

## AGENTE ETIOLOGICO

# EL VIRUS DE LA HEPATITIS B

Jorge Boshell Samper (1)

El virus de la hepatitis B humana (HBV) pertenece a la familia de los Hepadnaviridae, la cual reúne una serie de agentes virales que a la fecha infectan aves y mamíferos y que tienen un tropismo exquisito por el hígado. En la tabla No. 1 se señalan las propiedades más sobresalientes de la familia, la cual agrupa a sus integrantes por las características de su estructura, por sus mecanismos de replicación similares, porque las interacciones que cada miembro tiene con la célula que infecta son notoriamente iguales y porque las repercusiones de esa infección tienen un interés biológico y médico muy particulares. En la tabla No. 2 se enumeran los primeros cuatro virus integrantes de esta familia.

### Descubrimiento del HBV.

El primer miembro de los Hepadnaviridae fue el HBV, descubierto por el doctor Baru Blumberg en 1963. Este hallazgo fue consecuencia del interés que tenía el doctor Blumberg en estudiar la variabilidad genética del género humano. Desde algún tiempo atrás existía la hipótesis que, siendo las proteínas séricas humanas heredadas genéticamente, debía existir una población bien heterogénea de las mismas, situación que ya había sido confirmada con el descubrimiento de los sistemas de grupo sanguíneo (A,B,O), del sistema Rh y con los sistemas de antígenos de histocompatibilidad (HLA). Como su interés central era esta hipótesis, el doctor Blumberg coleccionaba sueros de gente politransfundida teniendo en cuenta que un individuo que recibe gran número de transfusiones recibe de hecho, un cierto número de proteínas extrañas propias de los donantes genéticamente diferentes. En consecuencia, es-

tos pacientes politransfundidos debían generar anticuerpos contra las mismas y el estudio de tales anticuerpos podría revelar diferencias antigénicas heredadas que darían alguna luz a sus inquietudes sobre la genética humana.

TABLA 1

### CARACTERISTICAS DE LOS HEPADNAVIRIDAE

1. Tamaño y ultraestructura iguales.
2. Composición de polipéptidos muy similar.
3. Composición antigénica semejante.
4. Genoma DNA de estructura y organización genética inusualmente eficiente teniendo en cuenta su pequeño tamaño.
5. Mecanismo de replicación de su DNA único, el cual involucra transcripción reversa a partir de un RNA gigante (de 3500 bases) que sirve de modelo para la cadena de polaridad negativa.
6. Rango estrecho de reservorios naturales (es decir, el HBV infecta solamente humanos en la naturaleza, el GSHV infecta sólo la especie *Beecheyi* del género *Spermophilus* de ardillas, el DHBV infecta únicamente a patos domésticos en condiciones naturales y sólo experimentalmente se puede transmitir a gansos).
7. Tropismo exquisito por los hepatocitos.
8. Producción de cantidades excesivas de proteína de envoltura (HBsAg).
9. Capacidad de establecer infección crónica en los organismos que infectan - originando cáncer hepático.
10. Aparente relación filogenética con a) El virus del mosaico de la coliflor y b) Retroviridae.

(1) Jefe, Grupo de Virología I.N.S.

TABLA 2  
FAMILIA HEPADNAVIRIDAE

1. H.B.V.	1963, Humano.
2. W.H.V.	1978, Woodchuck Hepatitis Virus, de <i>Marmata Monax</i> (Marmota, Filadelfia)
3. G.S.H.V.	1980, Ground Squirrel Hepatitis Virus de la <i>Spermophilus Beecheyi</i> (Ardilla, California).
4. D.H.B.V.	1981, Duck Hepatitis B Virus del pato doméstico de la China.

Con esta idea en mente había iniciado sus investigaciones realizando un estudio sistemático de su banco de muestras. El estudio consistía en enfrentar los sueros de gente politransfundida a un panel de sueros provenientes de individuos nunca transfundidos y que para el efecto consideraba “normales”. Es decir, se trataba de un estudio de contingencia que buscaba al azar reacciones cruzadas entre distintos sueros, con el fin de encontrar asociaciones que pudieran tener algún interés científico. En el curso de estas investigaciones encontró que el suero de un individuo politransfundido, hemofílico de la ciudad de New York, reaccionaba siempre con un sólo suero del panel “normal”. Este suero “normal” había sido obtenido de un aborígen australiano, lo cual hacía que ésta reacción serológica fuera un hallazgo sorprendente ya que señalaba un fenómeno biológico de particular interés para el entorno genético: un anticuerpo de un individuo de la ciudad de New York reaccionando con un antígeno sérico de un individuo que nunca había salido de su región australiana (1). Era preciso entonces reunir datos relacionados con este “antígeno australiano”, con el fin de averiguar su naturaleza. Muy pronto se encontró que su distribución era universal pero que variaba en las distintas regiones del mundo; asimismo, fue posible averiguar que su frecuencia era elevada en los enfermos de leucemia, probablemente porque también recibían un elevado número de transfusiones sanguíneas. Esta última observación generó una nueva hipótesis de trabajo: los individuos que tienen mayor probabilidad de desarrollar leucemia deben tener mayor probabilidad de portar el “antígeno australiano”.

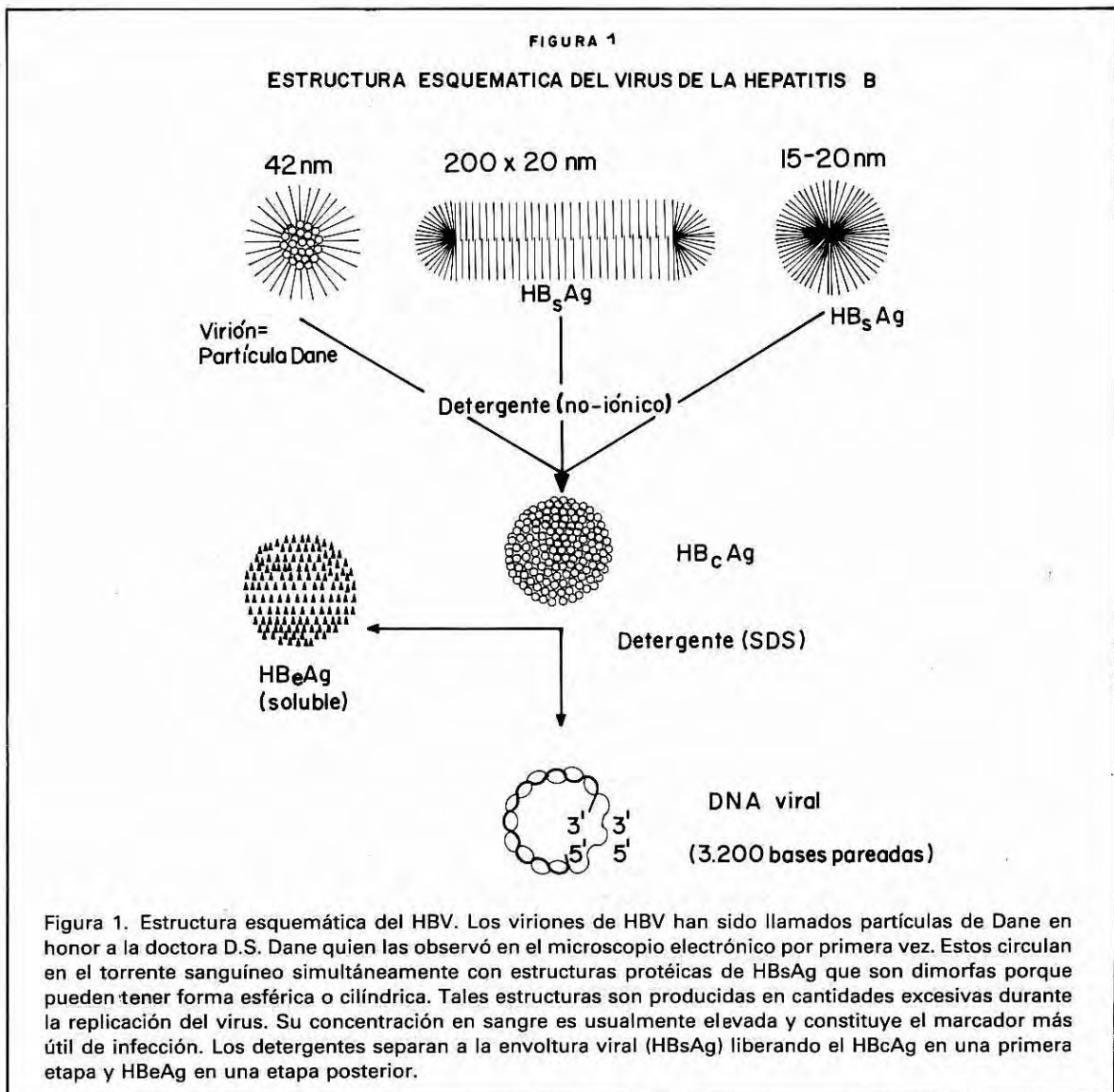
Como es bien sabido que los niños enfermos con el Síndrome de Down tienen una probabilidad más elevada de desarrollar leucemia que la población infantil general, se inició nuevamente un estudio serológico sistemático para establecer la prevalencia del agente australiano en un grupo de niños con este síndrome, hospitalizados por tal motivo en instituciones especializadas de la zona de Filadelfia, Maryland, New Jersey y Pensilvania. Los resultados fueron nuevamente sorprendentes. Por un lado cerca de la tercera parte de estos niños tenían el agente. Por el otro, cuando un individuo portaba este “antígeno australiano” continuaba teniéndolo siempre, no desaparecía; en cambio cuando el antígeno no se encontraba en el individuo éste permanecía libre del mismo, como si se tratara de un rasgo genético heredado. Tal observación permaneció como hipótesis cierta, durante algún tiempo, hasta cuando se presentó el caso del joven James Baer, quien participaba en el estudio y venía siendo observado en el grupo de individuos negativos. Este paciente permitió hacer la observación que desenmascararía finalmente la naturaleza del agente: en su último control apareció con “antígeno australiano” positivo, después de haber reaccionado siempre en forma negativa, lo cual derrumbaba la hipótesis que este agente podría ser un rasgo genético heredado. El joven Baer había desarrollado anticuerpos (seroconvertido) contra este agente- sin haber manifestado enfermedad. Para aquel entonces ya había sido identificada la naturaleza protéica del agente y puesto que la gran mayoría de proteínas son sintetizadas en el hígado, parecía razonable estudiar si había ocurrido alguna alteración hepática en ese lapso, lo cual efectivamente se comprobó en poco tiempo: el perfil químico hepático indicaba que el paciente Baer había padecido una hepatitis anictérica y subclínica. Fue así como surgió la primera asociación de hepatitis-antígenoaustraliano, asociación que fue establecida en experimentos posteriores. Hacia 1966-1967 quedó demostrado que el agente inicialmente llamado “antígeno australiano” por razones circunstanciales era precisamente el virus causante de la Hepatitis B y en 1970 se publicaron sus primeras fotografías (3).

#### Estructura del HBV.

Los Hepadnaviridae tienen uno de los genomas virales más pequeños, es una molécula de DNA

circular con 3200 bases que se aparean parcialmente formando cadena doble en forma incompleta (Figura 1). La cadena corta, que en condiciones naturales no forma el círculo completo tiene entre 1700 y 2800 bases por lo cual la porción formada por cadena sencilla puede extenderse a 15%-60% de la longitud total del genoma. Tienen cuatro genes que se denominan S,C,P y X (sinembargo los virus de aves no tienen sino los tres primeros) los cuales están localizados en la cadena incompleta. Por esta razón arbitrariamente se ha denominado con el signo

positivo (+) a esta cadena. El gene P codifica la polimerasa de los Hepadnaviridae, enzima de particular interés biológico porque tiene la propiedad de localizarse entre los extremos de la cadena incompleta de DNA y porque tiene grandes homologías con las retrotranscriptasas de los Retroviridae. El gene X codifica una proteína que parece tener funciones moduladoras de la transcripción y amplificadoras de la función de otras proteínas. Los genes S y C codifican las proteínas estructurales que tienen poder antigénico y que se describen a continuación.



### Antígeno de superficie de HBV (HBsAg).

Es posible observar dos formas del HBsAg en el microscopio electrónico: esferas que tienen 22nm de diámetro y filamentos cilíndricos de 22nm de diámetro con una longitud que oscila entre 50-230nm (figura). Las esferas se observan con mayor frecuencia en el torrente sanguíneo y están formadas por subunidades similares a las que constituyen la superficie del virus completo (partícula de Dane) pero sin la simetría uniforme que presentan aquellas. El suero de un paciente con hepatitis aguda puede contener  $3 \times 10^{-3}$  esferas por mililitro lo cual da una idea objetiva de la capacidad infecciosa que llega a tener un individuo en período agudo de infección. Los filamentos son posiblemente agregados "en fila" de cantidades variables de estas esferas.

La gran mayoría de anticuerpos neutralizantes se dirigen contra el HBsAg, cuya especificidad antigénica está codificada por el gene S. Este gene esta integrado por tres zonas de codificación denominadas S, pre-S1 y pre-S2. Cada una de estas zonas (regiones) codifica un polipéptido antigénicamente específico en tal forma que los tres ensamblados constituyen la proteína de la envoltura que denominamos HBsAg.

El polipéptido más pequeño de los tres pesa 24000 daltons y tiene 226 aminoácidos, forma las esferas de 22nm, -por lo cual es el más abundante- y está codificado por la región genética mayor-S. La zona pre-S1 codifica para un péptido de 39000 daltons formado por una cantidad que varía entre 108 y 119 aminoácidos según la cepa de HBV estudiada, y la zona genética de codificación pre-S2 codifica para un péptido de 42000 daltons. Cada uno de estos péptidos tiene su homólogo glicosilado y es el péptido de 24000 daltons el utilizado con mayor frecuencia para preparar las vacunas con técnica de ingeniería genética debido a su alto poder antigénico. El péptido codificado por pre-S2 tiene secuencias capaces de estimular protección pero también tiene un segmento que parece corresponder al "gancho" que enlaza virus y hepatocito. El péptido de pre-S1 parece tener funciones que regulan el ensamblaje del virus.

Cada región genética (S, pre-S1 y pre-S2) determina diferentes epitopes dentro de su aminoácido

respectivo; de esta manera se codifica especificidad antigénica de grupo y especificidad antigénica de subtipo. Durante la infección natural de un individuo hay respuesta de anticuerpos dirigidos a cada uno de estos epitopes de grupo y subtipo. La especificidad común de todos los HBsAg humanos se llama especificidad de grupo, es única y se denomina con la letra -a-. En cambio existen cuatro especificidades de subtipo que se comportan como los alelos de la herencia mendeliana porque son mutuamente excluyentes: son los subtipos denominados -d,y- y -w,r-. De manera que existen cuatro fenotipos principales del HBV denominados -adw-, -adr-, -ayw- y -ayr-. Estos fenotipos virales tienen distribución geográfica característica lo cual ha mostrado tener alguna utilidad epidemiológica. Por ejemplo, el subtipo -adw- predomina en América, Australia y Norte de Europa; -ayr- en Africa Occidental, Africa del Norte, Mediterraneo oriental, Europa oriental, India, Asia central y Asia del Norte; -adr- es más frecuente en China Sureste asiático, Japón y las Islas del Pacífico; -adw- y -adr- en Malasia, Tailandia, Indonesia y Nueva Guinea.

### Antígenos centrales del HBV (HBcAg y HBeAg)

La acción de algunos detergentes como el NP40 o el SDS despoja al HBV de su proteína de envoltura (HBsAg) liberando esferas de 20nm de diámetro que contienen tanto el HBcAg como el HBeAg. Estas dos proteínas centrales están codificadas por el mismo gene C.

El polipéptido dominante es HBcAg de 22000 daltons, tiene entre 183-185 aminoácidos de largo y está ligado al genoma por su extremo carboxílico. No circula en el torrente sanguíneo como el HBsAg y el HBeAg, se detecta solamente cuando están circulando viriones completos y tiene un poder antigénico muy potente. Tiene además la capacidad de estimular respuesta inmune celular de propiedades protectoras (4). Existe evidencia experimental que el poder antigénico de esta proteína estimula respuesta protectora contra sí misma, pero también contra los péptidos codificados por el gene S. Este hecho plantea la posibilidad de superar el bloqueo genético que se ha descrito en algunos individuos incapaces de responder al HBsAg, lo cual abre la

posibilidad de producir vacunas más eficaces contra la Hepatitis B.

El HBeAg es el mismo péptido dominante codificado por el gene C desprovisto de los 34 últimos aminoácidos del extremo carboxílico. Pesa 16000 daltons y es ávido por la albúmina sérica, la alfa antitripsina y por las inmunoglobulinas; cuando está unido a alguna de estas proteínas parece que es capaz de enmascarar los determinantes antigénicos del HBcAg. Está localizado en la porción más interna del genoma en tal forma que es preciso tratar el HBV más vigorosamente con detergente para descubrir este antígeno.

## BIBLIOGRAFIA

1. **Blumberg BS.** Actualización en Hepatitis B y su vacuna, VIII Conferencia inter-departamentos, Facultad de Medicina, Universidad de California en Davies, 1983. Apuntes de grabación en cassette personal.
2. **Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S.** A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA.* 1965; 191:541.
3. **Dane DS, Cameron CH, Briggs M.** Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet.* 1970;2:695.
4. **Ginsberg HS.** Hepatitis Viruses, Chapter 63 in *Virology*, Edited by Dulbecco R, Ginsberg HS. J.B. Lippincott Co. 1988; Second Edition. Philadelphia.
5. **Zuckerman AJ, Harrison TJ.** Hepatitis B Virus and Hepatitis D Virus, Chapter 2.ii in *Principles and Practice of Clinical Virology* Edited by Zuckerman AJ Banatvala JE, Pattison JR. John Wiley & Sons Lts. 1990 Second Edition. West Sussex.
6. **Robinson WS.** Hepadnaviridae and Their Replication, Chapter 76 in *Fields VIROLOGY*, Edited By Chanock RM, Hirsch MS, Melnick JM, Monath TP, Roizman B. Raven Press. 1990, Second Edition. NY.
7. **Milich DR.** Genetic and Molecular Basis for T-and B-Cell Recognition of hepatitis B Viral Antigens. *Immunol Rev.* 1987;99:71.