



Universidad del Sureste

Licenciatura en Medicina Humana

Materia:

Biología molecular

Trabajo:

Investigación

**Biología molecular del cáncer de próstata, molecular del HIV,
molecular de HCV (virus de hepatitis C), molecular de virus de**

SAR-Cov2

Docente:

Q.F.B Hugo Nájera Mijangos

Alumno:

Casto Henri Méndez Méndez

Semestre y grupo:

4 ° "A"

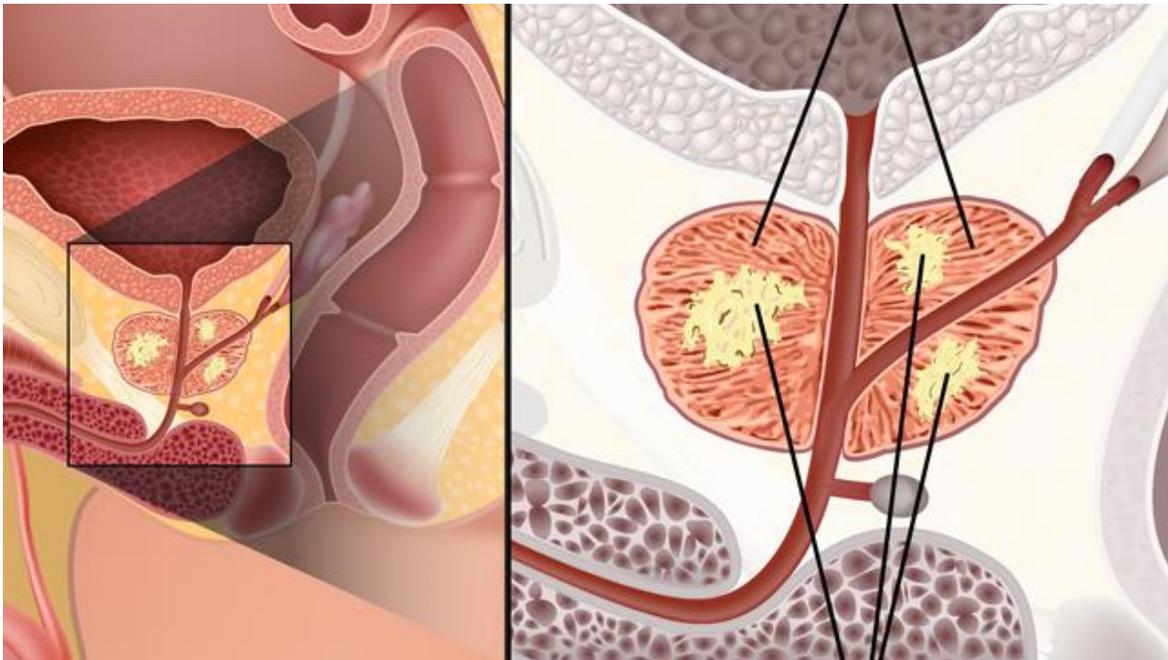
Comitán de Domínguez, Chiapas a; 22 de junio 2021

Contenido

Biología molecular del cáncer de próstata.....	4
Factores de riesgo	5
Genes alterados	5
El receptor androgénico.....	6
PTEN.....	7
p53	7
Cuadro clínico.....	8
Diagnóstico molecular.....	9
Pronóstico e historia natural	10
Tratamiento	11
Biología molecular del HIV	14
Genes alterados	15
Replicación y variabilidad	15
Cuadro clínico.....	15
Diagnóstico molecular.....	16
Marcadores inmunológicos y virológicos durante la infección	16
Técnicas de detección de infección VIH	17
Técnicas de screening: ELISA.....	18
Técnicas rápidas	19
Ensayos confirmatorios	19
Detección de antigenemia	22
Ensayos para la detección de infecciones recientes por VIH	22
Determinación de ADN proviral	23
Determinación de la viremia plasmática (carga viral).....	23
Tratamiento	25
Biología molecular de HCV (virus de hepatitis C).....	27
Genes alterados	28

Replicación: replicón subgenómico.....	31
Cuadro clínico.....	32
Diagnóstico molecular.....	34
Tratamiento	34
Biología molecular de virus de SAR-Cov2.....	36
Genes alterados	37
Proteína S	37
Enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2)	38
Cuadro clínico.....	38
Diagnóstico molecular.....	40
Tratamiento	40
Corticoides	41
Oxigenoterapia y Prono Vigil	41
Referencias.....	43

Biología molecular del cáncer de próstata.



El cáncer de próstata (CaP) “es el tumor más frecuente en varones y constituye la segunda causa de mortalidad por cáncer en varones (por detrás del cáncer de pulmón y colorrectal). Su incidencia aumenta con la edad, diagnosticándose” (American Society of Clinical Oncology, 2020).

“El cáncer de la próstata es una enfermedad que se desarrolla principalmente en varones de edad avanzada. Un 90% de los casos se diagnostican en mayores de 65 años y la edad media de diagnóstico es a los 75 años.” (Gonzales & García, 2021). A medida que los hombres envejecen, la próstata puede agrandarse y bloquear la uretra o la vejiga. Esto puede ocasionar dificultad para orinar o interferir con la función sexual. Este problema se conoce con el nombre de hiperplasia prostática benigna que a menudo precisa de la cirugía para corregirlo. Los síntomas de la hiperplasia prostática benigna o de otros problemas que afectan la glándula pueden ser similares a los síntomas del cáncer de la próstata.

Factores de riesgo

- **Edad:** La edad es el principal factor de riesgo para el cáncer de próstata. El riesgo de desarrollar un cáncer de próstata empieza a aumentar a partir de los 50 años en hombres de raza blanca y a partir de los 40 años en hombres de raza negra o con historia familiar de cáncer de próstata. La edad media de presentación es de 65 años.
- **Raza:** El cáncer de próstata es más frecuente en hombres de raza negra que en hombres de otras razas. Además, los hombres de raza negra tienen una mayor probabilidad de ser diagnosticados en una etapa avanzada, y tienen más del doble de probabilidad de morir de cáncer de próstata en comparación con los hombres blancos. Por otra parte, la tasa más baja de cáncer de próstata se observa en individuos de raza asiática.
- **Historia familiar:** El cáncer de próstata tiene un importante componente genético (en torno a un 8% de los casos). Aquellos hombres que tienen un familiar de primer grado (padre o hermano) diagnosticado de cáncer de próstata tienen más probabilidad de desarrollar la enfermedad. En el cáncer de próstata hereditario la edad de aparición del cáncer es más precoz (antes de 55 años) y a menudo los pacientes tienen familiares de primer grado afectados de cáncer de próstata. Se han descubierto genes implicados en una mayor susceptibilidad al desarrollo de un cáncer de próstata. De entre todos ellos hay que destacar BRCA1 y sobre todo BRCA2.
- **Infección e inflamación de la próstata:** Algunos estudios han sugerido que la prostatitis (inflamación de la glándula prostática) puede estar asociada a un riesgo aumentado de cáncer de próstata, aunque otros estudios no han encontrado tal asociación.

Genes alterados

Las alteraciones genéticas que conllevan al cáncer consisten en mutaciones de genes reguladores, cambios en los productos proteicos y cambios en la cantidad

de los mismos (se producen como resultado de la expresión genética). Al acumularse, estos cambios provocan que las células se vuelvan más anormales y que el desarrollo de un cáncer progrese. Puede encontrar más detalles acerca de estas transformaciones genéticas en nuestra página dedicada a las mutaciones. La siguiente lista incluye a algunos de los genes que se han demostrado ser importantes en el desarrollo del cáncer de próstata:

- Receptor androgénico
- Gen PTEN
- Gen TP53

El receptor androgénico.

Muchas de las hormonas masculinas, incluyendo la testosterona, se clasifican como andrógenos. Los receptores androgénicos (abreviados como AR por sus siglas en inglés) son proteínas celulares que regulan el crecimiento y la división de la célula. Una vez que un andrógeno entra a la célula y se adhiere a su receptor molecular, el complejo actúa como un factor de transcripción, promoviendo el crecimiento celular. Por lo tanto, estos receptores son fundamentales para la regulación del crecimiento normal de las células de la próstata.

Varias mutaciones pueden estimular una sobre-expresión del gen del receptor androgénico, resultando en un crecimiento no regulado de las células prostáticas:

El gen se puede amplificar, aumentando la expresión de este, promoviendo un crecimiento celular continuo aun cuando la cantidad de un andrógeno presente en el cuerpo es baja.

La correlación entre la expresión del gen del receptor androgénico y el cáncer de próstata ha llevado al desarrollo de antiandrógenos como opción de tratamiento.

Para más información sobre el uso de moléculas anti-androgénicas en la terapia contra el cáncer, visite nuestra página sobre los tratamientos del cáncer.

Los cánceres de próstata pueden adquirir la habilidad de crecer sin la estimulación androgénica. Estos cánceres se denominan cánceres de próstata andrógeno-independientes o andrógeno-negativos. Es poco probable que un cáncer de próstata andrógeno-independiente reaccione a una terapia anti-androgénica.

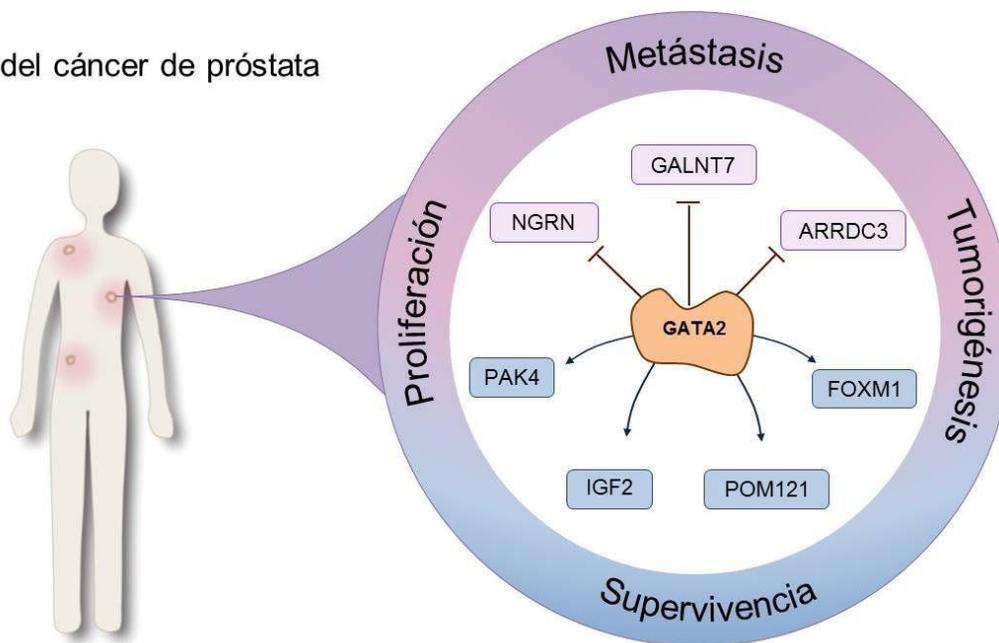
PTEN

La enzima PTEN (fosfatasa y tensina) es el producto proteico del gen PTEN, un gen de supresión de tumoral ubicado en el cromosoma 10, y sus configuraciones mutadas se encuentran presentes con frecuencia en pacientes con cáncer de próstata. Este gen es fundamental para varios mecanismos celulares, incluyendo el control del crecimiento de las células basales de la próstata. Varios ensayos clínicos realizados con ratones indican que la proliferación de estas células es un paso importante en el desarrollo inicial del cáncer de próstata.

p53

El p53 es un gen de supresión tumoral que participa en la reparación del ADN y la regulación de la apoptosis. Las mutaciones de p53 ocurren únicamente en una pequeña fracción de casos de cáncer de próstata, y usualmente están asociadas con tumores metastáticos.

Letalidad del cáncer de próstata



Cuadro clínico

Los síntomas asociados con las etapas tempranas del cáncer de próstata son pocos. Sin embargo, la mayoría de los casos de cáncer de próstata se pueden diagnosticar antes de que los síntomas se desarrollen a través del chequeo. La Sociedad americana del cáncer nombra a los siguientes síntomas asociados con las etapas tardías del cáncer de próstata:

- Incapacidad de orinar
- Flujo de orina débil o discontinuo
- Dificultad para empezar o parar el flujo de la orina
- Micción frecuente, especialmente de noche
- Sangre en la orina
- Ardor al orinar
- Dolor continuo en la espalda, pelvis y parte superior del muslo

Diagnóstico molecular

Tacto rectal.

Consiste en un examen del recto mediante el cual el médico inserta un dedo dentro de un guante lubricado en el recto y palpa la próstata a través de la pared rectal en busca de nódulos o áreas anormales. La glándula prostática se encuentra inmediatamente delante del recto, y la mayoría de los cánceres comienzan en la parte posterior de la glándula, lo que se puede palpar durante un examen del recto. Este examen es incómodo, pero no es doloroso y lleva muy poco tiempo realizarlo. Debe valorarse el tamaño, la consistencia y la movilidad de la próstata. Generalmente el cáncer se localiza principalmente en la zona periférica de la glándula así que puede ser fácilmente palpable. Un tacto rectal sospechoso es indicación de biopsia, independientemente de los niveles de PSA.

Determinación de los niveles en sangre de PSA

Prueba de laboratorio que mide las concentraciones de este marcador en sangre. Es una sustancia producida específicamente por la próstata que se puede encontrar en mayor cantidad en la sangre de los hombres que tienen cáncer de la próstata. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los niveles de PSA también se puede elevar en una infección o una inflamación de la próstata como la hiperplasia prostática benigna (aumento de tamaño de la próstata de origen no canceroso). Hay mucha controversia acerca de la conveniencia o no de realizar la prueba de PSA de manera rutinaria en la población general para la detección precoz a partir de los 50 años, sin embargo, en pacientes con criterios de riesgo para desarrollar la enfermedad (aquellos con historia familiar o portadores de mutación en genes de predisposición) si es recomendable hacer una determinación periódica acompañada de un tacto rectal a partri de los 40-45 años.

Biopsia prostática guiada por ecografía transrectal (EcoTR)

La EcoTR es un procedimiento que consiste en insertar en el recto una sonda que tiene aproximadamente el tamaño de un dedo para examinar la próstata. La sonda emite ondas sonoras en el recto que rebotan en la próstata y crean ecos que son captados por la sonda. Un ordenador convierte el patrón de ecos en una imagen blanca y negra de la próstata. El procedimiento sólo dura unos minutos y provoca algo de presión durante la introducción de la sonda en el recto, pero usualmente este procedimiento no causa dolor. La ecografía transrectal no se usa como prueba de detección precoz del cáncer de próstata, ya que a menudo no muestra el cáncer precoz o incipiente. Para realizar la biopsia guiada con EcoTR se utilizará anestesia local y se realizará de zonas sospechosas o de forma estandarizada de la base, zona media y apical de ambos lóbulos, se toman entre 8 y 12 muestras (cilindros), sobre todo si la glándula está muy aumentada de tamaño.

RNM pélvica multiparamétrica

Procedimiento en que se utiliza un imán, ondas de radio y una computadora para crear una serie de fotografías detalladas de zonas internas del cuerpo. Puede ser útil para localizar el tumor primario y valorar la extensión locorregional (afectación extracapsular e invasión de las vesículas seminales). También se utilizará en los pacientes que precisen segunda biopsia por elevación persistente de PSA.

Pronóstico e historia natural

El proceso que se emplea para definir si el cáncer se ha extendido dentro de la próstata o a otras partes del organismo se llama estadificación. Es importante conocer el estadio o etapa de la enfermedad con el fin de planificar el tratamiento. Los siguientes procedimientos se emplean para determinar el estadio en que se encuentra el cáncer de la próstata:

Gammagrafía ósea o exploración ósea con isótopos

Procedimiento para determinar la presencia de células que se dividen rápidamente en el hueso como las cancerosas. Se inyecta una pequeña cantidad de material radiactivo en una vena y este se distribuye a través de todo el torrente sanguíneo. El material radiactivo se deposita en los huesos y si hay metástasis se producen acúmulos patológicos que se detectan con un escáner.

Tomografía axial computerizada (TAC)

Procedimiento mediante el cual se toman una serie de fotografías detalladas del interior del cuerpo, desde ángulos diferentes. Las imágenes son creadas por una computadora conectada a una máquina de rayos X. Se inyecta un contraste en una vena o se ingiere, de modo que los órganos o los tejidos se pueden diferenciar bien unos de otros. Se utiliza para descartar extensión del tumor a los ganglios linfáticos o a otros órganos, ya sea por continuidad o a distancia.

Resonancia nuclear magnética

Procedimiento en que se utiliza un imán, ondas de radio y una computadora para crear una serie de fotografías detalladas de zonas internas del cuerpo. Es útil como se ha comentado previamente en la evaluación de la extensión del tumor dentro de la pelvis y también en caso de metástasis óseas en columna vertebral para descartar afectación de las raíces nerviosas y de la médula espinal.

Tratamiento

Existen tres estrategias consideradas estándar para el manejo del cáncer de próstata localizado:

- Cirugía
- Radioterapia con/sin hormonoterapia
- Observación vigilada o vigilancia activa

La elección del tratamiento depende de varios factores:

- La probabilidad de que el tumor esté limitado a la glándula prostática y por lo tanto sea potencialmente curable.
- El tamaño tumoral y el grado histológico (grado de agresividad del tumor).
- Edad del paciente y estado general, así como enfermedades asociadas.
- Potenciales efectos secundarios de las diferentes formas de tratamiento.
- Evaluación pretratamiento

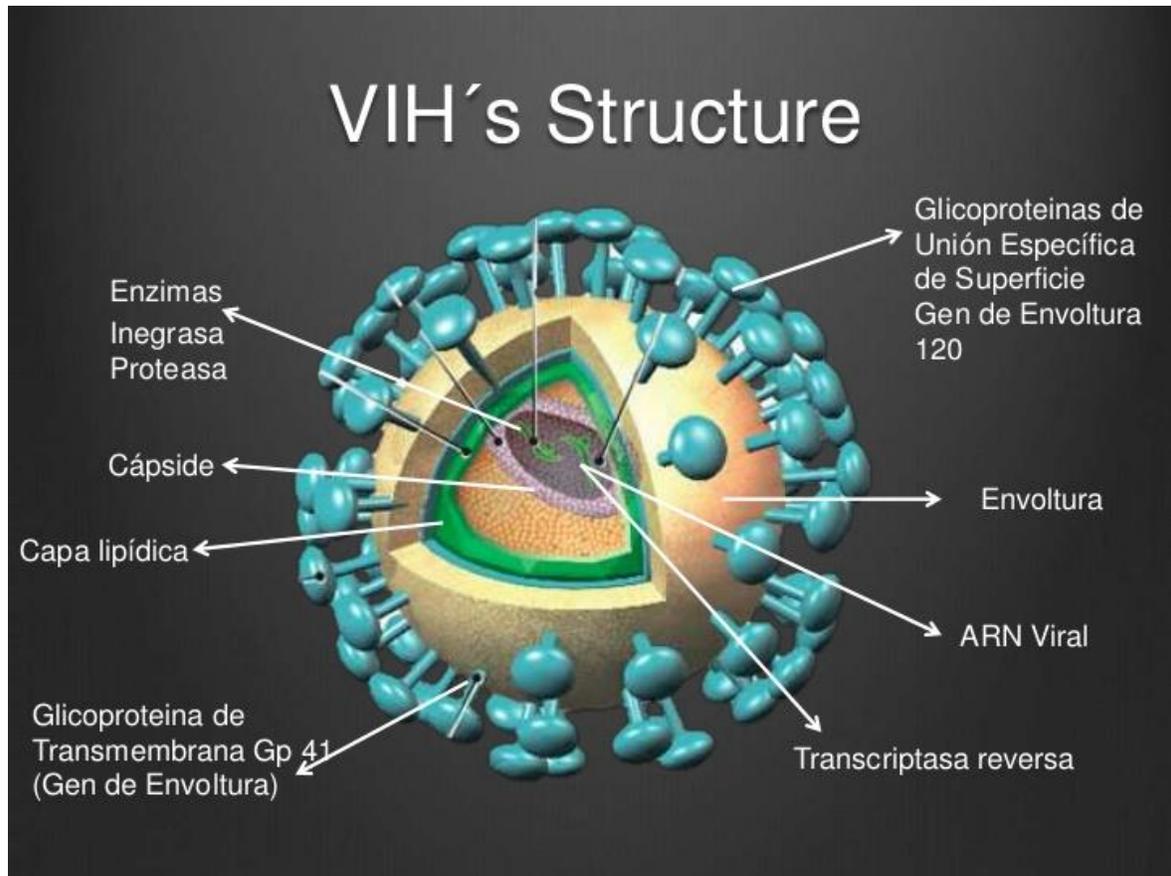
Antes de elegir la mejor opción terapéutica es primordial que la extensión de la enfermedad esté correctamente evaluada.

Los más importantes factores para predecir la evolución de la enfermedad antes del tratamiento son el estadio, el nivel de PSA en sangre, el volumen tumoral (nº de biopsias positivas y porcentaje del material obtenido en la biopsia que está afectado por el tumor) y el grado de agresividad del tumor, referido como puntuación de Gleason.

Tumor Primario (T)	Ganglios Linfáticos (N)	Metástasis a Distancia (M)
<p>Tx: No se puede evaluar el tumor primario.</p> <p>T0: No hay signos de tumor.</p> <p>T1: Tumor subclínico que no es evidente por tacto ni por estudios de imágenes.</p> <p>T2: Tumor limitado a la próstata.</p> <p>T3: Tumor se extiende a través de la cápsula prostática.</p> <p>T4: Tumor invade tejidos adyacentes.</p>	<p>Nx: No se puede valorar los ganglios regionales.</p> <p>N0: No hay metástasis en los ganglios regionales.</p> <p>N1: Metástasis a ganglios regionales.</p>	<p>M0: No hay metástasis a distancia.</p> <p>M1: Presencia de metástasis a distancia.</p>

*Tomado del manual de oncología clínica. 7ª edición. España. 2014.

Biología molecular del HIV



El virus de inmunodeficiencia humana (VIH), causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), ha constituido desde su emergencia hace 2 décadas, un enorme desafío a la investigación biomédica. Utilizando una amplia gama de recursos para interferir y evadir la respuesta inmune normal, infecta las células CD4+, ingresa a ellas a través de sus receptores de superficie, y expresa una alta frecuencia de mutación lo que le permite cambiar repetidamente sus determinantes antigénicos. Los VIH tipo 1 y 2 corresponden a lentivirus, los cuales, junto a los oncornavirus y espumavirus integran la familia de retrovirus RNA humanos.

Genes alterados

Replicación y variabilidad

Una de las características de la replicación de los retrovirus y en particular del VIH-1 es su gran capacidad de variabilidad. El proceso de retrotranscripción tiene una relativa alta tasa de error (1 de cada 104 nucleótidos) a lo que se añade la facilidad para la recombinación de fragmentos genómicos si varias partículas infectan la misma célula. Si consideramos que en un paciente infectado se producen partículas diarias, las posibilidades de que ocurra un cambio en una posición determinada son muy altas. El VIH-1 se caracteriza por una elevada heterogeneidad genética lo que favorece que en la población de virus de un mismo individuo existan genomas relacionados entre sí, pero no idénticos y que se conocen como cuasiespecies víricas. Evolutivamente, la existencia de cuasiespecies es la consecuencia del proceso continuo de mutación, competición y selección de los genomas mejor adaptados a las condiciones que rodean al virus como puede ser la presión selectiva ejercida por el sistema inmune o la presencia de fármaco.

Cuadro clínico

La infección inicial, que puede cursar en muchos casos sin producir síntomas, puede también provocar en muchos otros un cuadro clínico parecido al de la mononucleosis infecciosa, consistente en fiebre, inflamación de los ganglios del cuello, malestar y erupción cutánea.

En la fase crónica o de latencia, la mayoría de los enfermos no presentan ningún síntoma. Algunos, en especial los drogadictos, pueden presentar una cifra baja de plaquetas. Un número pequeño de pacientes puede presentar alteraciones del sistema nervioso central o periférico.

La fase final se caracteriza por un deterioro progresivo del estado general, que tiene como manifestaciones más frecuentes la pérdida de apetito,

adelgazamiento, fiebre y diarrea. Aparecen entonces las infecciones oportunistas (neumonía por *Pneumocystis carinii*, tuberculosis, infecciones por hongos y virus), los tumores malignos (sarcoma de Kaposi, más frecuente en homosexuales, linfomas de Hodgkin o no hodgkinianos, cáncer de cuello uterino y de la región ano-rectal); y los trastornos neurológicos.

Los síntomas más habituales son:

- Fiebre.
- Inflamación ganglios del cuello.
- Malestar.
- Erupción cutánea.
- Pérdida de apetito.

Diagnóstico molecular

Marcadores inmunológicos y virológicos durante la infección

En el curso de la infección se pueden utilizar varios marcadores víricos para identificar la infección y monitorizar su tratamiento. La cinética y el momento de aparición de cada uno de ellos es distinto, y la elección del marcador a detectar va a depender del objetivo del diagnóstico. El primer marcador que aparece tras la infección es el ARN-VIH que se puede detectar por técnicas de amplificación aproximadamente a las dos semanas de la infección, generalmente a los 10-12 días. Prácticamente al mismo tiempo que el ARN-VIH, se puede detectar el ADN de VIH integrado en el genoma celular (ADN proviral). El antígeno p24 aparece en suero a los 11-13 días, y se puede detectar, con las técnicas de máxima sensibilidad, aproximadamente durante 1 mes y medio. Los anticuerpos se detectan en el suero a las tres o cuatro semanas de la infección, con una media de 22 días, y alcanzan su concentración máxima a las 10-12 semanas. Cuando aparecen los anticuerpos, disminuyen los niveles de viremia y desaparece el antígeno p24 como consecuencia de la formación de inmunocomplejos.

El intervalo de tiempo que existe entre la infección y la aparición de anticuerpos o seroconversión, se conoce como período ventana, y se caracteriza por presencia de ADN proviral, ARN-VIH, antígeno p24 y ausencia de anticuerpos específicos.

Técnicas de detección de infección VIH

El diagnóstico de infección se realiza detectando la presencia de anticuerpos específicos ya que estos se encuentran en el suero prácticamente en el 100% de las personas infectadas.

Con objeto de minimizar el riesgo de obtener un resultado falsamente negativo todas las técnicas son extremadamente sensibles, y capaces de detectar anticuerpos de baja avidéz por antígeno que se producen sólo en las fases tempranas de la infección. La sensibilidad es del 99%, hay que señalar que es imposible conseguir un 100% porque la seroconversión no ocurre hasta las 3-4 semanas y además pueden existir infectados seronegativos como consecuencia de defectos inmunitarios.

El incremento de la sensibilidad lleva aparejado un descenso de la especificidad (se producen falsos positivos), aunque las técnicas actuales cifran la especificidad en torno al 99%. Por otro lado, a menor prevalencia de la infección VIH en la población estudiada, disminuye el valor predictivo positivo y es por tanto mayor la probabilidad de que se produzcan resultados falsos positivos con tasas de infección por VIH bajas. Por ello, todo resultado positivo debe ser confirmado mediante un test confirmatorio.

Técnicas de screening: ELISA

La calidad diagnóstica del ELISA viene determinada por una cuidada selección del punto de corte o “cut-off” y sobre todo por la base antigénica utilizada que captura los anticuerpos específicos presentes en la muestra. Las primeras técnicas se desarrollaron en 1985, usaban como base antigénica un lisado vírico, y se detectaban los anticuerpos a los 40 días de la infección. En 1987 se introdujeron las técnicas de segunda generación que incorporaban como antígenos proteínas recombinantes y péptidos sintéticos, y nuevos antígenos que permitieron detectar anticuerpos frente a todos los subtipos M, y los grupos N y O, y frente a VIH-2. Se consiguió incrementar la sensibilidad, detectándose los anticuerpos a los 33-35 días tras la infección. En 1994 las técnicas de ELISA adquirieron el formato “en sándwich”, se denominaron ELISA de tercera generación, detectan anticuerpos de clase IgG e IgM, y por ello se acorta el período ventana a 22 días. Estas técnicas se han modificado utilizando sustratos fluorescentes (ELFA) o formatos de quimioluminiscencia, lo que permite la automatización, el procesamiento de un gran número de muestras, la reducción de manipulación y de los costes. Recientemente se han introducido las técnicas de cuarta generación que permiten la detección simultánea de anticuerpos y antígeno p24, reduciéndose el período ventana a 13-15 días, es decir, se aproxima casi a la detección de ARN-VIH4. Con estas técnicas la sensibilidad se incrementa hasta un 99,9% lo que reduce la posibilidad de un resultado falsamente negativo, esto indica que en principio un resultado negativo no requiere confirmación ni seguimiento serológico, excepto en personas con alto riesgo de adquirir la infección⁶. Hay que tener en cuenta, que se pueden producir falsos negativos en fases iniciales de la infección hasta que se produce la seroconversión, en estadios finales de la misma, en pacientes con tratamiento inmunosupresor, trasplantados de médula ósea, personas con alteraciones de linfocitos B, en pacientes con hipogammaglobulinemia, infectados por tipos de VIH no detectados por la base antigénica, o por un error en la identificación de la muestra. La especificidad se sitúa entre el 99,5% y 99,9% y se pueden producir

falsos positivos como consecuencia de reconocimientos no específicos de sustancias del suero por los antígenos víricos de la base antigénica

Técnicas rápidas

A veces se pueden plantear situaciones urgentes y por ello se han desarrollado técnicas de ejecución rápida, que no necesitan aparataje y se pueden interpretar a simple vista. Se basan en la aglutinación de partículas sensibilizadas de látex, o eritrocitos, técnicas de Dot-inmunoensayo y de inmunocromatografía capilar⁷. La sensibilidad oscila entre el 85-99%^{8,9}, y la especificidad entre el 93-99%. Se suelen producir falsos negativos en muestras con bajo nivel de anticuerpos o estadios recientes de infección¹⁰, y falsos positivos en regiones con alta prevalencia de anticuerpos¹¹.

Ensayos confirmatorios

Las técnicas confirmatorias que se utilizan más frecuentemente son el Western Blot (WB) y el inmunoblot recombinante o inmunoensayo en línea (LIA) que tienen como mínimo la misma sensibilidad que el ELISA y una especificidad superior. Ambas técnicas pueden incorporar antígenos de envoltura de VIH-2 lo que permite diagnosticar este tipo vírico.

El Western Blot es una metodología en la cual las distintas proteínas víricas se separan en función de su peso molecular mediante electroforesis en gel de poliacrilamida y se transfieren a una membrana de nitrocelulosa sobre la que se añade e incuba el suero del paciente, la unión antígeno-anticuerpo se detecta mediante una técnica de ELISA. Si el suero posee anticuerpos frente a una proteína se produce una banda coloreada que define la reactividad en WB. Detecta anticuerpos frente a las glicoproteínas de envoltura gp160, gp120 y gp41, las codificadas por el gen gag p55, p24 y p17 y las proteínas enzimáticas p66, p51 y

p311. Existen casas comerciales que incluyen al menos una proteína del gen env de VIH-2 lo que permite identificar las infecciones producidas por dicho tipo vírico.

En el momento actual esta metodología se ha semiautomatizado lo que facilita su realización, pero los resultados pueden ser subjetivos, ya que lectura se basa en la observación de la presencia de bandas coloreadas que corresponden a las distintas proteínas víricas. Por ello, en cada laboratorio se debe establecer una disciplina de lectura de reactividades.

La “interpretación” de los resultados es uno de los mayores puntos conflictivos en la serología VIH, se considera negativo la ausencia total de reactividad; para valorar la positividad existen numerosos criterios, según el Center for Disease Control (CDC) se considera positivo cuando se detectan al menos 2 bandas de p24, gp41, y gp160/gp120, la OMS reconoce una prueba positiva con 2 bandas, el ARC (Cruz Roja Americana) indica que deben existir tres bandas una de cada gen estructural, y el Consorcio de Estandarización de la Serología de Retrovirus indica que debe existir al menos una de gp120 o gp160 y una de p24 o p3. Cada laboratorio debe establecer sus propios criterios de acuerdo a las indicaciones de la técnica que se utilice. Se interpreta como “indeterminado” cualquier reactividad que no reúna el criterio mínimo de positividad y es en esta categoría donde surgen mas controversias ya que las causas del WB indeterminado son diversas y pueden corresponder a fases tempranas o estadios avanzados de la infección con deterioro inmunológico grave, y presencia de inmunocomplejos que pueden reducir los anticuerpos circulantes, recién nacidos de madre VIH positiva, a sueros hemolizados, inactivados por calor, con factor reumatoide, o con bilirrubina elevada, a reacciones cruzadas con otros retrovirus, sueros de pacientes infectados por subtipo no B o con hipergammaglobulinemia secundaria a la hiperestimulación antigénica, multitransfundidos, o a situaciones patológicas como conectivopatía, gammapatía policlonal y lupus eritematoso diseminado⁵. La posibilidad de un WB indeterminado o incluso negativo se incrementa cuando se realiza el screening con

técnicas de cuarta generación, debido a que las mismas detectan antígeno y la positividad de de dicha técnica puede deberse casi exclusivamente a antígeno p24 libre sérico. Por todo ello, un resultado indeterminado debe ser evaluado minuciosamente valorando la historia clínica del paciente, las prácticas de riesgo y la posibilidad de una infección reciente por VIH. Es importante observar el patrón de reactividades ya que si se detecta alguna banda de envoltura con o sin bandas del gen gag, puede deberse a infección VIH, en estas situaciones se debe de recurrir a otras pruebas confirmatorias (LIA o IFI) y en ocasiones es necesario complementarlas con la determinación de ADN proviral o carga viral o antígeno p24 libre sérico para valorar una posible primoinfección. En cualquier caso ante un Western Blot indeterminado se debe solicitar siempre una nueva muestra.

En la repetición con el nuevo suero, pueden existir varias posibilidades, la primera es que la técnica de screening se mantenga positiva y no se detecten cambios en el WB respecto al primero, o incluso se produzca una disminución en el número de bandas y en intensidad, en este caso la posibilidad de una reacción inespecífica es alta, y el paciente debe ser tranquilizado. Se debe solicitar una nueva muestra en un mes y comprobar que las bandas se mantienen o desaparecen para dar una respuesta final. Hay que destacar, que en la mayoría de casos estas situaciones se producen en sueros con valores muy cercanos al punto de corte en las técnicas de screening. Si en el suero de repetición la técnica de screening se mantiene positiva y se observan más bandas y un incremento en la intensidad de las mismas, probablemente sea debido a una seroconversión, en cuyo caso se informará como positivo si reúne los criterios de positividad, o se solicitará una nueva muestra si sigue interpretándose como indeterminado⁶. El CDC recomienda realizar un seguimiento de 6 meses en los WB indeterminados, y si el patrón de WB se mantiene estable, el resultado se debe considerar negativo en individuos sin sintomatología y riesgo bajo de infección.

Detección de antigenemia

La detección de anticuerpos específicos, indican exposición al virus e infección, y la detección directa del antígeno viral p24 introduce un concepto dinámico en la serología ya que al ser un índice de replicación viral, aporta información sobre el estado actual de la infección. Se detecta en estadios iniciales de infección, o en evolución a SIDA, y sirve de apoyo al diagnóstico serológico en aquellas situaciones en las que la detección de anticuerpos no es concluyente⁸.

El antígeno p24 se puede determinar en suero y plasma con técnicas de ELISA de captura que aumentan la sensibilidad que en el momento actual puede llegar a ser de 8 pg/ml, lo que según algunos estudios puede equivaler a 5.000-10.000 copias de ARN de VIH.

Ensayos para la detección de infecciones recientes por VIH

La identificación de infecciones recientes es importante para conocer el patrón de transmisión de VIH en una comunidad o población. En la primera fase de la infección existen títulos bajos de anticuerpos y anticuerpos de baja avidéz; cuando la infección progresa la concentración de anticuerpos y la avidéz de los mismos se incrementa. Los métodos que permiten diferenciar una infección reciente de una crónica basados en la detección de anticuerpos se agrupan bajo el término STARHS (algoritmo serológico para la detección de infección reciente por el VIH) que se basa en la aplicación de dos técnicas de ELISA para detectar anticuerpos VIH, una de ellas modificada para que sea menos sensible. Se considera una infección reciente si la muestra es positiva para ELISA convencional y negativa en el ELISA modificado de baja sensibilidad⁹. También se pueden identificar infecciones recientes usando el índice de avidéz. Para ello se procesa el suero por duplicado (diluido con PBS y tratado con guanidina que interfiere en la unión antígeno-anticuerpo de baja avidéz). Tras el procesamiento de ambos sueros se calcula el índice de avidéz dividiendo la señal obtenida del suero tratado con PBS/guanidina. Si el índice es $< 0,6$ se puede considerar con una probabilidad

elevada que la infección ha ocurrido en los 6 meses anteriores¹⁵. Hay que destacar, que estas técnicas se utilizan con fines epidemiológicos, para conocer el patrón de transmisión de VIH y poder diseñar medidas preventivas adecuadas.

Determinación de ADN proviral

El ADN proviral se corresponde con el genoma viral integrado en el genoma de la célula a la que el virus infecta. En la actualidad, esta determinación está siendo reemplazada por la determinación de carga viral (ARN-VIH), en gran parte debido a las dificultades de disponer de ensayos comerciales para determinar ADN proviral, con suficientes controles de calidad y certificación por agencias reguladoras, además de que para su realización se debe utilizar sangre total. Sin embargo, es la determinación de referencia a la hora de utilizar los métodos moleculares para diagnosticar la infección VIH. En este sentido juega un papel importante para complementar aquellas situaciones diagnósticas en las que la serología no es concluyente. Se puede utilizar para valorar la transmisión madre-hijo en el diagnóstico de la transmisión vertical de VIH y para el seguimiento de la profilaxis post-exposición, aunque, como veremos a continuación, la mayoría de los laboratorios utilizan la carga viral de VIH en estos escenarios.

Determinación de la viremia plasmática (carga viral)

La viremia plasmática o carga viral del VIH se define como el número de copias de ARN del virus que se encuentra presentes en plasma. Su determinación, junto con la cifra de linfocitos CD4 y la situación clínica del paciente, se emplea para establecer las decisiones terapéuticas y para la monitorización del tratamiento antirretroviral¹⁶. Es uno de los factores a valorar para decidir si se debe iniciar el tratamiento, si bien el principal indicador en estos casos es el recuento de linfocitos CD4¹⁷.

El objetivo del tratamiento es reducir la carga viral de modo rápido por debajo de los límites de detección (< 50 copias/mL) y mantenerla suprimida el mayor tiempo posible, ya que con este nivel de carga viral se ha demostrado que no se seleccionan mutaciones de resistencia. Una vez instaurado el tratamiento, la carga viral disminuye rápidamente (1-2 log₁₀) en las primeras semanas y algo más lentamente a partir del primer mes de tratamiento, si el régimen no incluye un inhibidor de la integrasa, hasta conseguir un nivel estable por debajo del límite de detección que se correlaciona con una mayor duración de la respuesta virológica. En general, se recomienda una determinación al comienzo del tratamiento, y después a las 4 semanas, y cada 4-8 semanas hasta conseguir la supresión. El seguimiento posterior se debería realizar cada 3-4 meses durante al menos el primer año¹⁸. La potencia, eficacia, tolerabilidad y facilidad de dosificación de los nuevos tratamientos, además de la situación económica actual están planteando la revisión de estas pautas de monitorización. De hecho, una vez que la replicación viral es suprimida, los intervalos de monitorización se pueden extender hasta los 6 meses entre los pacientes que permanecen virológicamente suprimidos y tienen un nivel de recuento de CD4 por encima de los 350 células/ μ l. Se requiere una monitorización más estrecha en aquellos pacientes que han necesitado cambiar su tratamiento debido al fracaso virológico¹⁹.

En la actualidad existen diversas técnicas para la cuantificación de la carga viral que tan solo difieren en sus formatos, tiempos y capacidad de procesamiento. Algunas permiten la detección hasta un nivel de 20 copias de ARN de VIH por mililitro de plasma, sin embargo, todavía se desconocen las implicaciones clínicas de una viremia entre 20 y 50 copias/ml. En el mercado existen sistemas basados en la amplificación de la señal (branched-DNA) o en la amplificación de la secuencia (RT-PCR en tiempo real, NASBA y LCx). Las técnicas de transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) en tiempo real basadas en sondas fluorescentes son, en general, más rápidas y permiten rangos dinámicos más

amplios (20-107 copias/ml). Todas las técnicas detectan y cuantifican el subtipo B, que es el más prevalente en nuestro medio, así como los subtipos circulantes más frecuentes. Sin embargo, ninguna de las técnicas detecta el VIH-2. Por último, se han desarrollado ensayos, no comerciales y utilizados en investigación, que permiten detectar una sola copia de ARN-VIH-120

Es necesario destacar, que la elevada sensibilidad de los ensayos de cuantificación de la carga viral del VIH puede originar un uso inapropiado del mismo, como ocurre cuando se utilizan para el diagnóstico precoz de la infección por VIH. Las pruebas de carga viral no han sido desarrolladas con una especificidad suficiente y pueden causar falsos positivos²¹, en estas situaciones es preferible utilizar otras pruebas genéticas de tipo cualitativo con sensibilidad y especificidad ampliamente demostrada, como el ADN proviral. Sin embargo, existen situaciones especiales en que la determinación de la carga viral se pueda usar como diagnóstico de la infección por VIH, como es el caso de niños recién nacidos de madres seropositivas o en la primoinfección, cuando el diagnóstico serológico está comprometido. Se considerarán válidos sólo aquellos resultados en los que el nivel de viremia sea elevado, si no es preferible descartar la infección mediante el uso de otras pruebas.

Tratamiento

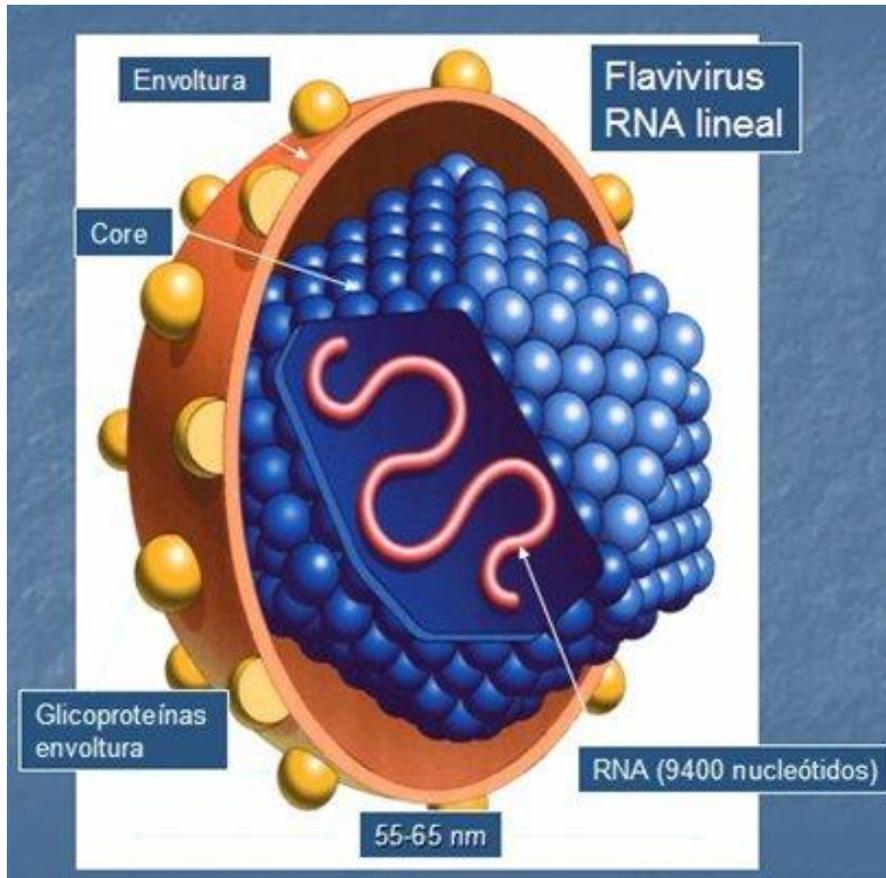
Existen dos clases de fármacos inhibidores de la transcriptasa reversa: los análogos de nucleósidos y los no análogos de nucleósidos.

Los primeros son activados metabólicamente en las células por fosforilación; una vez activados, estos análogos funcionan como terminadores de la polimerización. A este grupo pertenecen la 3'-acido-3'-deoxitimidina (AZT) y el 2', 3'-dideohydro-3'-deoxytimidina (d4T), derivados de nucleósido desoxitimidina; el 2', 3'-dideoxicitidina (ddC) y (-)-2'-deoxi-3'-thiacitidina (3TC) que derivan del nucleósido desoxicitidina, y la dideoxiinosina (ddI) que deriva de la desoxiguanosina. Aun

cuando todos estos compuestos están licenciados para el tratamiento de la infección por HIV-1 en humanos, los mejores resultados se han obtenido con las terapias que combinan AZT y 3TC. Esta combinación reduce eficientemente la carga viral y aumenta las células CD4+ con una menor toxicidad para el paciente, debido en parte, a la dificultad de selección de virus resistentes a ambas drogas. Quizás el resultado más promisorio del uso del análogo AZT ha sido la reducción de la transmisión materno-infantil, pues la administración de esta droga a las madres HIV-positivas en los últimos meses de embarazo y durante las 6 primeras semanas de vida al recién nacido, ha reducido la frecuencia de transmisión viral en casi un 70%. Hasta la fecha esta es la intervención clínica más exitosa de una terapia antirretroviral. Los resultados alentadores obtenidos con una combinación de drogas más efectiva sugieren que en el futuro se podría prevenir por completo la transmisión materno-infantil.

Los inhibidores no análogos de nucleósidos son estructuralmente diversos, pero todos inhiben la transcriptasa viral en forma no competitiva y específica. A diferencia de los análogos de nucleósidos no necesitan ser activados por fosforilación y son bien tolerados. Entre los compuestos aprobados para su uso en humanos se encuentran: nevirapina, 9-cloro tibo, las pyridonas; L697 y L661, delaverdina, y a-APA R89439. Aunque la emergencia de resistencia a estas drogas se produce rápidamente, en combinación son muy efectivos y constituyen una alternativa en pacientes en quienes la terapia exclusiva con análogos de nucleósidos ha perdido efectividad.

Biología molecular de HCV (virus de hepatitis C)



El VHC es un virus de ARN de simple cadena, de polaridad positiva, que se clasifica dentro del género Hepacivirus de la familia Flaviviridae. En el virión, la cadena simple de ARN está protegida por una cápside proteica que, a su vez, está cubierta

por una envoltura, como demuestra el hecho de ser sensible al cloroformo. La envoltura viral está compuesta por elementos virales y del hospedero.

Se ha demostrado la existencia de partículas icosaédricas de 50-75 nm aproximadamente y otras más pequeñas de 30-35 o 45-55 nm, en estudios de microscopia electrónica de partículas de VHC en suero, extracto de hígado o en líneas de células B o T humanas, infectadas de manera ineficiente con suero de VHC in vitro. Los análisis demostraron que la densidad de los viriones del VHC puede variar considerablemente desde 1.03 a 1.20 g/mL.

Genes alterados

Las 6 proteínas restantes son proteínas no estructurales cuya función se centra básicamente en el procesamiento de la poliproteína y en la replicación viral. La proteína NS2 junto con el dominio aminoterminal de NS3 forma la proteasa NS2-NS3, una proteasa dependiente de cinc que procesa el lugar de corte entre NS2 y NS3. Además, NS2 interacciona molecularmente con p7 y E2 y tiene un papel crucial en la producción de viriones. La proteína NS3 contiene un dominio serina proteasa en el extremo aminoterminal y un dominio helicasa/ATPasa en el extremo carboxiterminal. La NS4A es un cofactor que se asocia a la proteasa NS3. La proteasa NS3-NS4A es esencial para el ciclo de vida del VHC, catalizando el procesamiento del resto de las proteínas no estructurales en los sitios NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A y NS5A/NS5B. Por este motivo, la proteasa NS3-NS4A es una de las dianas virales más interesantes en la terapia contra el VHC.

La NS4B es una proteína integral de membrana altamente hidrofóbica, en la que se predicen 4 dominios transmembrana y un extremo N-terminal implicado en la unión a las membranas intracelulares. Su principal función es alterar las membranas intracelulares y formar una red de membranas tipo «andamio» denominada membranous web que es esencial para la formación del complejo de replicación. La NS5A es una metaloproteasa dependiente de cinc muy fosforilada, cuya función en el ciclo de vida del VHC no está claramente definida. Sin embargo, diversos estudios demuestran que, además de desempeñar un papel importante en la replicación viral y en la producción de partículas infecciosas, interacciona con un gran número de proteínas celulares, regulando diversas vías de señalización. La NS5B es la polimerasa viral. Es una ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), que se ha demostrado que es capaz de sintetizar ARN de novo y dependiente de cebador (primer). Tiene la estructura típica de las polimerasas (estructura de mano derecha), con los dominios dedos, palma y pulgar. La interacción entre los dominios

dedos y pulgar sitúa el centro catalítico en la base de la palma, haciendo posible la síntesis del ARN de cadena positiva y negativa del VHC.

Además de las 10 proteínas codificadas en el marco de lectura abierto, se ha descrito la existencia de una forma diferente de la proteína core originada a partir del desplazamiento a través de desplazamientos del marco de lectura del ribosoma. La proteína F (frameshift) o ARFP (alternate reading frame protein) es una proteína quimérica que contiene los aminoácidos de los extremos N-terminal y C-terminal de core y una nueva parte central codificada por el marco de lectura +1. Esta proteína se expresa de manera natural durante la infección por el VHC de genotipo 1a, ya que se han encontrado anticuerpos antiproteína F.

Las VHCpp se producen mediante la cotransfección de células 293T (células embrionarias de riñón humano) con vectores de expresión que codifican para:

- a) Las glucoproteínas del VHC
- b) Las proteínas retrovirales (cápside y polimerasa) y la señal de empaquetamiento
- c) Un gen reportero (luciferasa o proteína verde fluorescente, GFP).

Los vectores retrovirales utilizados para la producción de las VHCpp están basados en el virus de la leucemia murina (MLV) o en el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1). Las VHCpp son secretadas al medio de cultivo y a partir de las 48h después de la transfección, se recogen los sobrenadantes y se utilizan para infectar las células diana como, por ejemplo, Huh7 y sus derivadas.

La infectividad de las VHCpp ha sido analizada en diversas líneas celulares y en cultivos primarios de hepatocitos humanos. Curiosamente, las VHCpp presentan un tropismo claro por las líneas celulares de origen hepático y por los hepatocitos humanos, mientras que, en general, en las líneas celulares que no son de origen hepático o bien no se infectan o bien la infección es mínima.

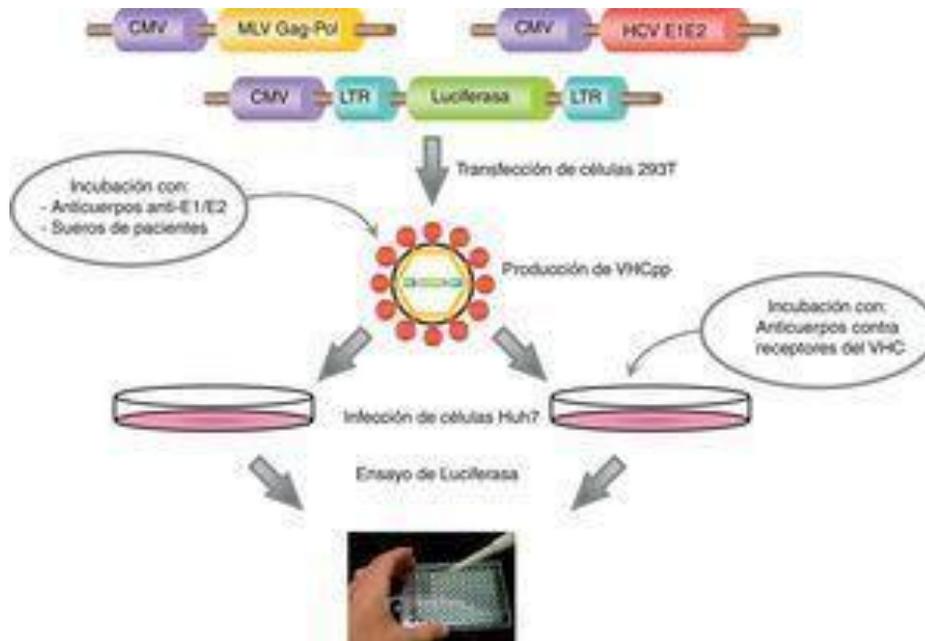
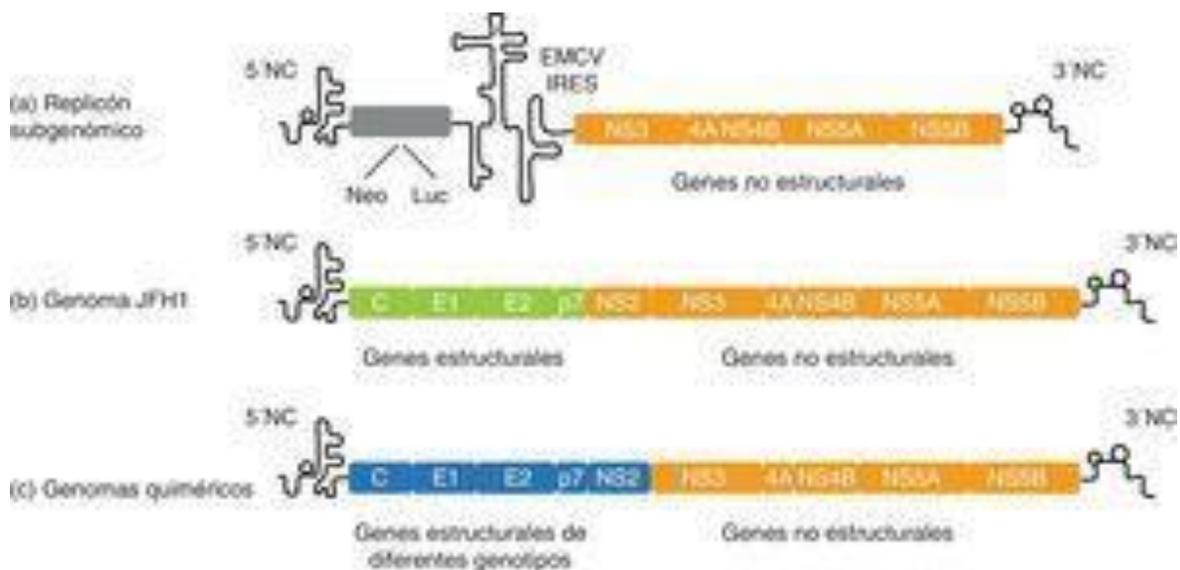


Diagrama de la producción de VHCpp mediante la cotransfección de células 293T con 3 plásmidos que contienen los genes que codifican para las glucoproteínas de la envuelta del VHC, la cápside retroviral y la señal de empaquetamiento, y un gen reportero (luciferasa). Las VHCpp secretadas al medio de cultivo pueden utilizarse para infectar células diana (por ejemplo, Huh7, Huh7.5, etc.). Asimismo, también es posible realizar ensayos de neutralización bien preincubando las VHCpp con anticuerpos anti-E1/E2 o sueros de pacientes infectados, o bien preincubando las células diana con anticuerpos contra los receptores de la entrada del VHC.

Cabe destacar que el sistema VHCpp sirve únicamente para el estudio de la entrada del VHC en sus células diana. Aun así, se ha utilizado con éxito para el estudio de los procesos inmediatos a la unión del virus a la célula y en la identificación de los receptores clave en la entrada viral, revelando que la entrada del VHC en los hepatocitos es un proceso muy complejo y muy regulado.

Replicación: replicón subgenómico

En el año 1999 se produjo un gran avance en el campo de la biología molecular del VHC cuando Lohmann et al. desarrollaron los primeros replicones subgenómicos funcionales del VHC. Por definición, los replicones son moléculas de ácidos nucleicos capaces de autoduplicarse. En caso del VHC, los replicones de primera generación fueron derivados de un genoma del VHC de genotipo 1b (denominado Con 1) en el que se reemplazaron los genes estructurales por un gen de resistencia a la neomicina (neomicina fosfotransferasa). También se incluyó un segundo elemento IRES para aumentar la traducción de las proteínas no estructurales del VHC, que constituyen la maquinaria de replicación del virus. Así pues, estas construcciones subgenómicas y bicistrónicas pueden autorreplicarse, a través de la síntesis de una cadena negativa, y propagarse en cultivo celular durante años. Las líneas celulares más permisivas para ello son Huh7.5 y Huh7-Lunet.



Representación esquemática del replicón subgenómico del VHC y cultivo celular del VHC basado en JFH1.

- a) Ejemplo de un replicón subgenómico bicistrónico compuesto por: el extremo 5' no codificante (NC) dirigiendo la traducción del gen marcador o de selección, el IRES del virus de la encefalomiocarditis (EMCV), los genes de la replicasa del VHC y el extremo 3'NC.
- b) Modelo de cultivo celular del VHC: para la producción de partículas virales se necesitan las proteínas no estructurales y los extremos 5' y 3' de JFH1.
- c) Los genes core, E1, E2 y p7 se pueden sustituir por los de otras cepas del VHC para construir genomas quiméricos y estudiar in vitro las propiedades de los diferentes genotipos del VHC.

Dado que el sistema del replicón subgenómico del VHC no contiene los genes estructurales, no es capaz de producir partículas virales. Por ello, también se desarrollaron replicones que contenían todo el genoma completo del VHC y un marcador de selección. Estos replicones genómicos necesitaban mutaciones adaptativas al cultivo celular para replicar de forma eficiente y en niveles suficientemente altos para la selección por el gen marcador. Aunque los replicones genómicos del VHC fueron muy prometedores, la aparición de mutaciones adaptativas parecía interferir con la producción de partículas.

Los replicones subgenómicos han sido herramientas muy valiosas en los estudios de los mecanismos de replicación del VHC y en la caracterización bioquímica y estructural del complejo de replicación viral y en el ensayo de nuevos fármacos contra la hepatitis C (inhibidores de la proteasa y la polimerasa del VHC), incluida la identificación de resistencias a los antivirales.

Cuadro clínico

La infección a largo plazo con el virus de la hepatitis C se conoce como hepatitis C crónica. La hepatitis C crónica suele ser una infección "silenciosa" durante muchos años, hasta que el virus daña el hígado lo suficiente como para causar los signos y síntomas de la enfermedad hepática.

Los signos y síntomas incluyen los siguientes:

- Aparición de hemorragias con facilidad
- Propensión a hematomas
- Fatiga
- Falta de apetito
- Coloración amarillenta de la piel y los ojos (ictericia)
- Orina de color oscuro
- Picazón en la piel
- Acumulación de líquido en el abdomen (ascitis)
- Hinchazón en las piernas
- Pérdida de peso
- Confusión, somnolencia y dificultad en el habla (encefalopatía hepática)
- Vasos sanguíneos en forma de araña en la piel (araña vascular)

Toda infección crónica de hepatitis C comienza con una fase aguda. La hepatitis C aguda generalmente no se diagnostica porque rara vez causa síntomas. Cuando los signos y síntomas están presentes, pueden incluir ictericia, junto con fatiga, náuseas, fiebre y dolores musculares. Los síntomas agudos aparecen de uno a tres meses después de la exposición al virus y duran de dos semanas a tres meses.

La infección por hepatitis C aguda no siempre se vuelve crónica. Algunas personas eliminan el VHC del cuerpo después de la fase aguda, un resultado conocido como eliminación viral espontánea. En los estudios de personas diagnosticadas con el VHC agudo, las tasas de eliminación viral espontánea han variado entre el 15 % y el 25 %. La hepatitis C aguda también responde bien a la terapia antiviral.

Diagnóstico molecular

Las técnicas moleculares (RT-PCR) brindan un diagnóstico directo, rápido y sensible de actividad viral de VHC. Ello es relevante en los casos serológicamente negativos, confirmando la negatividad o estableciendo el diagnóstico, así como en pacientes en los que interesa determinar actividad viral.

En nuestra muestra de 175 pacientes con serología positiva, 71,8% tuvo actividad replicativa del virus demostrada por PCR positivo.

El análisis de los genotipos mediante las técnicas de RFLP's y secuenciación automática muestra en la mayoría de los casos resultados similares, siendo la secuenciación muy relevante para la identificación de nuevas variantes y para caracterizar molecularmente al VHC.

El establecimiento de los diferentes genotipos virales, así como el descubrimiento de la existencia de una nueva variante genética del VHC, aportan los primeros datos sobre la epidemiología molecular de la infección por VHC en el país.

Tratamiento

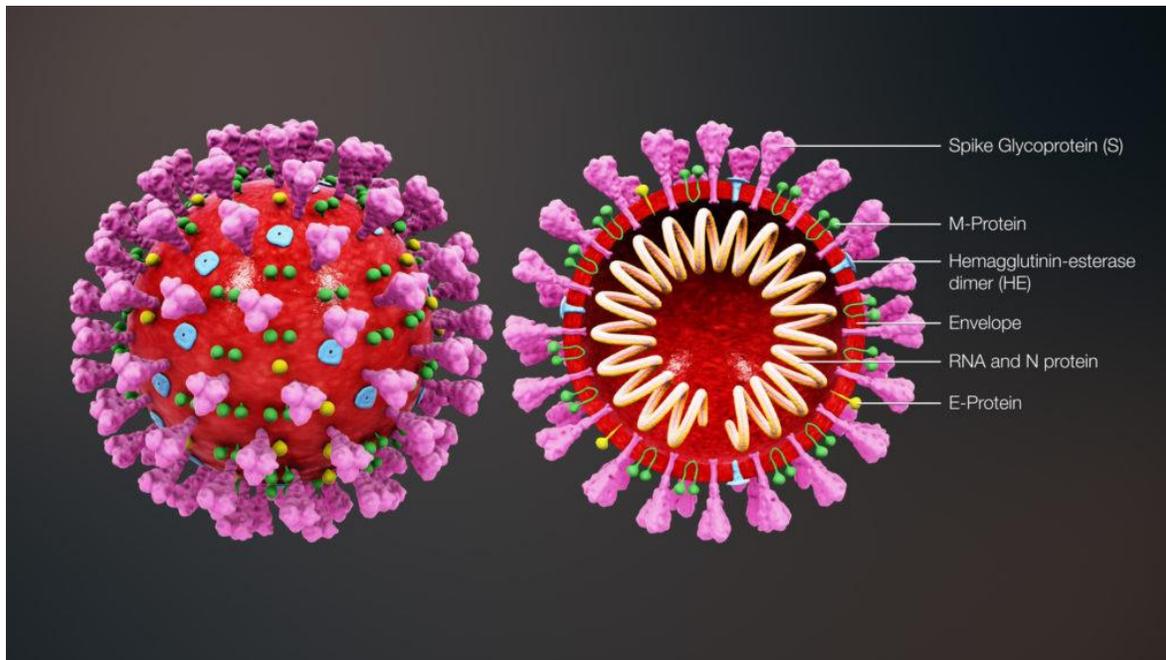
La infección por el VHC puede manifestarse con formas clínicas muy diferentes y de gravedad variable, desde formas asintomáticas de hepatitis aguda hasta hepatitis crónica o cirrosis y hepatocarcinoma.

Los datos sobre la historia natural de la hepatitis C indican que entre el 55% y el 85% de los pacientes que desarrollan una hepatitis aguda evolucionarán a la cronicidad. Entre ellos, un 5-20% desarrollarán una cirrosis tras un periodo de evolución de 20-25 años y una vez establecida la cirrosis el riesgo de desarrollar una hepatocarcinoma se sitúa en el 1-4% anual.

En las guías de tratamiento de la EASL de 2011, y de la AASLD de 2009, el tratamiento estándar se basaba en la doble terapia con interferón- α pegilado (peg-

IFN) y RBV. El porcentaje de pacientes que alcanza la SVR es del 40-50% para los infectados por el VHC genotipo 1 y del 65- 80% para los infectados por los genotipos 2 y 3, con una duración del tratamiento de 24 semanas para los genotipos 2 y 3, y de 48 semanas para el resto. Para los pacientes infectados por el genotipo 1 del VHC, el tratamiento óptimo se basa en la asociación de un inhibidor de la proteasa (IP) (boceprevir o telaprevir) con peg-IFN y RBV, con un aumento de la tasa de RVS hasta valores entre el 70-80%.

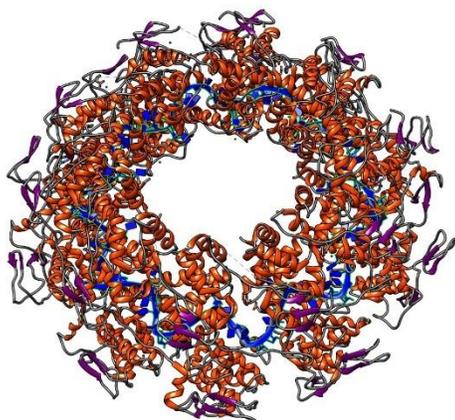
Biología molecular de virus de SAR-Cov2



Es un virus de la familia coronavirus (coronavirus), y el último de los siete coronavirus identificados hasta ahora que infectan a humanos. Dos de ellos, el CoV-229E y el CoV-OC43, provocan aproximadamente el 20% de los resfriados comunes. Se estima que un humano adulto adquiere una infección por coronavirus al menos una vez cada 2 o 3 años. Todos los virus de esta familia son similares: virus con genoma de RNA (¡no confundir con retrovirus! ¡no confundir RNA con DNA!) encapsulados o con envoltura, es decir, virus que tienen su cápside envuelta en una membrana lipídica, «robada» al individuo infectado; esta membrana contiene una serie de proteínas de membrana importantes para el mecanismo del virus. Un poquito más adelante entraremos en detalle con estos conceptos.

Un virus no es un ser vivo y no se reproduce como las células. Más bien es una especie de «robot» que, una vez activado, ejecuta un programa de replicación determinado en su genoma. Pero, aunque no es un ser vivo, si puede evolucionar, ya que los ácidos nucleicos (en nuestro protagonista, el RNA) son moléculas que van sufriendo cambios en su secuencia y procesos de selección, que van dando lugar a la aparición de cuasiespecies. Esta evolución viral es sumamente importante en la progresión de los brotes epidémicos y en la aparición de nuevas infecciones virales (Recomiendo el artículo de José Campillo, un brillante científico mexicano

experto en virus, listado en el apartado de referencias).



Aspecto de los viriones (partículas virales) de SARS-CoV-2, observados con microscopía electrónica TEM; los virus están en el interior de vesículas de Golgi, dentro de una célula infectada.

El coronavirus se denomina así por su forma visto con microscopio electrónico; para los científicos que lo veían, esas pequeñas bolitas rodeadas de puntitos se les asemejaba a una pequeña corona mecánica (rueda dentada o piñón) y, de ahí, el nombre. Los virus, en general, están formados fundamentalmente por una cápside, que consiste en una estructura de proteínas que sostienen el genoma viral (que puede ser DNA o RNA).

Genes alterados

Proteína S

La proteína S es de fusión tipo I, altamente glucosilada, con tres heterodímeros S1/S2. Estas subunidades funcionales son generadas por la escisión

que realiza una proteasa de tipo furina, ya sea la catepsina B o L (CatB/L) o la proteasa de serina transmembrana tipo 2 (TMPRSS2).

En S1 se encuentra el dominio de unión al receptor (RBD, por sus siglas en inglés) y es la parte más variable del genoma viral; mientras que S2 es una subunidad altamente conservada, que media la fusión con la membrana celular y hace posible su ingreso a la célula. Debido a que realiza una función indispensable, la proteína S es el blanco principal de los anticuerpos neutralizantes.

Al comparar las características de SARS-CoV-2 y SARS-CoV se vio que comparten únicamente el 40% de los aminoácidos del RBD y que la proteína S de SARS-CoV-2 tiene mayor afinidad por su receptor. La principal diferencia entre ambas proteínas es una inserción de 12 nucleótidos entre S1 y S2, que forman un motivo polibásico reconocido por furina. Se han encontrado mutaciones similares en virus altamente patogénicos como el de la influenza, por lo que esto, junto con la alta afinidad a su receptor, podrían ser la causa de la transmisión tan eficiente del SARS-CoV-2-

Enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2)

La enzima convertidora de angiotensina (ECA) 2 (ECA2) y su proteína homóloga ECA, participan en la regulación de la presión arterial al controlar el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS). ECA convierte la angiotensina I (Ang I) en angiotensina II (Ang II) y a su vez, ECA2 convierte Ang II en angiotensina 1-7 (Ang 1-7), que es un péptido antiinflamatorio. La Ang II al unirse a su receptor, el receptor de angiotensina II tipo 1a (AT1R), produce vasoconstricción y retención de sodio, pero también puede causar edema, inflamación y fibrosis pulmonar.

Cuadro clínico

El virus SARS-CoV-2, produce la enfermedad COVID-19, cuya manifestación más grave es la neumonía que se manifiesta por fiebre, tos, disnea y opacidades pulmonares bilaterales en la radiología de tórax. En un estudio con más de 70.000

casos la enfermedad fue leve en 81% (con neumonía leve o sin ella), moderada en 14% (neumonía con hipoxemia) o grave en 5% (insuficiencia respiratoria que requiere ventilación mecánica, shock o falla multiorgánica). La letalidad general fue de 2,3%, y de 49% entre los casos graves El coronavirus pertenece a una familia de virus que puede causar enfermedades simples como el resfriado común, hasta síndrome respiratorio agudo-grave, comúnmente conocido como SARS y síndrome respiratorio por coronavirus de Oriente Medio (MERS).

Actualmente, se le conoce como COVID-19 al síndrome respiratorio agudo grave de coronavirus tipo 2 (SARS-CoV-2), el cual fue categorizado como pandemia por la Organización Mundial de la Salud en marzo 2020. Dado que el coronavirus es un tipo de resfriado, encontraremos sintomatología respiratoria grave.

Cuando una persona sana entra en contacto con una que es portadora del virus COVID-19, los signos respiratorios y síntomas se manifiestan durante los primeros 14 días de incubación. La sintomatología incluye:

- Fiebre (temperatura mayor a 38°C), difícil de controlar
- Tos
- Dificultad para respirar normalmente
- En otros casos poco comunes, podemos encontrar:
- Cansancio
- Dolor generalizado
- Dolor muscular y de articulaciones
- Dolor de garganta
- Cefalea (dolor de cabeza intenso)
- Diarrea
- Vómitos
- Pérdida del sentido del gusto y el olfato temporal

La gravedad de los síntomas de coronavirus dependerá en gran medida del sistema inmunológico de cada persona, puesto que puede presentarse un cuadro clínico muy leve, a veces hasta imperceptible o con síntomas muy severos que requieran una atención médica especializada y hospitalización.

Para los adultos mayores o personas que presenten padecimientos crónicos como hipertensión, diabetes, enfermedades cardíacas o pulmonares, sistema inmunológico comprometido tienden a correr un riesgo más alto de presentar una enfermedad más grave.

Aunque el mayor porcentaje de la población presenta sintomatología de leve a moderada, la enfermedad puede causar complicaciones severas entre las que podemos señalar: Neumonía, insuficiencia renal e insuficiencia hepática.

Diagnóstico molecular

El SARS-CoV-2 se caracteriza por una alta transmisibilidad que puede ser ocasionada, entre otros factores, porque los infectados presentan, en su mayoría, una elevada carga viral en muestras clínicas (entre 10⁴ y 10⁸ copias de genoma/ml por muestra nasofaríngea o de saliva).

La polimerasa con reverso transcriptasa (RT-PCR) en tiempo real, puede detectar ARN viral desde unos días antes de la aparición de los síntomas, lo que aumenta la probabilidad de positividad hasta ser máxima alrededor del séptimo día; esta disminuye hasta aproximadamente el final de la segunda semana. Por lo tanto, en los primeros días del período de incubación y tras la desaparición de los síntomas, la carga viral es baja y puede no ser detectada por el TR-PCR en tiempo real, al estar por debajo del umbral de detección.

Tratamiento

MANEJO INTRAHOSPITALARIO

Corticoides

Durante los primeros meses de la pandemia por SARS-CoV-2 se desaconsejó el uso de corticoides sistémicos, basado en experiencias previas con otros coronavirus (SARS-CoV-1 y MERS) en donde se evidenció aumento de excreción y disminución del aclaramiento viral²⁵ e incluso aumento de mortalidad e infecciones nosocomiales en neumonía por Influenza H1N.

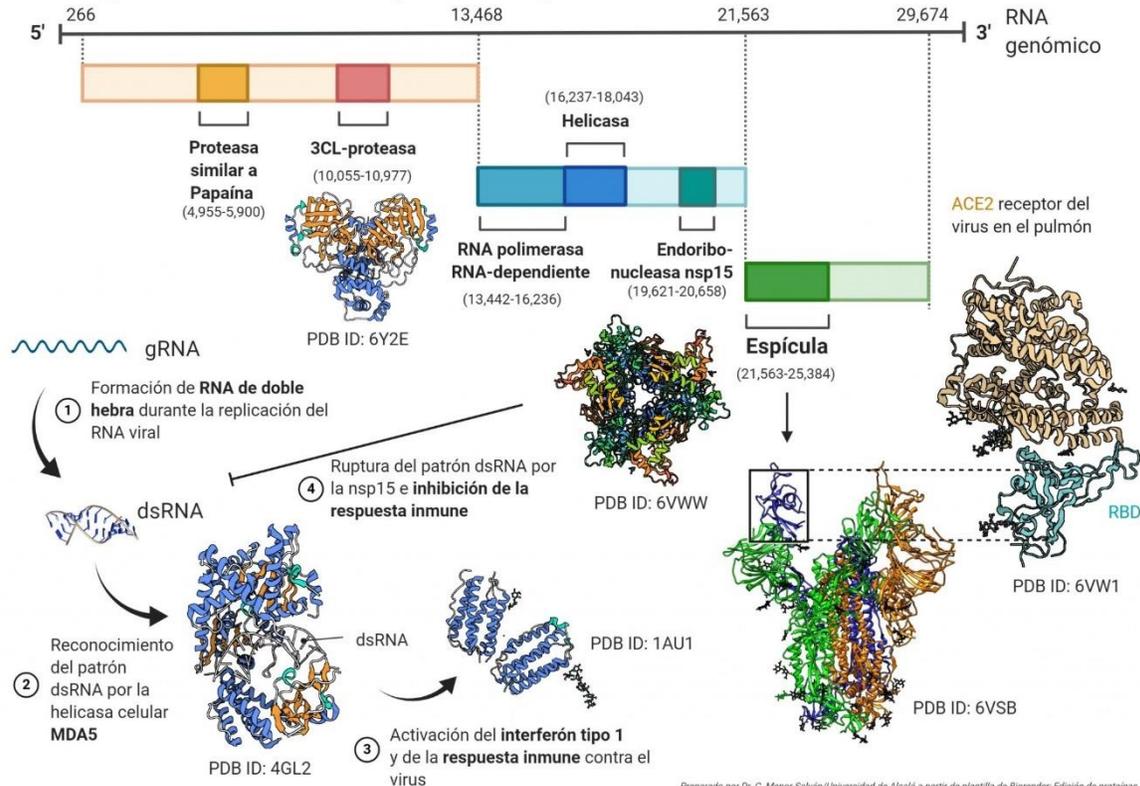
Si analizamos la fisiopatología de la infección viral respiratoria observamos que la respuesta inmune inicial es fundamental para reducir la carga viral y alertar al huésped. La respuesta comienza con el reclutamiento de inmunidad innata, y si esta no logra limitar la progresión de la infección se desencadena una liberación de citoquinas inflamatorias (IL-6, IL-1 y TNF- α), con mayor inflamación e inmunosupresión, caracterizada por un aumento de la actividad citotóxica de Th17 y CD8 y disminución de las células auxiliares T CD4 + de memoria. Esta respuesta debe estar en equilibrio entre la eliminación del virus y evitar el daño pulmonar inmunomediado, que es en donde los corticoides juegan un rol antiinflamatorio, inhibiendo múltiples citoquinas. Además, se ha evidenciado que los corticoides, como efecto de familia, aumentan la transcripción de la ECA, que al ser usada por el SARS-CoV-2 para infectar a las células, se depleta promoviendo un exceso de angiotensina lo que aumenta el daño pulmonar en fases tardías.

Oxigenoterapia y Prono Vigil

La infección por SARS-CoV-2 en la mayoría de los sujetos produce manifestaciones leves a moderadas, sin requerimientos de oxígeno suplementario en más del 80% de los pacientes, mientras que se estima que alrededor del 5% requerirá apoyo con ventilación mecánica invasiva (VMI). En aquellos que desarrollan compromiso pulmonar se ha reportado que existe un fenómeno de “happy hypoxemia”, dado que los sujetos consultan con avanzada hipoxemia, pero con escasos síntomas³⁵. Si se requiere de mayores requerimientos de fracción

inspirada de oxígeno (FiO2) o existe un trabajo ventilatorio aumentado se debe iniciar un mayor apoyo para evitar la necesidad de VMI

Proteínas, genoma e inhibición de la respuesta inmune por el SARS-CoV-2



Referencias.

- Gonzales & García, 2021. Cáncer de próstata. Dra. Aránzazu González del Alba, Dra. Carmen García de España. Sociedad española de oncología médica (SEOM), 16 de febrero 2021. <https://seom.org/info-sobre-el-cancer/prostata>
- Duraes Pamela. Cardoso de Miranda Sergio. Barbosa Henrique. Marques Rodrigo, Barbosa Adriana. Maia da Silva Vanessa. Cáncer de próstata: conocimientos e interferencias en la promoción y prevención de la enfermedad. Enferm. glob. 2019 vol.18 no.54
- Instituto nacional de salud pública. Mortalidad por cáncer de próstata en México a lo largo de tres décadas. Cuernavaca, Morelos. México. 2020. Disponible en: <https://www.insp.mx/avisos/4189-cancer-prostata-mx.html>
- SANTANA, Alfredo et al. Biología celular y molecular del virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Rev Diagn Biol [online]. 2003, vol.52, n.1 [citado 2021-06-23], pp.07-18. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003479732003000100001&lng=es&nrm=iso ISSN 0034-7973.
- CARRILLO, Pedro and DIAZ, Gendry.HIV y HTLV: dos retrovirus que interfieren con el sistema inmune. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) [online]. 2002, vol.37, n.1-2, pp.65-69. ISSN 1017-8546. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462002000100010
- PEREZ S., Lautaro. Biología molecular del virus de la inmunodeficiencia humana y los recientes progresos en el tratamiento del SIDA. Rev. chil. pediatr. [online]. 2000, vol.71, n.2 [citado 2021-06-23], pp.83-88. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062000000200002&lng=es&nrm=iso ISSN 0370-4106. <http://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062000000200002>

- Kaushik, N. et al. (2017) "Las sales de zinc bloquean la replicación del virus de la hepatitis E al inhibir la actividad de la ARN polimerasa dependiente del ARN viral", Journal of Virology. Editado por J.-H. J. Ou, 91 (21), págs. E00754-17. doi: 10.1128 / JVI.00754-17. <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2006/pt063d.pdf>
- Feinstone SM, Mihalik KB, Kimimura T, Alter HJ, London WT y Purcell RH. Inactivación del virus de la hepatitis C y hepatitis no A, no B por cloroformo. Infect Immunol 1993; 41: 816-821
- Takahashi K, Kishimoto S, Yoshizawa H, Okamoto H, Yoshikawa A y Mishiro S. Proteína p26 y partícula de 33 nm asociada con la nucleocápside del virus de la hepatitis C recuperada de la circulación de huéspedes infectados. Virology 1992; 191: 431-434.
- Prince AM, Huima-Byron T, Parker TS y Levine DM. Visualización de viriones de hepatitis C y supuestas partículas de interferencia defectuosas aisladas de lipoproteínas de baja densidad. J Virol Hepatitis 1996; 3: 11-17.
- Korber, B. y col. (2020) "Seguimiento de cambios en el pico de SARS-CoV-2: evidencia de que D614G aumenta la infectividad del virus COVID-19", Cell, págs. 1-16. doi: 10.1016 / j.cell.2020.06.043.
- Weissleder, R. y col. (2020) "Diagnósticos de COVID-19 en contexto", Science Translational Medicine, 12 (546), págs. 1-7. doi: 10.1126 / scitranslmed.abc1931. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432020000300470
- Te Velthuis, AJW, Van Den Worm, SHE y Snijder, EJ (2012) 'El complejo SARS-coronavirus nsp7 + nsp8 es una ARN polimerasa multimérica única capaz tanto de iniciación de novo como de extensión de cebadores', Nucleic Acids Research, 40 (4), págs. 1737-1747. doi: 10.1093 / nar / gkr893. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7676827/#:~:text=El%20prim>

[er%20genoma%20de%20SARS.de%20Latinoam%C3%A9rica%20y%20el%20Caribe.](#)

- Miller MJ, Loaiza JR, Takyar A, Gilman RH. COVID-19 en América Latina: ¿Nuevas dinámicas de transmisión para una pandemia global? PLoS Negl Trop Dis. 2020; 14: e0008265. doi: 10.1371 / journal.pntd.0008265 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7676827/#:~:text=El%20prim%20genoma%20de%20SARS.de%20Latinoam%C3%A9rica%20y%20el%20Caribe.>