



Nombre del Alumno: Jesús Eduardo Gómez Figueroa

Nombre del tema: Bases moleculares de VHB Y VHC

Semestre: 4 A

Nombre de la Materia: Biología Molecular

Nombre del catedrático: QFB ALBERTO ALEJANDRO MALDONADO LOPEZ

Nombre de la Licenciatura: Medicina Humana

Comitán de Domínguez Chiapas A 23 de mayo del 2022

HEPATITIS B

El término hepatitis significa "inflamación del hígado"

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que aproximadamente 2 000 millones de personas están infectadas por el VHB, de las cuales 350 millones presentan una infección crónica. Es la décima causa de muerte a escala mundial y al año mueren alrededor de 500000 a 1.2 millones de personas por complicaciones de infección por el VHB

Vías de transmisión

- ✓ Perinatal (madre a hijo).
- ✓ Inyecciones y transfusiones de productos sanguíneos no seguros
- ✓ Contacto sexual.
- ✓ Uso de jeringas y agujas no estériles.

En los países con prevalencia elevada, la mayoría de las infecciones se adquieren por vía perinatal y durante la etapa temprana de la infancia, cuando el sistema inmune es inmaduro

Virus de la Hepatitis B

Se clasifica dentro de la familia Hepadnaviridae, del género Orthohepadnavirus

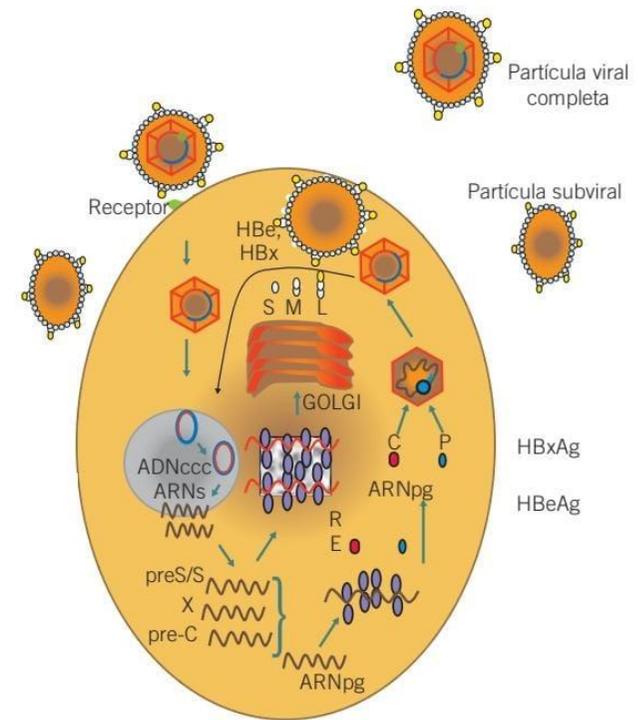
Es un virus de ADN circular de doble cadena, el cual se replica a través de un ARN intermediario mediante transcripción inversa

La partícula viral madura está compuesta de una nucleocápside rodeada por una bicapa de lípidos en la cual se incorporan las proteínas de la envoltura.

Dentro de la nucleocápside se encuentra el genoma viral que contiene toda la información genética organizada.

Cuadro 24-1. Genoma, y características principales del VHB y sus moléculas.

FLA	Gen/ región	Proteína codificada	Función y características
P	P	Polimerasa	Replicación del genoma viral. Contiene 4 dominios: 1) N terminal que participa en la encapsulación y en el inicio de la síntesis de la cadena negativa; 2) RT, región catalítica que sintetiza el genoma viral, 3) ARNasa H, su función es degradar el ARNpg, y 4) un espaciador de función desconocida.
S	Pre-S1 Pre-S2 Gen S	Tres proteínas de la envoltura viral: Pre-S1 + Pre-S2 + Gen S = "Proteína grande" Pre-S2 + Gen S = "Proteína mediana" Gen S = "Proteína pequeña"	Forman parte estructural de la envoltura del virus. Las tres proteínas tienen en común la secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal (lo correspondiente a la proteína pequeña es lo que se conoce como el HBsAg). En la proteína grande se encuentra un sitio de reconocimiento al hepatocito, por lo que se considera que sirve de entrada del VHB a la célula del huésped. En el HBsAg se encuentran los principales determinantes antigénicos que son reconocidos por los anticuerpos que se producen en respuesta a la infección o a la vacuna que inhiben la entrada del virus al hepatocito. La vacuna contra este virus es la primera vacuna recombinante que se produjo, a la fecha se continúa utilizando el HBsAg como inmunógeno.
C	Pre-C Gen C	Dos proteínas: Región Pre-C + Gen C = HBeAg Gen C = La proteína central (HBcAg)	HBcAg. Es la forma soluble del HBcAg. Necesario para una infección persistente. Cruza barrera placentaria. Proteína central. Forma parte estructural de la nucleocápside del virus. Se ensamblan aproximadamente 180 subunidades de esta proteína para formar esta estructura viral. Favorece el reconocimiento de la polimerasa y el ARN intermediario viral, los cuales son encapsulados y ahí se realiza la síntesis del ADN viral a partir del ARN intermediario.
X	Gen X	Proteína X	Regulador transcripcional, favorece la transcripción de su propio gen y de genes del hospedero, entre ellos, <i>c-myc</i> , <i>c-fos</i> .



Ciclo de vida del VHB. El VHB entra a la célula por un receptor, libera la envoltura en el citoplasma; posteriormente, pierde la nucleocápside y entra al núcleo

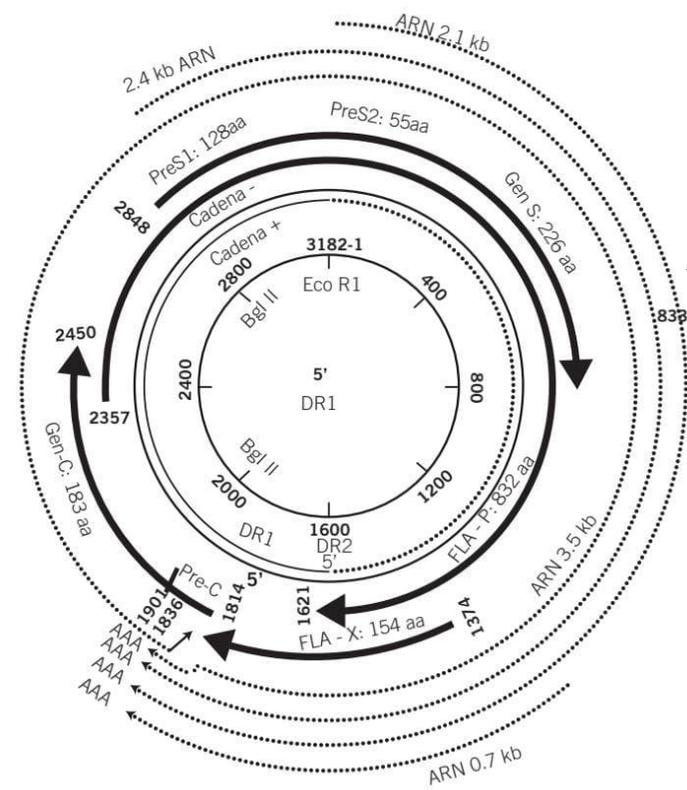
Hepatitis B

Genómica y proteómica

Se divide en cuatro regiones principales que son fragmentos de lectura abierta (FLA): S, C, P y X

FLA contienen los genes que codifican para las proteínas de la envoltura viral, las proteínas de la cápside, el antígeno e (HBeAg), la polimerasa y la proteína X

Genoma del virus de la hepatitis B y sus transcritos. En el círculo del centro del genoma, se especifica el número del nucleótido. Como referencia, se considera la primera base dentro del sitio de restricción de EcoR1; le sigue el doble círculo con una línea continua y una discontinua, este doble círculo representa el ADN del VHB (una de sus hebras no está completa, la parte que carece de nucleótidos está representada por la línea discontinua). Posteriormente, las flechas con línea continua representan las regiones o fragmentos de lectura abierta (FLA) y genes del virus; se especifica su nombre y el número de aminoácidos que se sintetizan durante su traducción. Las flechas con línea discontinua representan los ARN que se transcriben del genoma viral que participan en la replicación del virus (ARN 3.5 kb) y/o en la traducción de sus proteínas.



Replicación

Una vez que el virus penetra en el hepatocito, libera la nucleocápside en el citoplasma

De ahí genoma viral se transporta al núcleo mediante mecanismos aún no bien definidos

Después, la cadena positiva del ADN viral no completa se termina de sintetizar por medio de la polimerasa viral, donde forma un ADN circular covalentemente cerrado (ADNccc).

La ARN polimerasa II del huésped transcribe la cadena negativa del ADN viral en un ARN pregenómico (ARNpg) de 3.5 kb

Y tres ARN mensajeros (ARNm) que sirven para la traducción de las proteínas virales

El ARNpg sale del núcleo y, en el citoplasma, tiene dos funciones: por un lado, sirve como mensajero para la síntesis de la polimerasa y de la proteína central, y por otro, es un intermediario en el proceso de la replicación

Si el ADN viral continúa el tiempo suficiente en la célula, se convierte en bicatenario, y en este caso regresa al núcleo para otra ronda replicativa

Cuando se forma un ADN de doble cadena parcial, la nucleocápside madura e interactúa con las proteínas de la envoltura en el retículo endoplásmico, para formar la partícula viral completa de 42 nm, que es secretada mediante exocitosis.

Historia natural de la hepatitis B

Probabilidad infección aguda con la sintomatología característica (ictericia, dolor abdominal, orina oscura, fiebre)

La mayoría de los portadores del VHB experimentan la seroconversión del HBeAg; esto quiere decir que la proteína HBe del VHB no se detecta en sangre y aparecen los anticuerpos dirigidos contra esta proteína

Factores que influyen en la gravedad de la hepatitis B

- ✓ Carga viral
- ✓ Genotipo del virus de la hepatitis B, A, B, C, D, E
- ✓ Las infecciones con el genotipo C, F1 y B2-5 se han asociado con un alto riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular

Mutaciones presentes en la región precentral y central

Dos grupos de mutaciones que afectan la síntesis del HBeAg:

- 1) las que se encuentran en la región precentral,
- 2) las localizadas en el promotor basal central

Mutaciones en la región PreS/S

Afecta a la síntesis de la proteína mediana de envoltura

Diagnóstico serológico

El diagnóstico de la hepatitis B se lleva a cabo mediante la detección del HBsAg, principal marcador serológico de escrutinio en la hepatitis B.

Marcador serológico específico de una hepatitis B aguda es el anticuerpo de tipo M, dirigido contra la proteína central del VHB (IgM-antiHBc)

Para prevenir la infección por VHB existe una vacuna sintetizada a partir del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg, por la sigla en inglés de hepatitis B surface antigen)

Las personas con hepatitis B crónica se pueden clasificar según el HBeAg y la carga viral en las siguientes fases:

- ✓ **Fase de inmunotolerancia:** se caracteriza por presentar HBeAg positivo, carga viral elevada y poca lesión hepática
- ✓ **Fase de reactividad inmune:** se caracteriza por presentar HBeAg positivo, carga viral baja y lesión hepática moderada.
- ✓ **Fase de portador inactivo/asintomático:** se caracteriza por presentar HBeAg negativo, anticuerpos contra el HBeAg positivos y nivel de ADN muy bajo o indetectable (menos de 2.000 UI/mL)³¹ sin lesión hepática

Las personas con infección crónica, carga viral elevada y lesión hepática activa se clasifican según el HBeAg en las siguientes categorías:

Hepatitis B crónica HBeAg positivo si se puede detectar este antígeno en el suero.

Hepatitis B crónica HBeAg negativo si este antígeno es indetectable en el suero

Para los pacientes en tratamiento con análogos de nucleósido/nucleótido, se sugiere efectuar pruebas serológicas cada 24 a 48 semanas para evaluar si ha ocurrido seroconversión del HBeAg

A los hijos de madres infectadas se les debe hacer seguimiento trimestral hasta que ocurra la seroconversión del HBeAg, y entonces espaciar los controles a cada seis meses si la función hepática es normal

Importante vigilar la función hepática en las personas con infección perinatal y hacerles periódicamente pruebas para alfa fetoproteína y ecografías por el alto riesgo de cronicidad y enfermedad hepática terminal.

Interpretación Estudio Pruebas

Cuadro 24-2. Interpretación de las pruebas serológicas.

Fase de la enfermedad	HBsAg	Anti-HBs	HBeAg	Anti-HBe	Anti-HBc	ADN-VHB Copias/ml	ALT	Historia
Hepatitis B aguda	+	-	+	-	IgM +	Positivo	Elevadas	Evidencia de exposición reciente.
Infección resuelta	-	+/-	-	+/-	+/-	ND	Normales	Exposición en el pasado.
Inmunizado	-	+	-	-	-	Negativo	Normales	Vacunación.
Fases de la hepatitis B crónica								
Inmunotolerante	+	-	+	-	+	>10 ⁷	Normales	Edad joven (2ª o 3ª década), infectado en la infancia.
Inmunoactiva (HBeAg +)	+	-	+	-	+	>10 ⁵	Elevadas	Infección distante.
Inmunoactiva (HBeAg -)	+	-	-	+	+	>10 ⁴	Elevadas persistentemente o indeterminadas	Infección distante (más común en personas de mayor edad).
Portador inactivo HBsAg	+	-	-	+	+	ND-10 ⁴	Normales	

HBsAg, antígeno de superficie del VHB; Anti-HBs, anticuerpos dirigidos contra el HBsAg; HBeAg, antígeno e del VHB; Anti-HBe, anticuerpos contra el HBeAg; Anti-HBc, anticuerpos contra el antígeno central del VHB; ALT, alanina aminotransferasa; ND, no detectable (los métodos más sensibles de detección del ADN-VHB no logran detectar menos de 60 copias/ml).

Cuadro 24-3. Estudios de imagen y de laboratorio en la visita inicial del paciente con hepatitis B.

Antígeno de superficie del VHB (HBsAg)
Antígeno e del VHB (HBeAg) y su anticuerpo (anti-HBe).
ADN-VHB.
Anticuerpo IgM del VHB contra el antígeno core (IgM-anti-HBc) (si se sospecha de hepatitis B aguda).
Pruebas bioquímicas de rutina, incluyendo alanina y aspartato aminotransferasas (ALT, AST, respectivamente), fosfatasa alcalina (FA), creatín fosfocinasa (CPK), lactato deshidrogenasa (LDH), bilirrubina total y directa, albúmina, proteínas totales, nitrógeno ureico en sangre y creatinina.
Biometría hemática incluyendo plaquetas.
Tiempo de protrombina.
Niveles de inmunoglobulinas.

Cuadro 24-4. Pruebas comerciales cuantitativas para determinar el ADN-VHB.

Prueba	Método	Sensibilidad analítica		Rango dinámico	
		UI/ml	Copias/ml	UI/ml	Copias/ml
PCR en tiempo real (Abbott)	PCR en tiempo real	4		9-4 × 10 ⁹	
Captura de híbridos II (Digene)	Captura de híbridos		1.9 × 10 ⁵	19	1.9 × 10 ⁵ -1.7 × 10 ⁹
Ultrasensible captura de híbridos II (Digene)	Captura de híbridos		8 × 10 ³		8 × 10 ³ -1.7 × 10 ⁹
Artus VHB PCR (QIAGEN Diagnostics)	PCR en tiempo real			54-3.6 × 10 ⁹	
COBAS Amplicor HBV (Roche Diagnostics)	PCR cuantitativo semiautomatizado		2 × 10 ²		2 × 10 ² -2 × 10 ⁵
COBAS TaqMan HBV (Roche Diagnostics)	PCR en tiempo real		35		1.7 × 10 ² -8.5 × 10 ⁸
VERSANT HBV ADN 3.0 (Siemens Medical Solutions Diagnostics)	ADN ramificado		3.3 × 10 ³		3.3 × 10 ³ -1.0 × 10 ⁸

Los valores determinados pueden variar un poco según la técnica de extracción de ácidos nucleicos que se utilice.

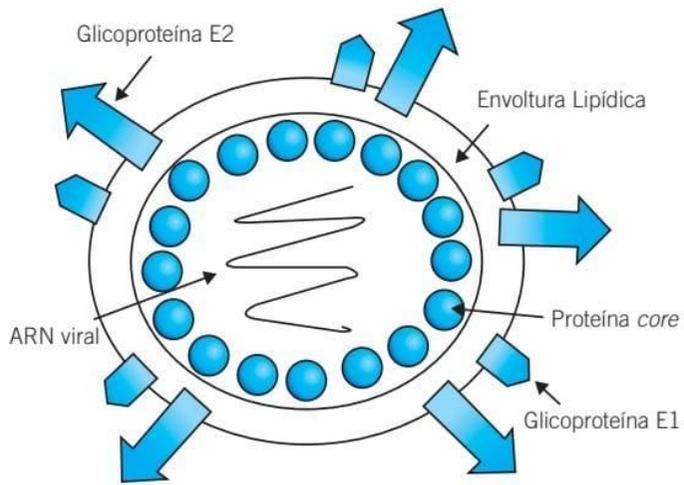


Figura 25-1. Esquema representativo del virus de la hepatitis C. El virus de la hepatitis C está constituido por una envoltura lipídica, un core y un genoma ARN.

Cuadro 25-2. Guías para el uso de pruebas de ácidos nucleicos para la detección del virus de la hepatitis C.

Situación clínica	Prueba
Sospecha de infección aguda.	RT-PCR cualitativa o RT-PCR en tiempo real
Sospecha de infección crónica (anti-VHC positivo).	RT-PCR cualitativa o RT-PCR en tiempo real
Anti-VHC negativo, inexplicable enfermedad hepática o inmunocomprometido.	RT-PCR cualitativa o RT-PCR en tiempo real
Anti-VHC y ARN-VHC positivos, elegibles para tratamiento.	RT-PCR cuantitativo y determinación del genotipo viral
Hijo nacido de madre con anti-VHC positivo.	RT-PCR cualitativo o RT-PCR en tiempo real

Cuadro 25-1. Proteínas del virus de la hepatitis C y su función.

Proteína	Función
Central	Une al ARN viral y forma la nucleocápside.
E1	Envoltura. Fusión.
E2	Envoltura. Unión con receptor.
P7	Canal iónico.
NS2	Autoproteasa en unión con NS3.
NS3	En unión con NS2 autoproteasa. Helicasa.
NS4A	Cofactor de la NS3 autoproteasa.
NS4B	Unida a membrana de retículo endoplásmico, participa en la formación del complejo viral de replicación.
NS5A	Formación del complejo de replicación.
NS5B	ARN polimerasa.

VHC

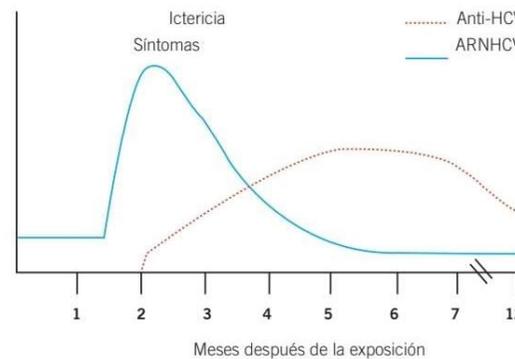
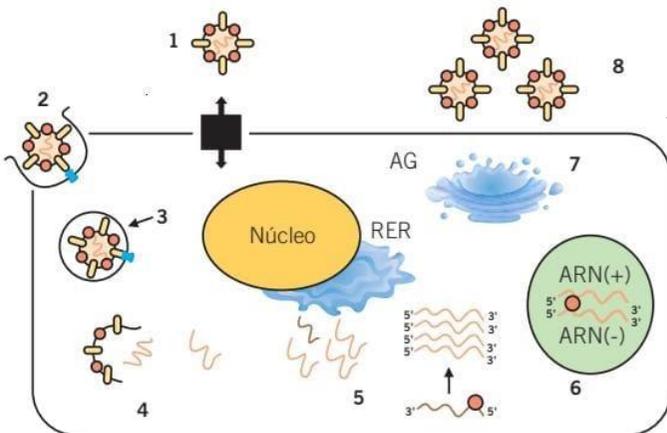


Figura 25-4A. Evolución de la infección por el virus de la hepatitis C.

A) La hepatitis C aguda se caracteriza por un pico notorio de ARN viral a la semana 6, junto con el inicio de los síntomas; a este mismo tiempo se elevan los niveles de anti-VHC que en general son detectables entre el tercer y el cuarto mes, y existe una disminución notoria en los niveles de ARN viral hasta hacerse indetectables entre el quinto y el sexto mes. **B)** La hepatitis C crónica muestra un curso variable; es frecuente el inicio más temprano de los síntomas y oscilaciones en la carga viral.

Figura 25-3. Ciclo de vida del VHC. 1) Unión de glucoproteínas virales con receptores de membrana celular. 2) Fusión de membranas. 3) Entrada viral al interior de la célula. 4) Pérdida de la nucleocápside viral. 5) Síntesis de proteínas virales en el retículo endoplásmico rugoso (RER). 6) Replicación viral en el citoplasma. 7) Encapsulación en membranas de ARN viral en el aparato de Golgi (AG). 8) Liberación de virus.

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus de ARN pequeño, encapsulado, que presenta tropismo hepático y que causa hepatitis aguda y crónica en humanos.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), 3% de la población mundial está crónicamente infectada por este virus.

La forma más común de infección por el VHC es el contacto directo con sangre y productos sanguíneos contaminados.

MODO DE TRANSMISIONES

- ✓ Consumo de drogas por vía intravenosa (DIV).
- ✓ Inyecciones y transfusiones de productos sanguíneos no seguros
- ✓ Contacto sexual.
- ✓ Transmisión perinatal
- ✓ Transmisión a personal de la salud y en prácticas de salud

Características estructurales del VHC

Pertenece a la familia Flaviviridae y es el único miembro del género Hepacivirus

De los genotipos identificados, el más resistente al tratamiento es el genotipo 1.

El VHC es un virus de ARN de cadena sencilla, con sentido positivo, que se replica mediante una ARN polimerasa dependiente de ARN.

Virus de la hepatitis C, sus proteínas y genes

PROTEÍNAS ESTRUCTURALES

- ✓ Proteína central
- ✓ Las glucoproteínas de la envoltura E1 y E2 son proteínas transmembranales tipo I que forman heterodímeros no covalentes
- ✓ P7 Es un polipéptido de 63 aminoácidos, dentro de la poliproteína viral se localiza en la parte de unión de las proteínas estructurales y no estructurales.

PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES

- ✓ **NS2/3 auto proteasa** En la poliproteína viral, la unión de NS2/3 se hidroliza por medio de su actividad de auto proteasa que se localiza en el NH-terminal de NS3; este proceso es indispensable para la replicación del virus
- ✓ **NS4A y NS4B** **NS4A** es un polipéptido de 54 aminoácidos que funciona como cofactor de la serina proteasa localizada en el dominio NS3.
- ✓ **NS5A y NS5B** **NS5A** es un metal proteína fosforilada, que contiene cinc como metal, y participa en la replicación viral, así como en el proceso del ensamblaje de la partícula viral.

Replicación del virus de la hepatitis C

La glucoproteína E2 se une con elevada afinidad a CD81, proteína que se encuentra en la superficie de muchos tipos de células, incluyendo los hepatocitos

La proteína viral E1 se considera que participa en la fusión del virus con la membrana en la cara citoplasmática

VHC entra a la célula, la nucleocápside es liberada al citoplasma, donde el ARN viral funciona como molde en dos eventos importantes

- 1) la traducción de la poliproteína
- 2) la replicación del ARN viral

La replicación del ARN viral de cadena positiva se lleva a cabo en un compartimiento membranoso en el citoplasma de la célula y da lugar a un ARN de cadena negativa, formando ARN de doble cadena que funciona como intermediario para la nueva formación de ARN viral de cadena positiva

El objetivo del tratamiento es lograr una respuesta virológica sostenida (RVS), esto es, eliminación de la carga viral por lo menos durante seis meses posteriores a la conclusión del tratamiento.

Se modificó químicamente la molécula de IFN- α con el uso de polietilenglicol, conocido como IFN pegilado (PEG-IFN)

Durante las fases tempranas de la infección, cuando no se han producido aún los anticuerpos, el resultado del EIA será negativo a pesar de existir infección actual y ARN circulante (viremia positiva)

El tratamiento inicial para hepatitis C consistía en la monoterapia con interferón α (IFN- α)

No se ha llegado a establecer el mejor tratamiento para la infección aguda por VHC, pero varios estudios se ha observado buenos resultados con el uso de 5 MUI de IFN diario, por cuatro semanas, seguido por 5 MUI tres veces por semana por 20 semanas

Técnica utilizada es la PCR

REFERENCIAS

María Clara Jaramillo Aristizábal¹ , María Valentina García Rendón¹ , Juan Carlos Restrepo Gutiérrez. (1, marzo-mayo, 2011). Serología en hepatitis virales. 23 de mayo del 2022, de la redalyc Sitio web: <https://www.redalyc.org/pdf/1805/180522540008.pdf>

Salazar Montes, Adriana María., Ana Soledad Sandoval Rodríguez, and Juan Socorro Armendáriz Borunda. *Biología Molecular: Fundamentos Y Aplicaciones En Las Ciencias De La Salud*. 1a. ed.--. México D.F.: McGraw Hill, 2013.