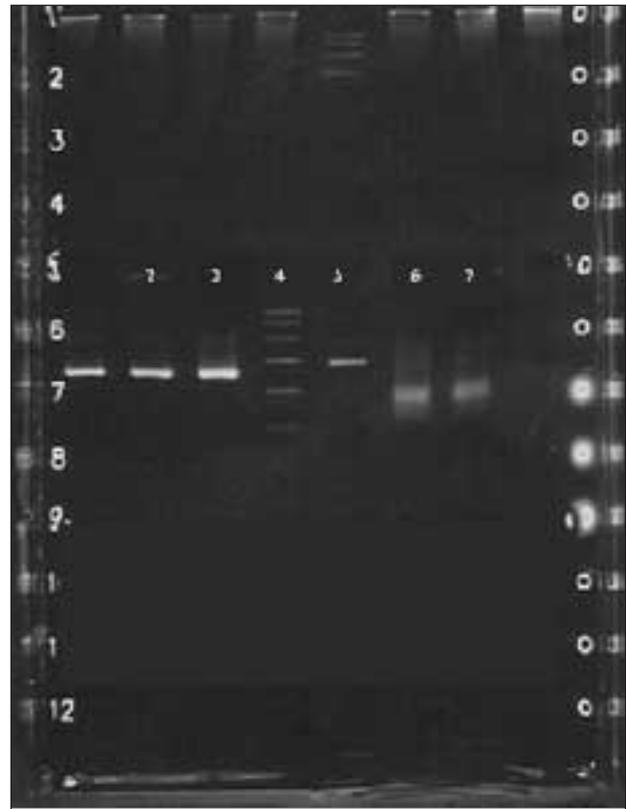


Fig. 1.—Electroforesis en agarosa. Línea 1: Amplificación tisular de VHC en caso control con tejido hepático infectado por VHC. Línea 2: Amplificación renal de VHC de nuestro paciente. Línea 3: Amplificación en suero de VHC de nuestro paciente. Línea 4: Control de pesos moleculares. Línea 5: Control de migración (300 pb) de VHC. Línea 6: Amplificación tisular en control con tejido hepático no infectado con VHC. Línea 7: Control con agua estéril destilada.

## DISCUSIÓN

A pesar de que existe una clara asociación entre la infección por VHC y ciertas formas de GN, la detección de este virus formando parte de los complejos inmunes depositados en el glomérulo es difícil. En la revisión de los trabajos publicados hemos encontrado (PubMed usando ProCite 5.0, hasta diciembre de 2002). Diez publicaciones en las que por diferentes métodos se han detectado proteínas del VHC o su RNA en tejido renal<sup>10-19</sup>. Los procedimientos empleados son inmunofluorescencia, microscopio electrónico y PCR tisular. En nuestro caso hemos confirmado la presencia de VHC en suero y en tejido renal en un paciente con crioglobulinemia tipo III y GNMP tipo I.

Horikoshi y cols. en 1993<sup>10</sup> encontraron partículas «VHC-like» en los depósitos densos paramesangiales en un paciente con GN proliferativa asociada a infección por VHC. Poco después, Doutrelepont<sup>11</sup> y Misiani<sup>12</sup> describieron la presencia de este virus mediante PCR de tejido renal. Davda y cols.<sup>13</sup> detectaron VHC RNA mediante RT-PCR de RNA total extraído de biopsias renales fijadas en parafina de 2 pacientes con GN membranosa asociada a VHC, aunque no pudieron detectar este RNA mediante hibridación *in situ*. Poco después, Yamabe y cols.<sup>14</sup> utilizaron un anticuerpo policlonal anti-core y mediante inmunofluorescencia indirecta encontraron, en 2/6 casos de GNMP asociada a infección por VHC, depósitos en la pared capilar glomerular y en el área mesangial. Okada y cols.<sup>15</sup> detectaron también mediante inmunofluorescencia indirecta la presencia de VHC en los complejos inmunes glomerulares de 2 pacientes con nefropatía membranosa asociada a VHC, usando anticuerpos monoclonales y policlonales frente a los antígenos E1, E2, NS2 y NS3. Sansonno y cols.<sup>16</sup> utilizando una técnica similar encontraron depósitos en 8/12 casos de GNMP y crioglobulinemia mixta tipo II asociada a VHC. Stokes y cols.<sup>17</sup> detectaron RNA del VHC en tejido renal mediante PCR tisular en 7/11 pacientes infectados simultáneamente por VHC y VIH.

En nuestro paciente no hemos podido hacer inmunofluorescencia específica ni microscopio electrónico por no disponer de estas técnicas. Recurrimos a la extracción renal de RNA y posteriormente RT-PCR específica para VHC, con resultados claramente positivos: presencia de VHC genotipo 1b, idéntico al encontrado en suero y crioprecipitado. No obstante, el hallazgo de VHC tisular mediante esta técnica no significa obligatoriamente que el virus esté depositado en el riñón, sino que puede ser debido a contaminación de proteínas virales sé-

ricas o de células circulantes infectadas. Para evitar esta posible contaminación hemos lavado exhaustivamente la muestra mediante elución. Por otro lado, la presencia del VHC detectada por PCR tisular tampoco implica necesariamente un papel causal en el daño renal. De hecho, varios autores han encontrado partículas del VHC en riñones de pacientes infectados por VHC sin nefropatía aparente<sup>13</sup> o con diversas enfermedades renales no asociadas a este virus como poliquistosis, amiloidosis o nefroangiosclerosis<sup>18</sup>. Muy posiblemente la infección por VHC necesita la participación de factores genéticos o inmunológicos para causar daño renal.

Recientemente, Sabry y cols.<sup>19</sup> han realizado un estudio muy completo sobre GN asociadas a VHC en un grupo de 50 pacientes, investigando la presencia de VHC en tejido renal mediante las tres técnicas comentadas. En los resultados de microscopía electrónica han identificado partículas virales en la mitad de las biopsias, mientras que con RT-PCR tienen resultados positivos en el 21% de los casos. Curiosamente no encuentran depósitos en la inmunofluorescencia.

La infección por VHC se asocia con crioglobulinemia mixta. Hay datos que hacen suponer que el VHC infecta células mononucleares de sangre periférica y de la médula ósea. Probablemente, estas células B infectadas sintetizan crioglobulinas policlonales con características de factor reumatoide<sup>5</sup>. En nuestro caso, hemos documentado la presencia de crioglobulinemia mixta tipo III, con IgG e IgM policlona y baja actividad de factor reumatoide, sin lesiones histológicas sugerentes de GN crioglobulinémica. Sabry y cols.<sup>19</sup> han vuelto a demostrar que el 66% de los pacientes con GN y crioglobulinemia contienen partículas virales en el crioprecipitado.

Concluimos que los pacientes con GNMP y crioglobulinemia asociada a VHC tienen partículas de este virus en las estructuras renales. Muy posiblemente la presencia de VHC renal juega un papel importante en las lesiones glomerulares.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart J, Bacchi CE, Hartwell P, Couser W, Corey L, Wener MH, Alpers CE, Willson R: Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Eng J Med* 328: 465-470, 1993.
2. Gonzalo A, Bárcena R, Mampaso F, Zea A, Ortuño J: Membranoproliferative glomerulonephritis and hepatitis C virus infection. *Nephron* 63: 475-476, 1993.
3. Serra A, Martínez-Ocaña JC: Virus de la hepatitis C y glomerulonefritis. *Nefrología* XIV: 381-384, 1994.
4. Gumber SC, Chopra S. Hepatitis C: a multifaceted disease. Review of extrahepatic manifestations. *Ann Intern Med* 123: 615-620, 1995.

## A. TORMO y cols.

5. D'Amico G: Renal involvement in hepatitis C infection: Cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 54: 650-671, 1998.
6. Egea JJ, Rivera F, Arenas M<sup>a</sup> D, Olivares J: Nefropatía membranosa e infección por virus C. *Nefrología* XXI: 411-412, 2001.
7. Rose BD: Renal Disease with hepatitis C virus infection. En: UpToDate 10.2, Rose BD (Ed), UpToDate, Wellesley, MA, 2002.
8. Pouteil-Noble C, Maiza H, Dijoud F, MacGregor B: Glomerular disease associated with hepatitis C virus infection in native kidneys. *Nephrol Dial Transplant* 15 (Supl. 8): 28-33, 2000.
9. Hoch B, Juknevičius I, Liapis H: Glomerular injury associated with hepatitis C infection: a correlation with blood and tissue HCV-PCR. *Semin Diagn Pathol* 19: 175-187, 2002.
10. Horikoshi S, Okada T, Shirato I, Inokuchi S, Ohmuro H, Tomino Y, Koide H: Diffuse proliferative glomerulonephritis with hepatitis C virus-like particles in paramesangial dense deposits in a patient with chronic hepatitis C virus hepatitis. *Nephron* 64: 462-464, 1993.
11. Doutrélepont JM, Adler M, Willems M, Durez P, Yap SH: Hepatitis C infection and membranoproliferative glomerulonephritis. *Lancet* 341: 317, 1993.
12. Misiani R, Vicari O, Bellavita P, Sonzogni A, Marín MG: Hepatitis C virus in renal tissue of patients with glomerulonephritis. *Nephron* 68: 400, 1994.
13. Davda R, Peterson J, Weiner R, Croker B, Lau JYN: Membranous glomerulonephritis in association with hepatitis C virus infection. *Am J Kidney Dis* 22: 452-455, 1993.
14. Yamabe H, Inuma H, Osawa H, Kaizuka M, Tamura N, Tsunoda S, Fujita Y, Shiroto K, Onodera K: Glomerular deposition of hepatitis C virus in membranoproliferative glomerulonephritis. *Nephron* 72: 741, 1996.
15. Okada K, Takishita Y, Shimomura H, Tsuji T, Miyamura T, Kuhara T, Yasutomo K, Kagami S, Kuroda Y: Detection of hepatitis C virus core protein in the glomeruli of patients with membranous glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 45: 71-76, 1996.
16. Sansonno D, Gesualdo L, Manno C, Schena FP, Damacco F: Hepatitis C Virus-related proteins in kidney tissue from hepatitis C virus infected patients with cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis. *Hepatology* 25: 1237-1244, 1997.
17. Stokes MB, Chawla H, Brody RLI, Kumar A, Gertner R, Goldfarb DS, Gallo G: Immune complex glomerulonephritis in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *Am J Kidney Dis* 29: 514-525, 1997.
18. Rodríguez-Íñigo E, Casqueiro M, Bartolomé J, Barat A, Caramelo C, Ortiz A, Albalade M, Oliva H, Manzano ML, Carreño V: Hepatitis C virus RNA in kidney biopsies from infected patients with renal diseases. *J Viral Hepat* 7: 23-29, 2000.
19. Sabry AA, Sobh MA, Irving WL, Grabowska A, Wagner BE, Fox S, Kudesia G, El Nahas AM: A comprehensive study of the association between hepatitis C virus and glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant* 17: 239-245, 2002.