

LA HEPATITIS B: UN ENFOQUE PREVENTIVO

El odontólogo, grupo en riesgo
(1a. parte de 3)

Ofelia Fernández
Edwin Betancor*

INTRODUCCION

El hígado es uno de los órganos que con más frecuencia sufre lesiones. Por fortuna su reserva funcional es enorme, se ha demostrado en experimentación animal que sólo con un 19 % del parénquima hepático se puede mantener la función normal. Esto muestra que es necesario una lesión extensa antes de que ésta presente manifestaciones clínicas por signos de insuficiencia hepática.

Podríamos hacer una larga lista de enfermedades hepáticas que incluirían una gran variedad, pero nos referiremos a las hepatitis virósicas y dentro de ellas exclusivamente a la hepatitis B. La hepatitis viral es una infección primaria causada por una serie de virus, algunos identificados y caracterizados, mientras que otros están aún por dilucidar. Los agentes virales en cuestión son:

- * El virus de la hepatitis A (VHA).
- * El virus de la hepatitis B (VHB).
- * El virus de la hepatitis no A - no B (VH no A - no B)
- * El virus de la hepatitis Delta (VHD).

Otros virus pueden también causar hepatitis, como ser los citomegalovirus, herpes simple, varicela zoster, de Epstein Barr y el de la varicela, pero no son patógenos hepáticos primarios.

Las hepatitis virales son enfermedades conocidas desde hace mucho tiempo, pero no fue hasta el siglo pasado cuando se vinculó la ictericia con la enfermedad hepática.

El conocimiento del origen vírico de esta enfermedad data de principios de siglo, pero recién en 1947 se comenzó a distinguir entre hepatitis A y B y hace

aproximadamente una década se empezó a distinguir la hepatitis no A - no B (11).

La hepatitis A (hepatitis infecciosa) es una enfermedad epidémica que se caracteriza por propagarse bruscamente a partir de un foco inicial. La hepatitis B (hepatitis sérica) no es epidémica, se transmite en forma ocasional, por ejemplo por medio de transfusión de sangre o la utilización de jeringas hipodérmicas contaminadas. En algunos lugares es endémica, en éstos se presenta en forma permanente la infección y la transmisión del virus se produce por contacto íntimo entre personas.

Recientemente se ha reconocido otro agente vírico, el virus Delta. (28) Este virus es un virus defectuoso que requiere una infección activa con el VHB para poder replicarse en las células del huésped. (28) Esto determina que las infecciones por el VHD se presentan sólo en enfermos infectados aguda o crónicamente con VHB y generalmente ésta asociación de infecciones presenta una enfermedad hepática más severa y progresiva.

En lo que tiene referencia con la hepatitis no A-no B el agente no se conoce todavía pero hay formas de transmisión parenterales y otras entéricas. Algunos sugieren la posibilidad de la existencia de más de un virus. (13, 14) Los tres principales tipos de hepatitis vírica difieren en la gravedad de la infección, la mortalidad, la morbilidad, y en el desarrollo de portadores crónicos. (tabla 1)

Al presente la hepatitis B parece ser la de mayor vinculación con la

atención odontológica por dos motivos fundamentales.

* Los odontólogos son dentro de los trabajadores de la salud, el grupo que corre mayor riesgo de infección (2, 8, 23, 25)

* Las maniobras necesarias para el tratamiento odontológico pueden, si no se cumplen estrictamente las reglas de asepsia-antisepsia, ser causa de infección para el paciente (1,9).

LA HEPATITIS B

La combinación de un descubrimiento aparentemente casual y una coincidencia "afortunada", junto con el uso adecuado y sistemático del método epidemiológico son los elementos que posibilitaron el descubrimiento del virus de la hepatitis B. (22).

En 1961 el Dr. B. Blumberg que estaba investigando la influencia genética sobre el sistema inmune encontró que, un anticuerpo presente en la sangre de una persona hemofílica reaccionaba con un antígeno "desconocido" presente en la sangre de un aborigen Australiano. Blumberg denominó a este antígeno "misterioso", Antígeno Australia.

Ya a mediados de la década del 60 se sabía que este antígeno no se transmitía genéticamente sino que se adquiría quizás por contagio, por infección. En Mayo de 1967 ocurre una afortunada coincidencia, un miembro del equipo de Blumberg contrae una hepatitis B y el análisis de su sangre muestra que es positivo al Antígeno Australia.

Estudios posteriores demostraron que el Antígeno Australia no era otra

* Escuela de Graduados Facultad de Odontología

TABLA 1 CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS HEPATITIS VIRALES

	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis no A - no B
Tipo de virus	ARN	ADN	?
Período de incubación	2 - 6 semanas	2 - 6 meses	2 semanas a 2 meses
Vías de infección	oral - fecal	parenteral	parenteral y oral - fecal
Gravedad de la infección	media	puede ser grave	moderada
Complicaciones	raras	<ul style="list-style-type: none"> * casos de enfermedad crónica * carcinoma hepatocelular * poliarteritis nodosa * glomerulo- Nefritis crónica * crioglobulinemia esencial 	
Desarrollo de Portadores crónicos	-	+	+
Mortalidad	0,1%	1 - 2%	1 - 2%

cosa que el antígeno de superficie del VHB (Ag HBs) Los posteriores trabajos de Blumberg llevaron a la identificación del virus y al premio Nobel de Medicina del año 1967. (5).

La infección por VHB presenta en general una expresión patológica variada.

* Puede suceder que no engendre ningún síntoma aparente aunque sí el organismo y su sistema inmunitario reaccionan contra el virus y desarrollan anticuerpos específicos contra él.

* En otros casos, luego de una incubación de dos a seis meses, aparece una hepatitis que se manifiesta por determinados signos clínicos: dolores abdominales, náuseas, ictericia, etc. y por signos biológicos; que revelan una afección hepática. Nada distingue este cuadro de una hepatitis A, para hacer el diagnóstico diferencial es necesario identificar en la sangre del enfermo los antígenos representativos. En general es una prueba inmunológica que consiste en la detección del (Ag Hbs) en la sangre del enfermo.

* En contados casos se puede desarrollar una hepatitis "fulminante", es decir fatal, por una necrosis masiva del hígado. Esto no se debe a una mayor virulencia del virus sino al parecer a una respuesta inmunitaria exagerada, muy intensa del organismo. La destrucción de las células hepáticas no se debe a los virus sino a la acción de los linfocitos T citotóxicos encargados de liberar al organismo de las células infectadas por el VHB.

La mayoría de las hepatitis evolucionan a la curación total en algunas semanas, los síntomas clínicos y biológicos remiten, no se encuentra Ag HBs en la sangre pero sí encontramos anticuerpos anti-HBs, estos son luego permanentemente encontrados aún cuando se haya eliminado completamente el agente infeccioso. El organismo continúa formando en pequeñas cantidades anticuerpos anti-HBs y en cada nuevo encuentro con el virus estos son producidos nuevamente en cantidades suficientes como para asegurar la inmunidad (protección) del

organismo frente a la infección. La inmunidad así adquirida contra la hepatitis B es única y duradera. Por lo tanto la mayoría de las personas que hayan estado en contacto con el virus, hayan estado o no enfermas, presentan en su sangre el anticuerpo anti-HBs. De esta forma es posible evaluar la frecuencia de incidencia de esta infección en una población dada, por medio de una búsqueda sistemática de este anticuerpo en su sangre. El porcentaje de las personas con anticuerpo anti-HBs en su sangre varía entre 10 % en los lugares de baja incidencia al 80 % en las regiones donde la hepatitis B es endémica. (24).

*En un pequeño número de casos la infección por VHB se cronifica. En estas personas encontramos niveles altos de Ag HBs en la sangre, no aparecen los anticuerpos respectivos y el enfermo se convierte en un portador crónico del virus. Se ha encontrado que un 85 % de los niños recién nacidos que se infectan se transforman en portadores crónicos mientras que tan sólo entre un 5 a un 10 % de los adultos infectados evolucionan a la

cronicidad. No conocemos adecuadamente todavía las razones que conducen a la cronicidad, aunque podemos decir que globalmente está en relación con una respuesta inmunitaria insuficiente. Esto último estaría explicado por el hecho de que el niño pequeño posee un aparato inmunitario inmaduro lo que determina que con mayor frecuencia no hay una respuesta inmune adecuada y pasa a transformarse en portador crónico. Hay muchos tipos de portadores crónicos de VHB entre los que podemos distinguir:

* El portador sano que sólo presenta lesiones hepáticas mínimas.

* El hepatópata con una moderada alteración de las funciones del hígado

* El enfermo crónico activo con importantes perturbaciones hepáticas

En algunos casos la hepatitis crónica puede conducir a la cirrosis, tarde o temprano mortal y también al cáncer de hígado, secundario en general a la infección crónica. Esto último hace del VHB uno de los virus cuya importancia en la aparición del cáncer en hombre está probada por evidencias biológicas, epidemiológicas y experimentales. (3, 4, 6, 10, 31). Recientemente se ha podido observar que determinadas características del VHB se aproximan a los retrovirus cancerígenos, cosa que analizaremos más adelante.

El tiempo requerido para el desarrollo del cáncer es variable, pero siempre es largo entre 30 y 50 años, aunque algunos casos de hepatocarcinomas han sido descriptos en el niño.

La epidemiología como ciencia ha jugado un papel importantísimo tanto en el descubrimiento como en la comprensión de la biología, la distribución a nivel mundial y la importancia de la infección por VHB. Esto en parte es debido a una característica casi única del VHB en la patología vírica humana que es el hecho que en los portadores crónicos el Ag HBs está presente en grandes cantidades en su sangre y la mayoría de los casos persiste durante muchos años. La detección del antígeno de superficie en el suero es simple y se

puede efectuar en forma rutinaria por lo que el Ag HBs constituye un excelente marcador de infección vírica. Su investigación permite estimar el porcentaje de portadores crónicos en una población y evaluar por tanto la importancia de la presencia del virus en la región estudiada. También la detección del anticuerpo anti-HBs en suero sirve para saber cuántos individuos de una población dada estuvieron en contacto con el virus y respondieron inmunitariamente. La suma de las dos determinaciones en forma general nos puede dar una idea de la experiencia de infección por VHB en una población dada de una región determinada.

En forma esquemática se pueden distinguir a nivel mundial tres grandes regiones con diferentes prevalencia.

1. PACIFICO OESTE, SURESTE ASIATICO Y AFRICA SUBSAHARIANA.

En estas regiones la infección vírica es muy frecuente y podemos encontrar que un 80 % de población estuvo en contacto con el virus. Los portadores crónicos constituyen casi un 10 % de la población con variaciones regionales, por supuesto.

2. AMERICA DEL SUR, EUROPA DEL ESTE, CUENCA MEDITERRANEA, ORIENTE MEDIO.

Son regiones donde la frecuencia de la infección vírica es moderada.

3. AMERICA DEL NORTE, AUSTRALIA.

Son las regiones de menor incidencia donde sólo un 10 % de la población ha conocido el virus y los portadores crónicos representan menos del 1 % (fig. 1).

En la población mundial se calcula en unos 200 millones las personas portadoras crónicas del VHB y de ellas 150 millones se encuentran en el Extremo Oriente. En consecuencia el cáncer primitivo de hígado es uno de los más frecuentes mundialmente, sólo en China se diagnostican más de 500.000 al año.

Este tipo de distribución y frecuencia a nivel mundial es común a todas las enfermedades infecciosas

donde las condiciones y los niveles de vida son factores determinantes. La hepatitis B no escapa a esta regla.

El estado de endemia en Asia y Africa se debe esencialmente a las malas condiciones de vida, la mala higiene y la promiscuidad que favorecen la propagación intrafamiliar del VHB. En estas regiones la infección vírica es perinatal y se produce durante el parto o durante los primeros meses de vida, a través del contacto cotidiano de hijo-madre (20, 26). Como ya vimos la respuesta inmunitaria del bebé es menos eficaz por lo que las posibilidades de transformarse en portador crónico aumenta muchísimo y si a esto se le agrega la mal nutrición que tiene mucha influencia sobre la respuesta inmunitaria tenemos un círculo retroalimentado positivamente. Si la infectada es una niña tenemos asegurada la transmisión a los futuros hijos, del virus. Como veremos este tipo de transmisión no es el único ni el más importante en otras regiones con una densidad de infección menor.

En las zonas no endémicas de menor tasa de infección, el problema de la hepatitis B debe ser considerado de otra forma. El virus está presente en la sangre, en la saliva y en secreciones internas del infectado, lo que trae aparejado que todo contacto íntimo entre dos individuos de la madurez que sea (sexual incluido) es posible fuente de contaminación. (8, 12, 19). En estos países hay grupos de población muy expuestos a la infección con el VHB, son los llamados grupos de alto riesgo especialmente constituidos por personas en contacto directo con portadores crónicos o que manipulan sangre, saliva u otro tipo de secreciones, (personal médico en general y dentro de estos los odontólogos) (15) o las personas que deben recibir determinados productos derivados de la sangre, (hemofílicos, hemodializados o personas que reciben transfusiones), o personas que mantienen múltiples compañeros sexuales. Para el resto de la población el riesgo de contagio es escaso.

DISTRIBUCION MUNDIAL DEL VHB

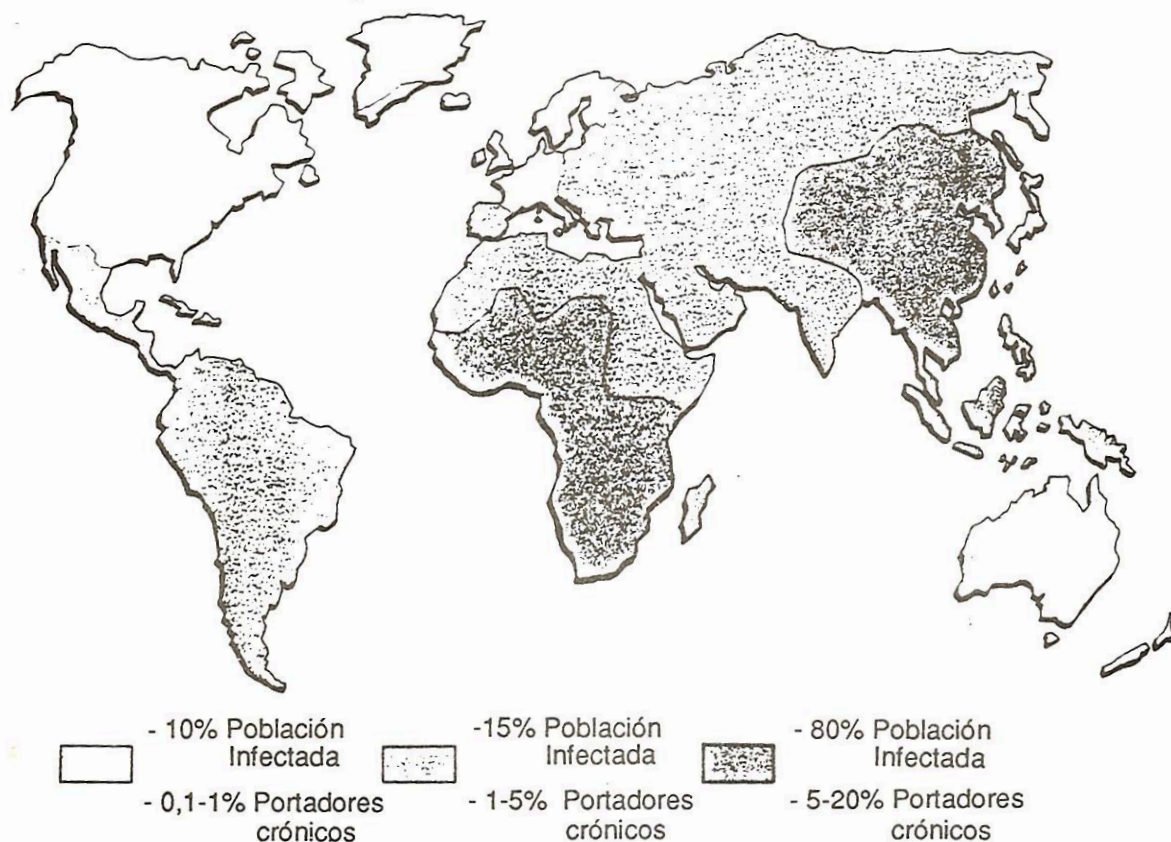


Fig. 1

En forma esquemática se distinguen en el mapa las distintas regiones que muestran diferentes experiencias de infección en sus poblaciones así como distinto porcentaje de portadores crónicos.

Mientras que en las zonas endémicas la hepatitis B es una enfermedad del recién nacido en el resto del mundo afecta más bien al adulto. Esto como veremos es de fundamental importancia en el desarrollo de la estrategia preventiva. En las zonas endémicas la posibilidad de infección es prácticamente igual en todos por lo que se requiere una vacunación masiva mientras que en las otras regiones sería adecuado solo vacunar a los grupos en riesgo. (15)

El estudio sistemático de la presencia de Ag HBs en las poblaciones ha permitido relacionar el porcentaje de portadores con la

frecuencia del cáncer de hígado.

En China el cáncer hepático es el más frecuente y entre los individuos con hepatocarcinoma es más elevada la presencia de portadores crónicos de VHB que en una población testigo. En un estudio prospectivo realizado en Taiwan se puso de manifiesto que en los portadores crónicos el riesgo de desarrollar un cáncer hepático es 200 veces mayor que en la población en general. (4)

Si esto lo comparamos con el riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón en fumadores que es sólo 10 veces mayor que el de la población general comprendemos la gravedad de

este problema.

El riesgo de que los odontólogos se infecten con el VHB como vimos es grande, esto hace necesario la realización de un estudio de la real incidencia de esta infección en los odontólogos de nuestro país y en segundo lugar es necesario estudiar las medidas preventivas necesarias y adecuadas que deben implementarse para evitar esto. En este último sentido trataremos de avanzar algo más en este informe.

BIOLOGIA DEL VHB

Una de las características básicas del VHB es su especificidad de especie y su hepatotropismo

El rango de huéspedes de este virus es estrecho. Se ha encontrado infección productiva sólo en el hombre y primates superiores. En estos huéspedes el VHB infecta en primer lugar la célula hepática ya que es en ella donde encontramos los antígenos virales, el ADN viral así como formas intermedias de su metabolismo y también viriones maduros.

Recientemente encontraron, si bien en poca cantidad, secuencias de ADN vírico en leucocitos sanguíneos y en células de médula ósea. Se ha informado también la presencia de rastros de ADN viral en algunas células de la piel pero esto es necesario confirmarlo. (16) El ADN encontrado en las zonas extrahepáticas difiere en su estructura de las formas y patrones corrientes que poseen los intermediarios de la replicación por lo que se considera que si bien estos pueden ser lugares de "reserva" la célula fundamental para la replicación del virus es el hepatocito.

Los otros virus de la familia Hepadna a la cual pertenece el VHB (virus de la hepatitis de la marmota; Woodchuck, VHBW, el de la hepatitis del pato; Duck, VHBD y el de la ardilla terrestre; Ground Squirrel, VHBGS) presentan también una especificidad de especie y hepatotropismo.

Como vimos en la introducción la infección primaria es en la mayoría de los casos limitada, rápidamente superada por el huésped; este cura al cabo de unas pocas semanas y se libera del virus a la vez que desarrolla una protección inmune activa. Pero un porcentaje de personas no resuelve definitivamente esta infección primaria y desarrollan una infección vírica, persistente o crónica con expresión de una resistencia limitada o sin protección inmune. Estas personas son el "reservorio biológico" del virus, garantía de su permanencia y dispersión. Se garantiza su

permanencia pues la infección continúa toda la vida, el huésped crónico es incapaz de liberarse del virus por sí. La dispersión a partir de este reservorio biológico se puede hacer horizontalmente (persona a persona aún por vía sexual) o verticalmente (de madre a hijo). También se produce dispersión a partir de los enfermos agudos pero comparativamente este compartimento no tiene la importancia biológica del de reserva.

Por otro lado las infecciones crónicas presentan un índice de mortalidad mucho mayor que las agudas pues como vimos se asocian al desarrollo del carcinoma primario de hígado. El comprender las bases moleculares de esta asociación es uno de los desafíos más importantes para los científicos en este campo.

I MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA DEL VHB

Si miramos al microscopio electrónico una preparación parcialmente purificada de VHB en suero, distinguimos tres tipos de estructuras:

* Una partícula de 43 nm de diámetro cubierta por una doble capa (partícula Dane o virión).

* Esferas de 20 nm de diámetro generalmente mucho más abundantes que las anteriores

* y filamentos de 20 nm de diámetro y longitud variable (fig.2)

La partícula vírica está formada por una doble pared que contiene en su interior el patrimonio genético. La pared más externa se llama envoltura y la pared interna se denomina capsida. El patrimonio genético está constituido por ADN. El VHB es el de genoma más pequeño entre los virus ADN parásitos de células animales. Su talla no supera los 3.200 nucleótidos (eslabones elementales del ácido nucleico). El virus del herpes simple en cambio presenta alrededor de 100.000 nucleótidos.

Algunos virus tienen su genoma constituido por ARN, como es el caso

de los retrovirus cancerígenos. Como veremos más adelante el VHB presenta aspectos biológicos similares ya que tiene una forma intermediaria de replicación en donde se sintetiza una molécula de ARN.

El VHB pertenece a la familia de los Hepadnavirus (Hepatotropic DNA viruses). Los miembros de esta familia son clasificados por sus estructuras aunque posean algunas diferencias biológicas como el tropismo por determinados tejidos, el espectro patogénico y las vías de transmisión.

El genoma del VHB presenta una característica muy original, una asimetría muy notoria en su molécula en relación con otros cromosomas virales. El ADN del que está constituido no tiene estructura en doble hélice más que en un fragmento de su longitud total. Está compuesto por dos cadenas o filamentos de ADN dispuestos en círculo; uno denominado filamento largo o L que comprende efectivamente los 3.200 nucleótidos señalados antes. La otra cadena de ADN denominada filamento S es de aproximadamente del 50 % de la longitud del filamento L, es decir que sólo la mitad del ADN viral presenta una doble cadena, el resto está representado por un único filamento (13)

Esta asimetría se explicará cuando estudiemos la replicación del virus.

LA CAPA EXTERNA O ENVOLTURA

Está constituida por una doble capa lipídica en la cual encontramos empotradas proteínas. Estas han sido bien estudiadas y se conoce su composición y secuencia de aminoácidos. Podemos distinguir tres proteínas distintas formadas a la vez por tres subunidades proteicas (fig. 2)

* La proteína mayor. Así llamada por ser la más abundante es esta la que constituye la expresión fundamental del Ag HBs. Está a su vez formada por dos subunidades polipeptídicas. Una llamada PI de 24 kd de peso molecular y la otra PII de 27 kd, ésta última se diferencia de la anterior en que posee grupos glucosados es decir que es una glucoproteína. Algunos sostienen que

EL VIRION DE VHB Y SUS PARTICULAS ASOCIADAS

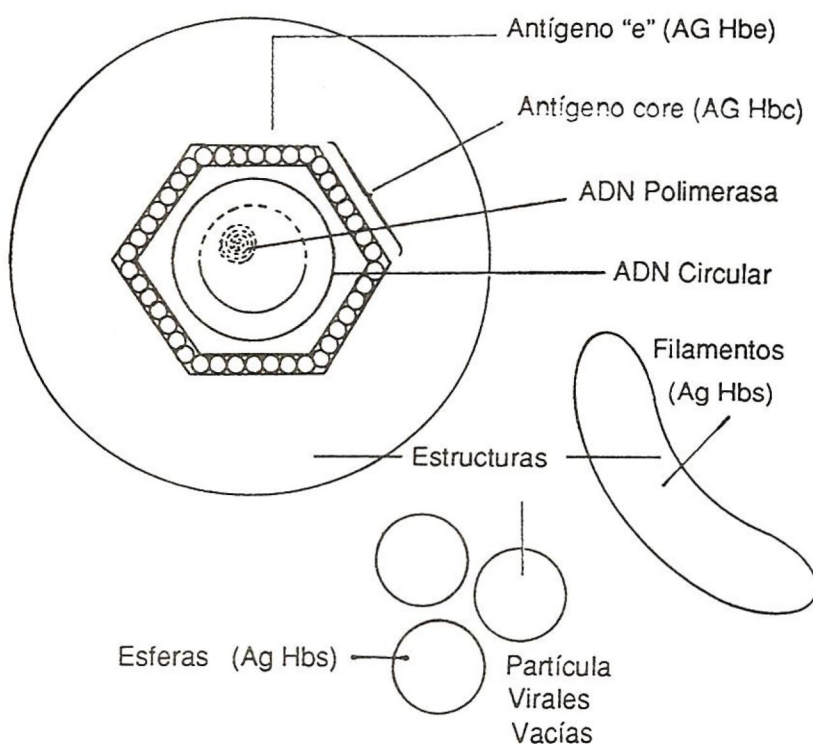


Fig. 2

Vemos aquí los principales elementos que forman el virión (o partícula Dane) y las estructuras asociadas que se encuentran en la sangre, semen, saliva y líquidos corporales de las personas infectadas. Es de destacar las partículas variadas (esferas y filamentos) producidos en grandes cantidades por las células infectadas y fuente principal de Ag Hbs.

estos grupos son factores determinantes de la antigenicidad (AgHBs) esto no está probado. Estas dos subunidades están unidas por medios de puentes disulfuro y su extremo hidrofóbico se incrusta en la bicapa lipídica, mientras su parte hidrofílica es la que posee determinantes antigénicos. (fig. 3)

La proteína media presenta un peso molecular intermedio. Su estructura es similar a la de la proteína mayor pero aquí los polipéptidos PI y PII tienen asociada otra subunidad proteica es decir que esta proteína presenta dos tipos diferentes de subunidades proteicas en su composición. Al parecer una de sus

funciones de gran trascendencia para el virus es permitir la fijación del virus a la molécula de albúmina, y su posterior ingreso a la célula. (35)

* La proteína grande tiene un peso molecular de 70 kd siendo por lo tanto la de mayor tamaño y presenta reacción cruzada con la albúmina, está formada a la vez por dos subunidades proteicas iguales.

El Ag HBs fue descubierto por Blumberg y Riddell durante sus estudios de polimorfismo genético en el hombre y se le designó en ese momento con el nombre de antígeno Australia. Este antígeno es una glicoproteína de 24 kd de peso molecular que se encuentra también

en la parte exterior de las esferas y los filamentos. Estos dos tipos de estructuras están formados exclusivamente por el AgHBs y lípidos asociados que derivan de las membranas celulares de la célula huésped sin contener ADN, por esto se les llama también envoltorios vacíos. Estos dos tipos de partículas por tanto son no infecciosas. Estas partículas subvirales son producidas por las células infectadas en cantidades muy grandes y como un aspecto característico de la infección. La razón de este enorme esfuerzo de producción no es bien comprendido todavía pero la hipótesis de que pueden representar "partículas señuelo" con el fin de absorber, gastar y confundir la acción de los anticuerpos anti-AgHBs es muy atendible. (16) El Ag HBs se encuentra en cada etapa de la infección y prácticamente en todos los líquidos y tejidos del organismo, pero no en las heces y su presencia es asociada con infectividad, también se los encuentra en el citoplasma del hepatocito infectado.

Desde el punto de vista de su determinación antigénica existen dos grupos de AgHBs que son mutuamente excluyentes y cada uno presenta dos subgrupos. (Cuadro 1)

LA CAPA INTERNA O CAPSIDA

A diferencia de la capa externa se compone de una sola clase de proteínas, cuyo componente principal es una fosfoproteína de 21 kd que es el antígeno core o antígeno c (AgHBc). Esta capa es la que recubre directamente al genoma. El anticuerpo anti Ag HBc está siempre presente en el plasma de portadores crónicos. Este anticuerpo puede lograr la precipitación del genoma viral y su actividad asociada de ADN polimerasa.

Generalmente el AgHBc se encuentra en forma de partícula en el citoplasma y en el núcleo de las células infectadas. El Ag HBc del VHB se acumula fundamentalmente en el núcleo del hepatocito mientras que el de VHBW y el VHBd lo encontramos

ESTRUCTURA DE LA CAPA EXTERNA DEL VHB

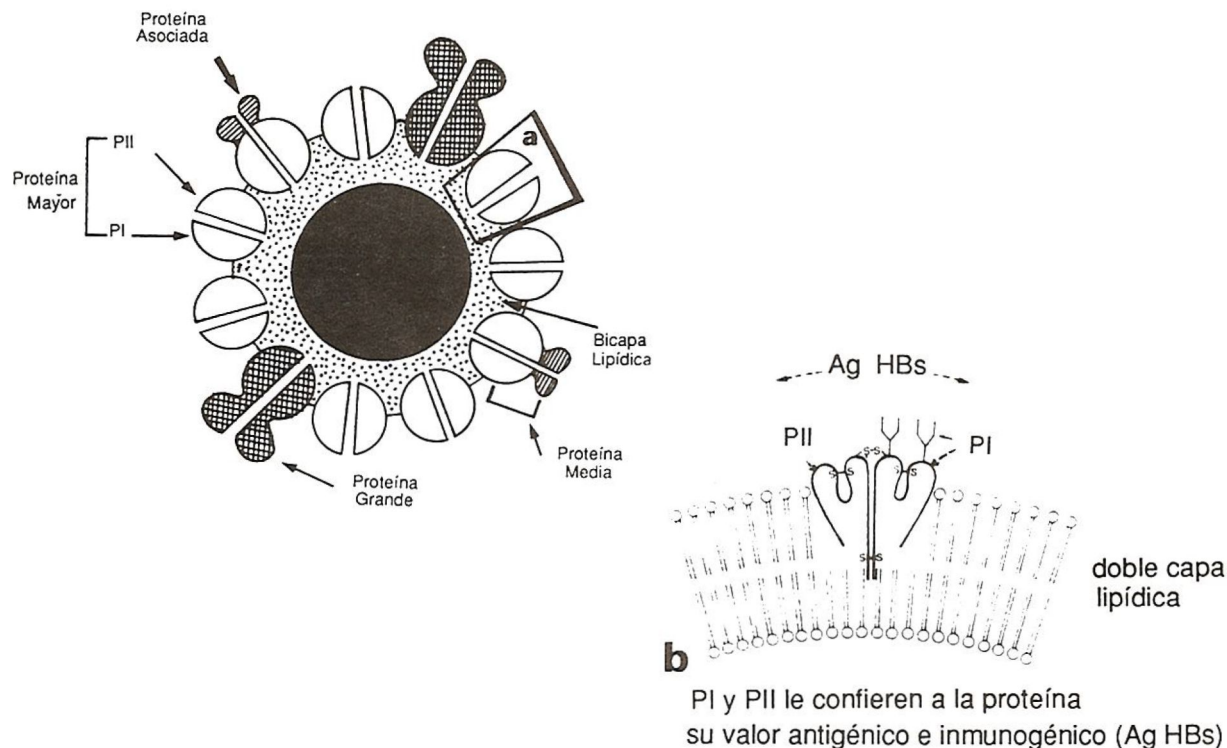


Fig. 3

El modelo muestra la estructura general del virus y en particular las proteínas de la capa externa. En ésta encontramos tres tipos de proteínas, a su vez formadas por tres sub-unidades. En B vemos un modelo aumentado de la proteína mayor (A) mostrando la estructura molecular del antígeno de superficie (Ag. Hbs). Por otras referencias ver el texto.

fundamentalmente en el citoplasma. La síntesis de Ag HBc se realiza en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi del hepatocito, allí encontramos algunos polipéptidos pre-core. Algunos de estos polipéptidos sufren procesos de proteólisis y son segregados al medio. Fragmentos de Ag HBc fruto de esta proteólisis los encontramos en el suero de enfermos. El principal de estos fragmentos es un antígeno de 16 kd conocido como antígeno "e".

La identificación del antígeno "e" es indicativa de replicación viral y es un indicador más preciso para la infectividad que el brindado por

AgHBs.

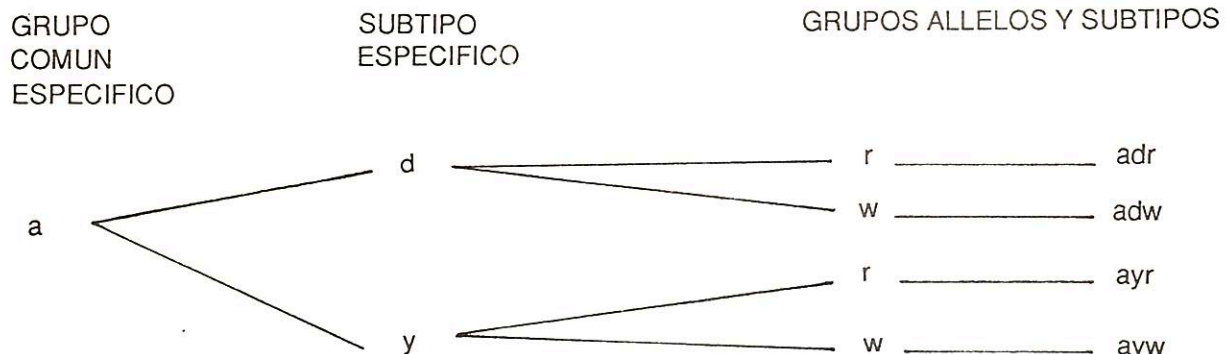
Ultimamente se ha descrito un nuevo sistema de antígeno y su anticuerpo específico el antígeno Delta. Generalmente no es detectable en sangre. Ha sido purificado del núcleo del hepatocito infectado y caracterizado como una proteína con un peso molecular de 68 kd. Su biología es similar a la del AgHBc, también se ha visto incluido en las partículas de AgHBs.

La mayoría de los autores consideran a este antígeno como un agente vírico defectuoso que puede replicarse solo en personas con HVB en actividad previa o concomitante. La

infección mixta es habitualmente más grave. En una proporción muy importante los individuos con infección doble desarrollan o expresan un grado más alto de citotoxicidad de las células hepáticas.

Es considerado un marcador de cronicidad y su presencia indica por tanto enfermedad crónica del hígado y está vinculado a la actividad de ADN polimerasa. Se lo encuentra en los últimos días del período de incubación en el 10 % de los sueros de los enfermos. Es habitualmente encontrado en la fase aguda de pacientes que desarrollarán hepatitis crónica, pero está ausente en el suero

TIPOS DE Ag HBs del VHB



Cuadro 1

de portadores sanos aunque en ellos puede existir anticuerpo anti "e".

Entre las teorías que explican la biología del agente viral delta puede ser necesario que el mismo sea encapsidado para poder penetrar a las células hepáticas pero también es posible que necesite una complementación del genoma del VHB para su replicación o aún que active las funciones del huésped para que este lo replique.

EL GENOMA. LA ORGANIZACION GENETICA

A partir de 1979 el desarrollo de las técnicas de Ingeniería Genética y su aplicación para estudiar este virus ha permitido determinar la naturaleza del encadenamiento (es decir la secuencia) de los 3.200 nucleótidos de su genoma. La técnica de secuenciación de ADN nos permite localizar el conjunto de genes de su patrimonio genético.

Los genes están constituidos por la secuencia de nucleótidos que tienen por función determinar síntesis de proteínas útiles para la actividad vital de un virus (o célula).

La secuencia de los aminoácidos de la proteína está rigurosamente determinada por el encadenamiento de los nucleótidos en la cadena de ADN que forman el gen.

La clave de esta correspondencia es el código genético. A una combinación dada de tres nucleótidos en el gen corresponde un aminoácido en la proteína.

Un gen conduce a la formación de una proteína en dos etapas: la secuencia de ADN del gen es copiada en una secuencia de ARN que constituye el denominado ARN mensajero (ARNm).

Luego este debe ser "traducido" en una proteína mediante la "maquinaria bioquímica" de la célula. Esto significa que los tripletes de nucleótidos del ARNm son sucesivamente "leídos" y paralelamente encadenados los aminoácidos de las proteínas correspondientes a los tripletes.

Establecida la secuencia de nucleótidos del ADN total del genoma y mediante la aplicación del código genético, se han podido determinar cuatro fragmentos genes capaces de ser traducidos en encadenamiento de aminoácidos, determinando así la síntesis proteica. El patrimonio hereditario comprende cuatro genes potenciales que han sido denominados S, C, P y X. (fig. 4)

Estos cuatro genes no son contiguos (no están uno a continuación de otro) sino que se encuentran solapados es decir que los mismos nucleótidos pueden intervenir de varias formas en la codificación de las proteínas según su posición relativa en un triplete. O lo que es lo mismo una misma cadena de ADN puede ser leída de varias maneras diferentes y conducir de este modo a la síntesis de proteínas distintas.

Es un principio de economía que obedece a que responde a la existencia

de un genoma de reducido número de nucleótidos. (24)

II REPLICACION VIRAL.

El mecanismo de replicación viral ha comenzado a ser estudiado recientemente debido al desarrollo de las técnicas de Ingeniería Genética, puesto que hasta este momento estábamos en la imposibilidad de cultivar el virus y multiplicarlo en cultivos celulares.

Para estos experimentos fue de gran utilidad el VHBD, todos los virus Hepadna tienen genoma muy próximo por lo que los resultados pueden transferirse.

En 1982 W. Manso y A. J. Summers (16) propusieron el mecanismo de replicación de los virus Hepadna que parece ir confirmándose lentamente. El proceso es el que esquematizamos en la figura 5.

Podemos reducirlo a cuatro pasos fundamentales:

1) Conversión del ADN asimétrico en una cadena circular cerrada covalente (ADNccc)

2) Transcripción del ADNccc en ARN mediante ARN polimerasa o lo que es lo mismo formación del ARN pregenómico.

3) Síntesis de la cadena larga de ADN por copia pregenómica. En realidad podríamos hablar de una imagen en espejo del mecanismo de replicación estudiado para los retrovirus.

EL GENOMA DEL VHB Y SUS ASPECTOS FUNCIONALES

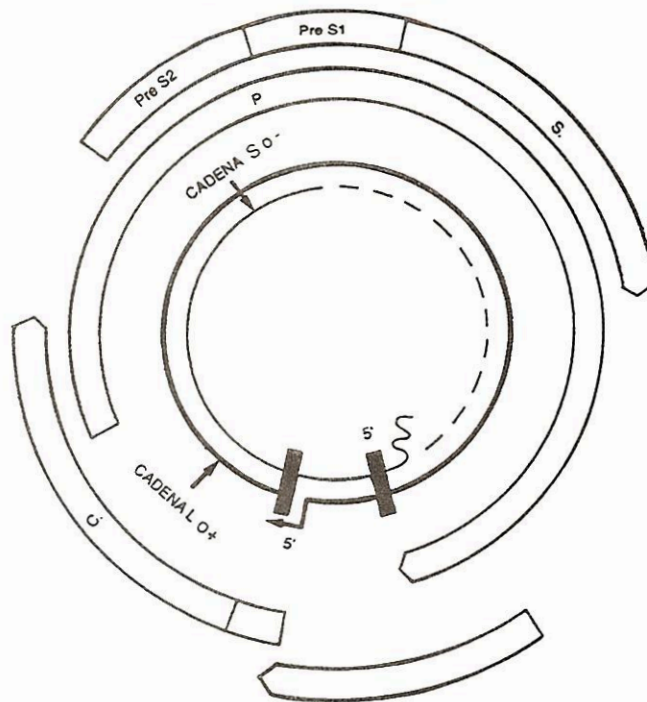


Fig. 4

En la parte central de la figura marcado con líneas llenas las dos cadenas de ADN viral, la más larga cadena L₀₊ y la más corta cadena S₀₋

En este patrimonio hay cuatro espacios principales de lecturas o genes, todos ellos codificados en la cadena L. El gen S que codifica las proteínas de la superficie o AgHBs es el más complejo. Presenta tres pautas o divisiones funcionales: la región S que se puede leer en una fase y la parte pre S que presenta una lectura en dos partes PreS1 y PreS2. Esta división está hecha por un codón.

El gen C codifica las proteínas del AgHBc que también se encuentran precedidas por región de lectura en fase llamada preC que es la que genera los polipéptidos mayores relacionados con AgHBc. Solapado por este gen y por el gen X del cual no conocemos su función encontramos al gen P que es el más grande pues es el responsable de codificar la ADNpolimerasa. Esto es un esquema general pues los productos finales "in vivo" pueden ser diferentes dependiendo de la transferencia - hibridación resultante de la copia por el ARN o por los eventos post-transferencia. Encontramos 11 nucleótidos que se repiten dos veces en el genoma, estas repeticiones directas (DR1 y DR2) se localizan cerca en el final 5' de la cadena L y S y están relacionadas con la iniciación de la síntesis de ADN viral.

4) Síntesis de la cadena corta de ADN por copia pregenómica.

Los retrovirus contienen una molécula de ARN y el intermediario de la replicación es una molécula de ADN, mientras que las partículas de los virus Hepadna contienen una molécula de ADN y su intermediación de replicación es una molécula de ARN.

La diferencia que presenta con los demás virus ADN se expresa en no ser copiada directamente en forma de ADN por una ADN polimerasa, sino que comprende un estadio intermedio: el pregenoma de ARN.

Una vez que la partícula vírica se encuentra en el interior de la célula huésped el ADN vírico llega al núcleo de la misma. Allí previa transformación en ADNccc (Etapa 1), es copiado en gran número de moléculas ARN por la acción de la ARN polimerasa de la célula huésped (Etapa 2). En esta etapa se sintetizan varios tipos de ARN de copia pero sólo uno de ellos es el ARN "genómico" o "pregenoma" que contiene la representación completa del genoma viral. Los ARNm son los moldes para las restantes proteínas víricas.

El pregenoma ARN es copiado

luego por acción de la ADN polimerasa que a este nivel actúa como retrotranscriptasa. La primera de las cadenas de ADN vírico copiada es la cadena L o menos (Etapa 3). A medida que se va copiando la cadena L, el ARN pregenómico va siendo destruido, esto trae como consecuencia que la ADN polimerasa no puede copiar por segunda vez la totalidad del mismo. Eso explica que la cadena S o más, es más corta y de longitud variable ya que depende de la relación variable entre la velocidad de destrucción y la de copia.

Simultáneamente a esto por copia de

VISTA GENERAL DEL CICLO DE REPLICACION DE LOS VIRUS HEPADNA

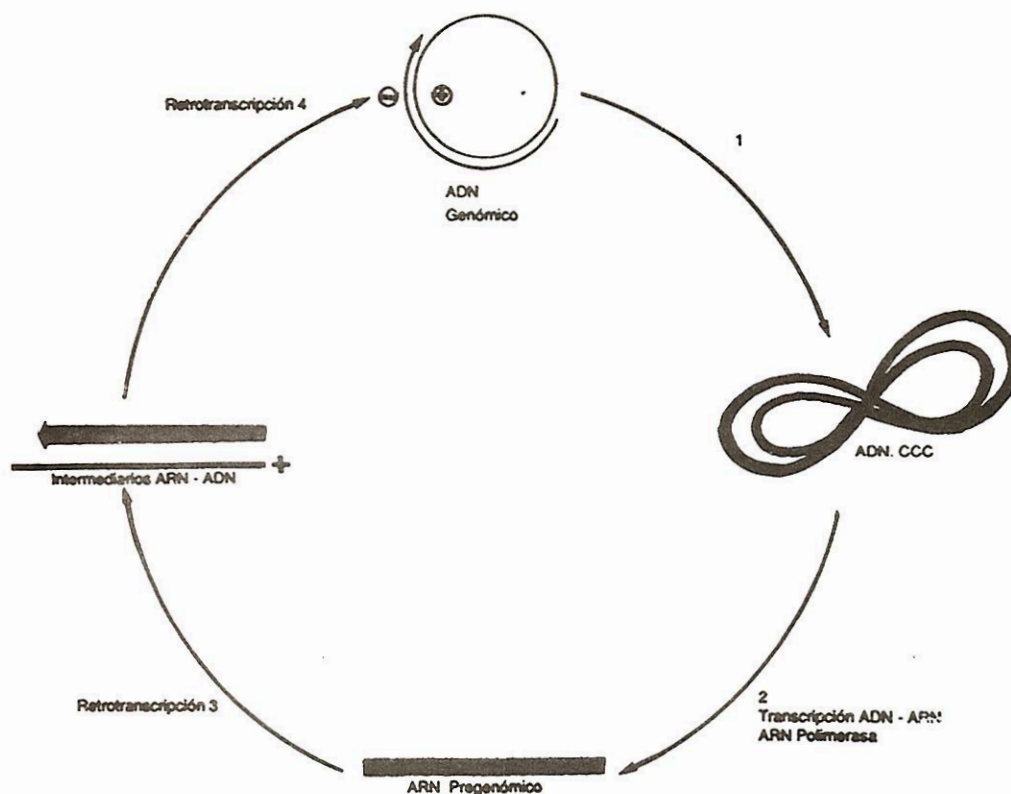


Fig. 5

Este ciclo se puede esquematizar en tres grandes etapas:

etapa 1.- Transformación del genoma circular abierto en uno circular cerrado covalentemente (ADNccc)

Etapa 2.- Transcripción del ADNccc para generar una matriz de ARN (ARN progenómico). Esto lo realiza la retrotranscriptasa actuando aquí como ARN polimerasa.

Etapa 3.- Síntesis de la primera cadena de ADN para la transcriptasa inversa asociada al core, aquí sí actuando como retrotranscriptasa.

Etapa 4.- Síntesis de la segunda cadena de ADN para formar el genoma maduro.

En éste ciclo la etapa que asegura la multiplicación no la mera perpetuación del genoma se efectúa en la etapa 2.-

los otros ARN, se sintetizan las proteínas de la capsida y de las envolturas. Las proteínas de la capsida se organizan alrededor del pregenoma y lo rodean, el conjunto es entonces trasladado al citoplasma del hepatocito.

La partícula vírica neoformada es excretada al exterior de la célula y puede infectar o reinfectar otra o la misma célula hepática y recomienza el ciclo. Uno de los hechos interesantes es que el ARN "genómico" es más

largo que el genoma viral que lo origina debido a que en sus extremos presenta una "redundancia terminal" o LTR (por Long Terminal Repeats) se encuentra en el ADN insertado en el genoma de las células huéspedes tanto en los retrovirus como en el del VHB.

El papel de esta redundancia terminal parece ser por un lado el de favorecer la lectura indicando donde empezar y donde terminar pero a su vez estaría implicado en el mecanismo de inserción del ADN viral en el

genoma de la célula huésped. (36)

Existen numerosas evidencias (33) que indican que tanto el VHB como otros Hepadna virus son capaces de integrarse en el ADN cromosómico de la célula huésped, situación esta que se encuentra solamente en algunos casos de hepatitis crónica y en las células cancerosas de todos los neoplasmas primitivos del hígado.

Este fenómeno de gran trascendencia para estudios posteriores sobre todo lo relacionado a

LOS VIRUS HEPADNA Y LOS RETROVIRUS PRESENTAN SIMILITUDES EN SU REPLICACION

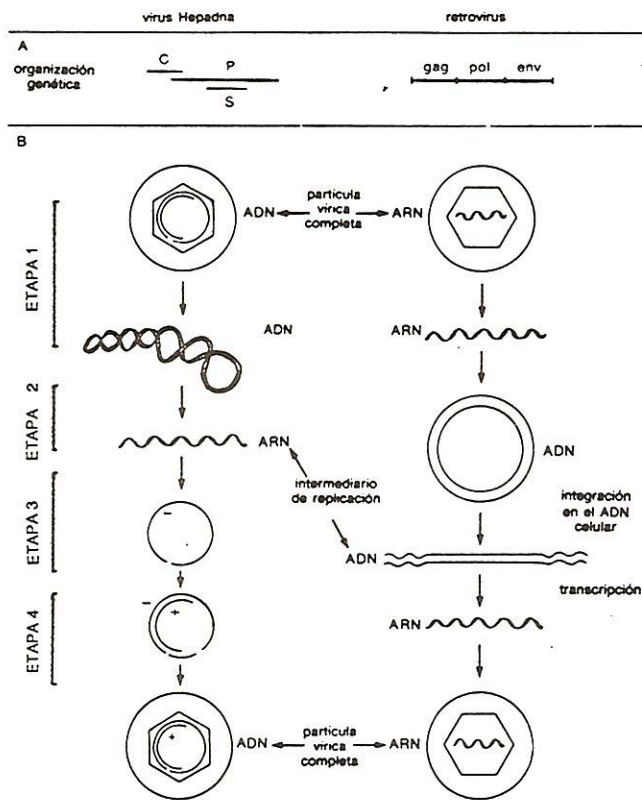


Fig. 6

En A observamos los tres genes de función comparable de las dos familias.

En B se muestran los ciclos de replicación de ambos virus.

Los virus Hepadna que poseen un genoma de ADN pasan por un intermediario de replicación ARN gracias a la retrotranscriptasa, la que posteriormente da lugar al genoma de ADN por transcripción inversa.

Los retrovirus que tienen un genoma de ARN también mediante la retrotranscriptasa dan lugar a un intermediario de replicación de ADN el cual se integra en el ADN celular y gobierna la síntesis de un genoma formado por ARN. Ambos son cancerígenos.

los virus cancerígenos y su biología molecular, viene siendo muy estudiado aunque todavía hoy no completamente dilucidado. Se ha propuesto un modelo de integración por el cual la ADNpolimerasa "salta" a copiar el ADN viral y luego por recombinación uniría la cadena larga con la cadena de ADN celular. Todas estas características del VHB aumentaron mucho el interés por su estudio.

III ANALOGIAS ENTRE LOS HEPADNA Y RETROVIRUS (Fig. 6)

1) Ambos infectan de manera crónica células sin llegar a destruirlas y sus genes están orientados en la misma dirección (es decir en un solo filamento).

El orden y la función de los tres genes clásicos de los retrovirus, gag, pol, y env, pueden ser relacionados con los tres genes C, P y S de los virus Hepadna. El gen gag de los retrovirus

codifica para una proteína estrechamente asociada al genoma; el gen pol codifica para una retrotranscriptasa mientras que el gen env codifica para las proteínas del envoltorio del retrovirus.

En el momento actual en los laboratorios de biología molecular se utiliza la técnica denominada de transferencia - hibridación que permite detectar entre distintos fragmentos de ADN si uno de ellos es complemento exacto o no del otro. La

propiedad de hibridación significa la capacidad de "aparearse en doble hélice" en función de una atracción selectiva que presentan los nucleótidos entre sí.

Gracias a esta técnica, es posible detectar la presencia de ADN vírico en las células hepáticas y apreciar si está presente en forma libre o en forma integrada es decir incorporado en el genoma celular. (31)

De esta manera se ha podido observar que la multiplicación vírica se traduce en la presencia de ADN

vírico libre en grandes cantidades en el hígado y en el torrente circulatorio.

Pero en ausencia de multiplicación vírica el virus puede mantenerse en la célula hepática algunas veces libre y otras formando parte de su patrimonio genético.

En el caso de los retrovirus siempre se observa la presencia de al menos un genoma vírico completo en forma integrada.

Finalmente gracias a la técnica de la transferencia-hibridación (37) o "hibridotest" es posible considerar al

ADN del VHB como un nuevo marcador de la infección vírica. Su valor no deviene de que se pueda usar en el futuro como un test diagnóstico corriente cosa que no será posible por su elevado costo sino que la identificación del ADN cobra el interés en aquellas enfermedades en las que no se detecta el AgHbs, como ocurre en algunos pacientes con cáncer de hígado. Sin ella aún hoy no tendríamos conocimiento de la relación del cáncer de hígado con el VHB.

BIBLIOGRAFIA

1. AHTONE, J.,L., and GOODMAN, R., A. Hepatitis B in dental personel: transmission to patients an preverition issues JADA 1983, 106; 219-222.
2. ALDERSHVILE, J., BROCK, A., DIETRICHSON, D., Hepatitis B virus infection among Dannis dentists J. Infect. diseas 1978, 137 63-66.
3. ARTHUR, M.J.P., HALL, A.,J., and WRIGTH, R., Hepatitis B, hepatocellular carcinoma, and strategies for prevention Lancert 1984, 1: 607-610.
4. BEASLEY, R., P., HWANG, L., Y., LIN, C.C. et al Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: prospsective study of 22.707 men in Taiwan Lancert 1981, 2: 1129-1132.
5. BLUMBERG, B., S., Australian antigen and the biology of hepatitis B Science 1977, 197: 17-25.
6. BRECHOT, C., NALPAS, B., COURANCE, A., M., et al Evidence that hepatitis B virus has a role in liver carcinoma in alcoholic liver disease N. Eng. J. Med. 1982, 306: 1384-1387.
7. BERLING, B., S., Viral hepatitis: En Paterson, G., P., and Sommers, H., M., The biologic and Clinical Baiss of Infection Diseases, Sanders, 1985 Philadelphia. 3a. Ed.
8. CENTER FOR DISEASE CONTROL (ATLANTA) Comparative risk of hepatitis B among phisician an dentists. J. Infect Dis 1976, 133: 705-706.
9. COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS Type B (serum hepatitis) and dental practice JADA 1976, 92: 705-706.
10. DENISON, E., K., PETERS, R., L., and REYNOLDS, T., Familiar hepatoma with hepatitis-associated antigen Ann. Inter. Med. 1971 74: 391-394.
11. FEINSTONE, S., M., KAPIKIAN. A., Z., P. URCELL. R. Transfusion-associated hepatitis no due to viral hepatitis type A or B. N. Eng. J. Med. 1975, 292 767-770.
12. FRANCIS, D., P., and MAYNARD, J., E., The transmission and autcome of hepatitis A, B, and nonA nonB: A review. Epidemiol. Review 1979, 1: 17-31.
13. FREIFELDER, D., Eudariotic viruses Cap. 21 pp 840-917 Molecular Biology 1983 Washington.
14. Galambos J., T., Transmission of hepatitis B from providers to patients: how hig is de the risk? Hepatology 1986, 6: 320-325.
15. CANEM, D., VARMUS, H., E., The molecular biology of the hepatitis B virus. Ann. Rev. Biochem, 1987, 56: 651-693.
16. GUS, I., D., and PURCELL, R., H., Report of worshop nonA - nonB hepatitis J. Infect. Dis 1987, 156: 630-635.
17. HOOFNAGLE, J., H., GERETY, R., J., TABOR, E., et al Transmission of noA no B hepatitis Ann, Intern. Med. 1977, 87: 14-20.
18. JENISSON, S., A., LEMON, S., M., BAKER, L., M., et al Quantitative analisis of hepatitis B virus DNA in saliva and semen of chronically infected homosexual men J. infect. Dis. 1987, 156: 299-207.
19. LEE, A., L., Y., IP, H., M., H., and BLUMBERG, V., C., M., Mechanismsmos maternal-fetal transmission of hepatitis B virus J. Infect. Dis 1978, 138: 668-671.
20. LONDON, W., T., Sunic, A., and BLUMBERG, B., S., Australia antigen and acute viral Hepatitis. Ann. Intern. Med. 1969; 70:55-59
21. London, W., T., and Blumberg, B., S., Comments on the role of epidemiology in the investigation of hepatitis B virus Epidemiol, Review 1985, 7: 59-79.
22. MOSLEY, W., Present knowledge of viral hepatitis Int. Dent. J. 1984, 11: 110-114.

-
23. McGLYNN, K., A., LUSTBADER, E., D., Hepatitis B virus replication and tuberculin reactivity: studies in Alaska Amer. J. Epidemiol. 1987, 126: 38-47.
 24. OPS publicación científica Nº 480 Enfermedades ocupacionales. Guía para su diagnóstico. Washington 1986.
 25. PAPAEVANGELOV, G., HOOFNAGLE, KREMASTINOV, J., Transplacental transmission of hepatitis B virus by symptom-free chronic carrier mothers. Lancet 1974, 2: 746-748.
 26. RIZZETTO M. "The delta agent" Hepatology 1983, 3: 729-737.
 27. RIZZETTO, M., VANESE, M., G., ARICO et al Immunofluorescence detected of a new antigen-antibody system (delta-antidelta) associated with hepatitis B virus in liver and serum of AgHBs GUT, 1977, 18: 997-1003.
 28. SAMARAMAYAKE, L., P., Viral hepatitis: 1. aetiology, epidemiology and implications. Dent. update 1986 13: 353-365.
 29. SHAFRITZ, D., A., SHOUVAL, D., SHERMAN, H., et al integration of hepatitis B virus in to the genome of liver cells in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. N. Eng. J. Med. 1981, 305: 1067-73.
 30. SHUSTERMAN NEIL Hepatitis B and immune-complex disease. N. Eng. J. Med. 1984; 310: 43-45.
 31. SIMON BEKER G., Infección por el virus de la hepatitis B Gen 1985, 39: 214-247.
 32. SNINSKY, J., ALEEM, S., ROBINSON, W., and COHEN, Cloning and endonuclease mapping of the hepatitis B viral genome. Nature 1979, 279: 346-349.
 33. TIOLLAIS, CHARNAY, P., Biology of hepatitis B virus. Science 1981, 213: 406-411.
 34. TIOLLAIS, P., and DEJEAN, J., El virus de la hepatitis B. Mund. Cientif. 1985, 6: 26-35.
 35. VARNUS, H., Retrotranscripción. Inv. Ciencia 1987, Nº 134: 32-38.
 36. YOKOSUKA, O., OMSATA, M., Hepatitis B virus RNA transcripts and DNA in chronic liver disease N. Eng. J. Med. 1986, 315: 1187-1192.
-