

La hepatología
molecular:
un enfoque
multidisciplinar

Genómica y proteómica del virus de la Hepatitis B

LAURA VERÓNICA SÁNCHEZ OROZCO
ARTURO PANDURO CERDA

INTRODUCCIÓN

A partir del descubrimiento del antígeno Australia por Blumberg a finales de los años 60's, el avance en el conocimiento del virus de la hepatitis B (VHB) es impresionante. Actualmente, el diagnóstico serológico para la detección de sus antígenos y anticuerpos es el más completo en comparación con los otros virus de las hepatitis. Con el conocimiento de su estructura genómica, fue posible desarrollar la primer vacuna recombinante la cual es muy efectiva y los efectos colaterales que se pueden presentar son mínimos. El diagnóstico molecular mediante la amplificación de su material genético con la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o mediante métodos de hibridación, permite la identificación directa del material genético del virus en muestras biológicas y son una herramienta importante en el seguimiento de pacientes durante su tratamiento. Además, el conocimiento de la secuencia de genomas virales de diferentes aislamientos del mundo, ha permitido la clasificación del VHB en ocho diferentes genotipos que se nombran con las letras capitales del alfabeto (de la A a la H). También se han caracterizado diferentes mutaciones encontradas en: a) el gen que codifica para el antígeno de superficie del VHB (HBsAg) y/o en la región X en diferentes aislamientos del virus obtenidos de pacientes con resultados de serología negativa al (HBsAg), b) en la región pre-core y core en pacientes con diferente severidad de daño hepático y con ausencia del antígeno "e" (HBeAg) circulan-

te, c) en la región de la polimerasa en pacientes que desarrollan resistencia al tratamiento antiviral. Sin embargo, a pesar de que existe una gran cantidad de avances, aún se requiere un mayor número de estudios, que permitan establecer una asociación de las características genéticas del VHB con la resolución de la enfermedad o con la progresión a diferentes grados de daño hepático, sin dejar de lado el papel que juegan los aspectos genéticos, ambientales y psicológicos de los hospederos en su interacción con este virus.

EL VIRUS

El VHB se clasifica dentro de la familia *Hepadnaviridae*, del género *Orthohepadnavirus*, presenta tropismo por el hígado y se caracteriza por ser un virus de DNA circular de doble cadena, el cual se replica a través de un RNA intermediario mediante transcripción reversa (1-5). El genoma del VHB se puede integrar en los cromosomas del hospedero, pero no es un requisito para la replicación viral. En vivo, el hígado es el principal órgano de replicación del virus. 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 (1,3,4). Dentro de la nucleocápside, se encuentra el genoma viral que contiene toda la información genética organizada.

RESUMEN

El conocimiento del genoma y proteoma del VHB ha contribuido considerablemente al desarrollo de mejores métodos diagnósticos serológicos y moleculares, de una vacuna recombinante y de tratamientos antivirales. Actualmente, se están desarrollando ensayos clínicos con el objeto de conocer más acerca de el papel que juega la variabilidad genética del virus y los factores ambientales y genéticos del hospedero en la evolución natural de la infección por el VHB; así también para conocer como esos factores influyen en el tratamiento de esta infección. En estos tiempos es muy importante entender las bases moleculares de la infección por el VHB, del diagnóstico y del tratamiento con el objeto de aplicarlo adecuadamente en la clínica.

Palabras clave: genoma, proteoma, VHB.

ABSTRACT

The knowledge of the HBV genome and proteome has contributed considerably to the improvement of serological diagnosis and to the development of a recombinant vaccine, molecular diagnosis and antiviral treatments. Currently, clinical studies are developed in order to know the role that play the genetic variability of the HBV, the environmental and genetic factors of the host in the natural evolution of HBV infection; as well as, to understand how these factors influence in the treatment response. Nowadays, it is very important to understand the molecular basis of HBV infection, diagnosis and treatment in order to have a good clinical application.

Key words: genomics, proteomics, HBV.

GENÓMICA Y PROTEÓMICA DEL VHB**Genoma del VHB**

El genoma del VHB está constituido por un DNA de aproximadamente 3,200 pb, varía un poco dependiendo del genotipo, este genoma tiene la característica de que una de sus cadenas es más pequeña que la otra. Se divide en cuatro regiones principales que son fragmentos de lectura abierta (FLA) sobrepuestos entre sí: S, C, P, y X (figura 1a). Estos FLA contienen a los genes que codifican para las proteínas de la envoltura viral, la proteína de la cápside, el antígeno e (HBeAg), la polimerasa y la proteína X. Todas las bases del DNA del genoma del VHB, participan en la codificación de al menos una proteína del virus (1,3,4).

Fragmento de lectura abierta S (FLA-S) o región S

El fragmento de lectura abierta S (FLA-S), conocido también como región S, contiene las regiones Pre-S1, Pre-S2 y el gen S que codifican para las proteínas de la envoltura viral. La proteína grande se forma mediante la codificación de las regiones Pre-S1, pre-S2 y S; la proteína mediana sólo se deriva de la información genética de Pre-S2 y del gen S y la proteína pequeña conocida también como el HBsAg se forma a partir del gen S.

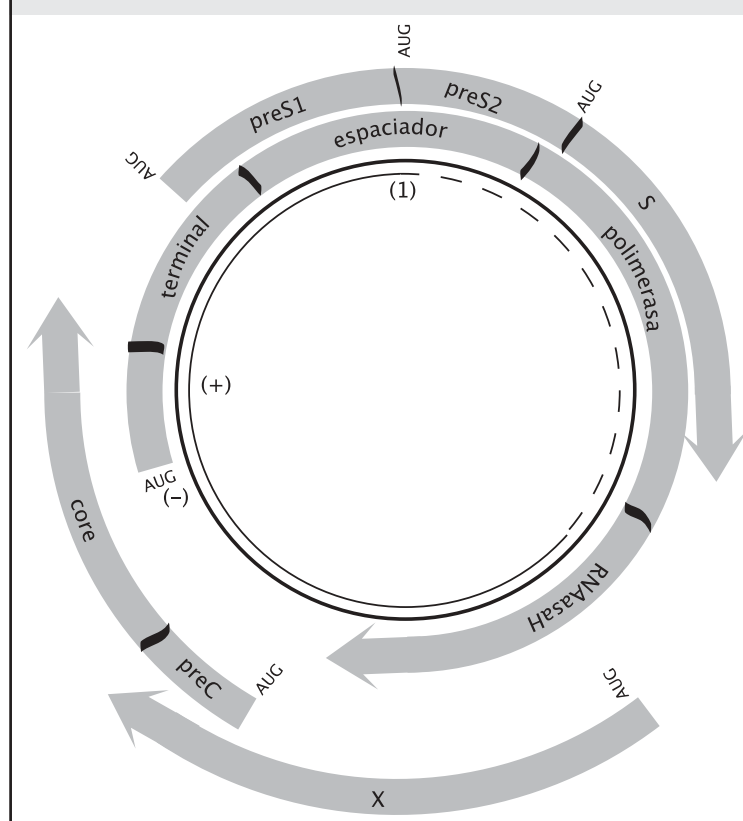
Proteínas codificadas por el FLA-S HBsAg

Es una proteína altamente hidrofóbica de 226 aminoácidos, este antígeno contiene cuatro regiones transmembranales que atraviesan la envoltura viral (1,3,6). Entre la región de aminoácidos del 100 al 160, se localiza en la parte externa de la envoltura viral el determinante "a" del HBsAg, (figura 2). Este determinante evoca una respuesta inmune humoral dominante e intensa ya sea por una infección activa o en respuesta a la vacuna (7-10); los anticuerpos que se forman en respuesta a este determinante, juegan un papel muy importante en la protección del hospedero contra el virus. Así también, los anticuerpos que se utilizan en el diagnóstico serológico para la detección del HBsAg reconocen al determinante "a" (7,11,12). La presencia de este antígeno en circulación sanguínea es a partir de los 22 días post-infección y continúa circulante aún en fases tardías de la hepatitis B en la mayoría de los pacientes con infección por el VHB, característica que le permite ser el principal marcador serológico de hepatitis B (1).

La proteína M de la envoltura viral

Contiene 281 aminoácidos, 55 que son codificados por la subregión Pre-S2 más los 226 provenientes del gen S y que constituyen al HBsAg. Se sugiere que el dominio formado por los 55 aminoácidos es hidrofílico y se encuentra en la parte externa de la envoltura viral (1,3,4). Además, tiene la capacidad de unirse a la albúmina polimerizada, esta característica podría ser la responsable de una de las vías de entrada del VHB al hepatocito (13).

FIGURA 1a
GENOMA DEL VHB

**La proteína L de la envoltura viral**

De las proteínas que forman la envoltura viral es la de mayor tamaño. Además de los dominios de 55 y 226 aminoácidos que forman parte de la proteína M, contiene un dominio de 108 aminoácidos codificados por la subregión Pre-S1 (1,3,4). Existen evidencias que sugieren que la principal vía de entrada del VHB al hepatocito es por medio de la interacción del dominio Pre-S1 de la proteína L con el receptor glicoproteína asiática del hepatocito (13,14).

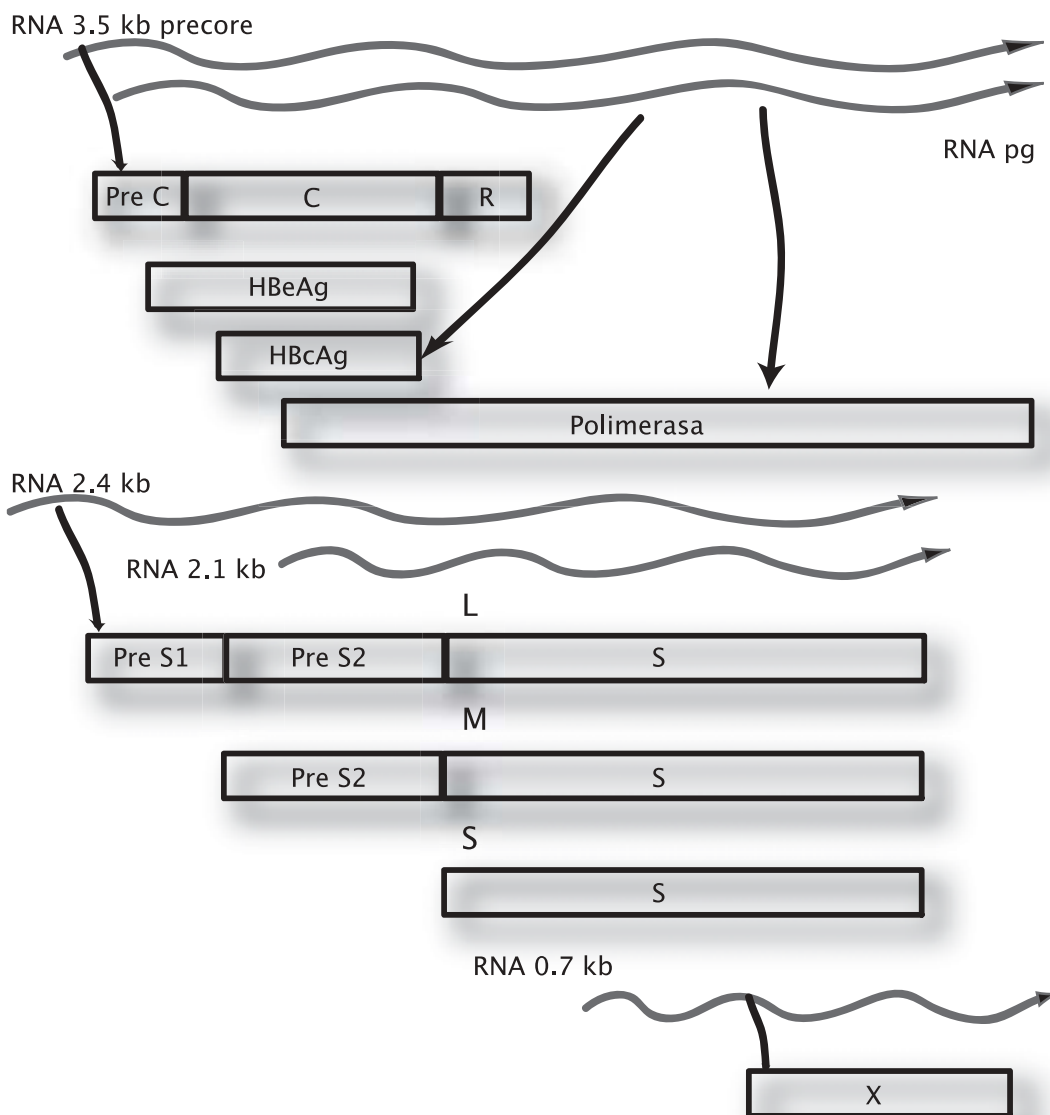
Fragmento de lectura abierta C (FLA-C) o región C

Contiene 636 nucleótidos (1,814-2,450). De manera similar al FLA-S, el FLA-C contiene en el extremo 3' terminal al gen C y en el extremo 5' terminal un FLA conocido como región pre-C (figura 1a). El gen C (1,901-2,450) codifica para la proteína de la cápside o antígeno central del VHB (HBcAg). El gen C en conjunto con la región Pre-C codifican para el HBcAg (1,3,4).

PROTEÍNAS CODIFICADAS POR LA REGIÓN C**La proteína de la cápside o HBcAg**

Está formada por 183 aminoácidos, varias subunidades de esta proteína (alrededor de 180), se ensamblan por sí mismas dando lugar a la estructura viral conocida como cápside, la cual se encarga de empaquetar el RNA pregenómico (RNAppg) y a la polimerasa viral (4,15). Este empaquetamiento es indispensable para que se efectúe el ciclo de replicación del

FIGURA 1B
TRANSCRITOS DEL VHB Y SUS PRODUCTOS CODIFICADOS



VHB. Existen evidencias que indican que en esta proteína se encuentran los principales determinantes antigénicos involucrados en la respuesta inmune citotóxica, la cual juega un papel muy importante en la eliminación favorable del VHB en individuos inmunocompetentes (16,17).

HBeAg

El HBeAg o conocido también como la proteína pre-core, o proteína HBe, es la forma soluble del HBcAg. Se forma a partir de la proteína de la cápside más la adición en el extremo amino terminal de 29 aminoácidos provenientes de la región pre-core. Esta proteína sufre una hidrólisis los extremos amino y carboxilo terminal (figura 1b), lo que da como resultado la secreción del HBeAg con un peso molecular de 15 a 18 KDa (1,2,3,4). El HBeAg es esencial para el estable-

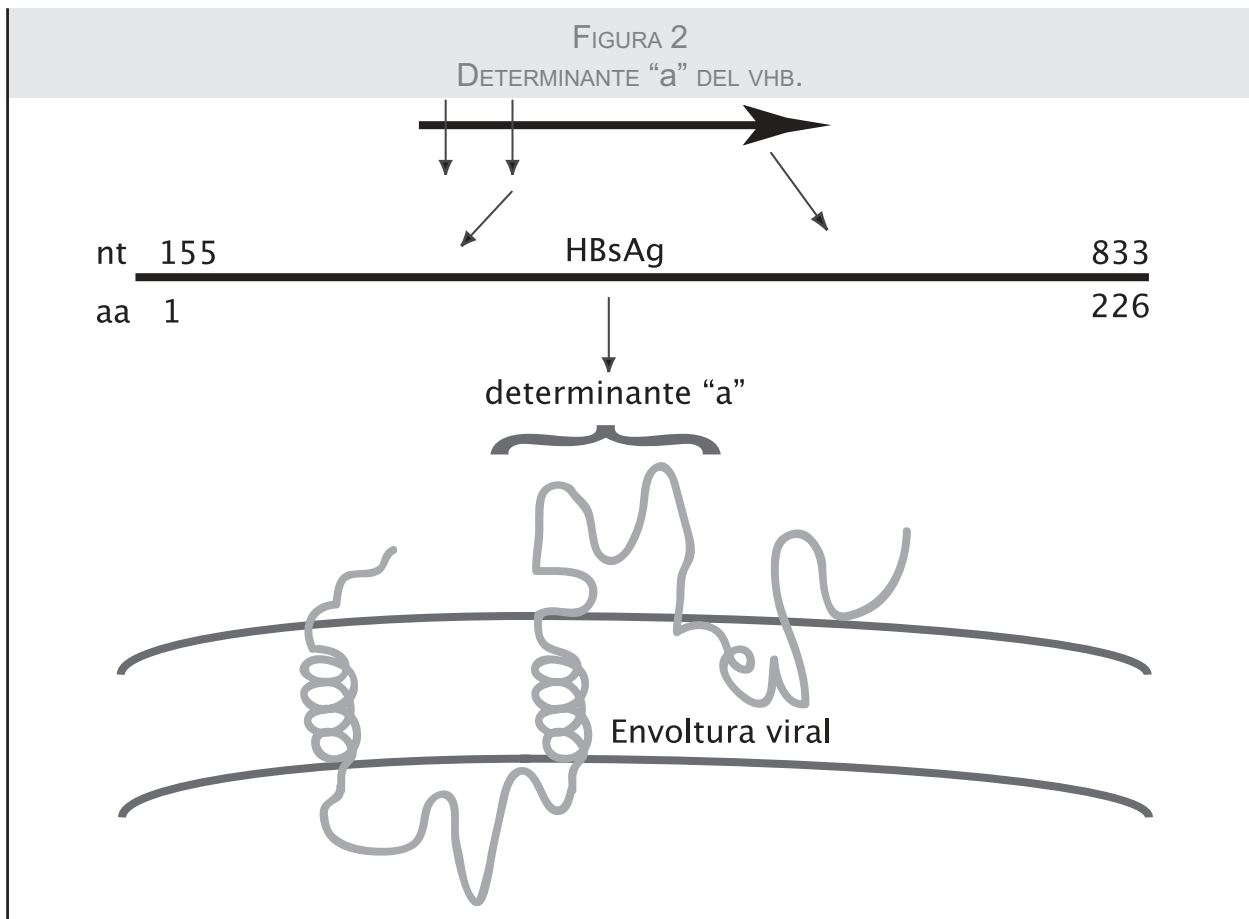
cimiento de una infección persistente. También se conoce que este antígeno es capaz de cruzar barrera placentaria induciendo tolerancia al VHB, en neonatos que son infectados por sus madres a la hora de nacer (18).

Fragmento de lectura abierta P (FLA-P) o región P

Es la región más grande del VHB, contiene 2,436 nucleótidos. Esta región codifica para la polimerasa viral y se superpone con los tres FLA: S, C y X (1,3,4) (figura 1a).

PROTEÍNA CODIFICADA POR EL FLA-P Polimerasa viral

A esta proteína se le conocen al menos cuatro dominios funcionales: el dominio terminal, el cual participa en la



encapsidación e iniciación de la síntesis de la cadena negativa de DNA; un dominio de función desconocida que se le conoce como un espaciador; el dominio con actividad de transcriptasa reversa y de DNA polimerasa el cual participa en la síntesis del genoma viral y el dominio RNasa H, el cual degrada al RNA pregenómico y facilita la replicación (1,3,4).

Fragmento de lectura abierta X (FLA- X) o región X

Contiene 462 nucleótidos (1,374-1,836) y codifica para la proteína X la cual es la más pequeña de las proteínas del VHB (1,3,4) (figura 1a).

Proteína X

Es una proteína de 16.5 KDa que está formada por 154 aminoácidos. Es de carácter básico, propiedad que le permite la unión con el DNA. Tiene función de activador tipo trans para la transcripción del propio gen X y de una serie de promotores celulares tales como *c-fos*, *c-jun* y los genes de la RNA polimerasa tipo II. Estas características le permiten a esta proteína, participar en la transcripción de su propio gen y genes del hospedero (19). La proteína X se une e inactiva a la proteína supresora de tumores p53 (20) por lo que puede jugar un papel importante en el desarrollo de cancer en pacientes infectados. También, se une a un complejo del proteasoma, este complejo participa en el procesamiento de proteínas que es necesario para el reconocimiento inmune; al unirse la proteína X al proteasoma podría inhibir la presentación antigénica y de esta forma po-

dría conducir a una evasión de la respuesta inmune contra el VHB (21).

Diagnóstico serológico de la hepatitis B

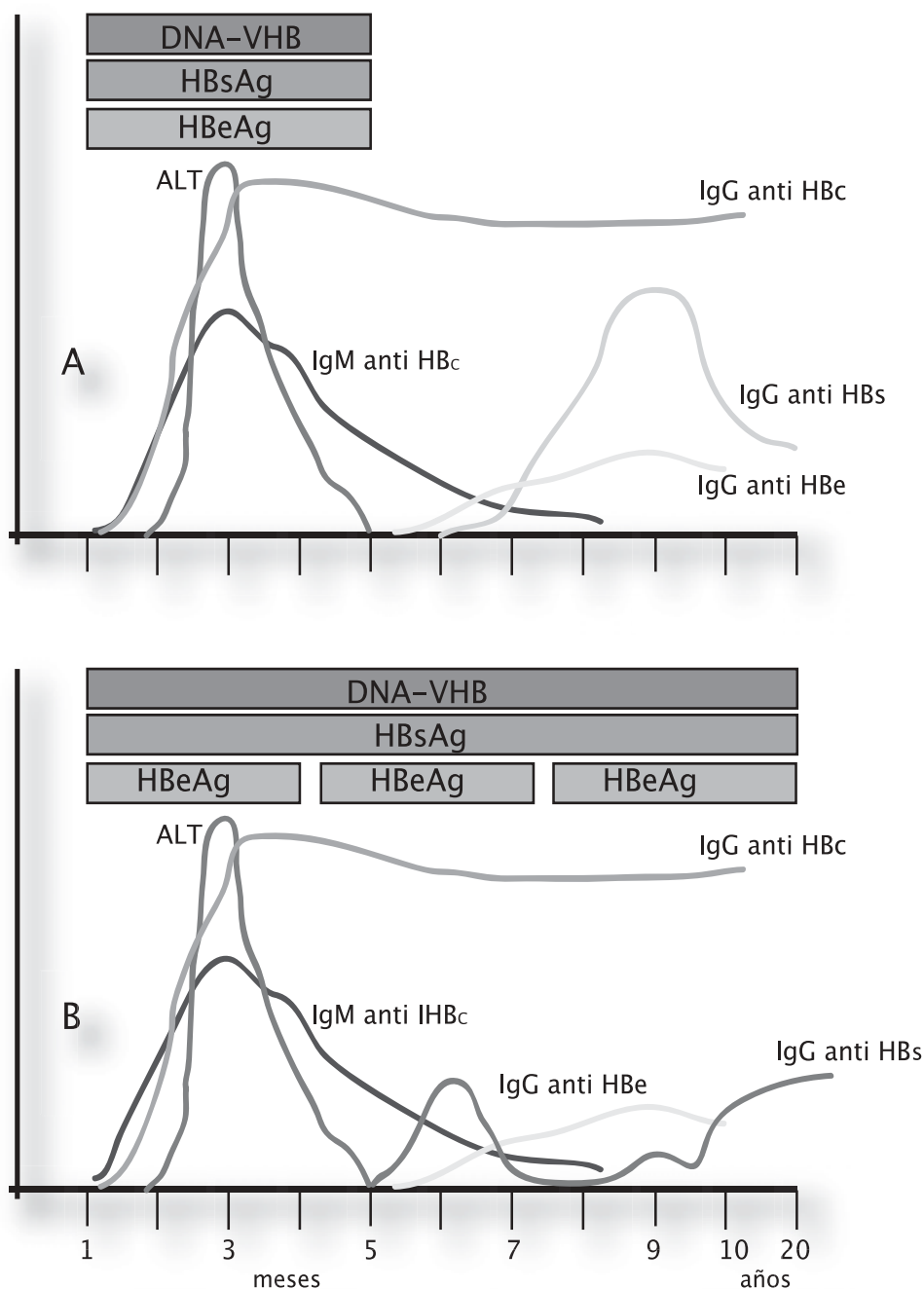
Los marcadores serológicos utilizados en el diagnóstico son los antígenos virales: HBsAg y HBeAg, así también los anticuerpos Anti-HBs, IgM-anti-HBc, Anti-HBc y anti-HBe producidos por el sistema inmune en respuesta a la infección. Estos marcadores, se identifican por métodos serológicos inmunoenzimáticos realizados ya sea con la técnica de ensayo inmuno enzimático en fase sólida (ELISA) o por radio inmuno ensayo (RIA). En base a lo anterior, el diagnóstico serológico de la hepatitis B es más completo si se compara con otras hepatitis de etiología viral en las que sólo se detecta la presencia de anticuerpos.

Diagnóstico serológico de la hepatitis B aguda

La viremia se detecta entre las tres y cinco semanas antes de la presencia de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Las infecciones por el VHB presentan la peculiaridad de que en el plasma de individuos infectados se detectan partículas que contienen un exceso de las proteínas que forman el HBsAg. La presencia de este marcador indica la existencia de infección por el VHB ya sea aguda o crónica. El HBsAg se encuentra presente en suero dos o seis semanas antes de la evidencia bioquímica de daño hepático y permanece positivo a través del curso de la infección. Entre dos y cuatro semanas después de que se presenta el HBsAg, aparecen

FIGURA 3

EVOLUCIÓN DE LA HEPATITIS B. A) INFECCIÓN AGUDA AUTOLIMITANTE. B) INFECCIÓN QUE NO SE RESUELVE Y EVOLUCIONA A CRONICIDAD. LOS CUADROS ABIERTOS EN LA PARTE SUPERIOR DE LAS GRÁFICAS INDICAN LA PRESENCIA DE LOS ANTÍGENOS DEL VHB Y DEL DNA-VHB.



los anticuerpos IgM-anti-HBc los cuales son el marcador serológico estándar para el diagnóstico de hepatitis B aguda. Estos anticuerpos disminuyen su título con resultados negativos, generalmente seis meses después que inició la infección (fig. 3) (1). Otro marcador serológico es el HBeAg, se detecta al inicio de la infección y desaparece después de que se elevan los niveles de la enzima alanina amino transferasa (ALT) (1). La presencia de este antígeno en el suero del paciente indica que el virus se encuentra en

replicación activa. La desaparición del HBeAg y la aparición del anti-HBe, indica que existe una reducción de la replicación viral, de igual manera con la desaparición del HBsAg y aparición del anti-HBs (fig. 3). En enfermedades agudas este cuadro generalmente se acompaña de la resolución de la enfermedad (1).

Diagnóstico serológico de la hepatitis B crónica

La enfermedad crónica por el VHB se caracteriza por la presencia del HBsAg por más de seis meses (1). Sin embargo, conforme avanza la cronicidad este antígeno tiende a desaparecer, lo cual es más acentuado en pacientes con CHC (22). En pacientes con infección crónica también es común detectar el anti-HBc. Aunque en estos pacientes no es común detectar el anti-HBs, existen reportes en los que se detectan estos anticuerpos en coexistencia con el HBsAg. En la fig. 3 se muestra un resumen de la interpretación del diagnóstico serológico.

Diagnóstico molecular de hepatitis B

La detección del DNA-VHB se considera como el indicador más sensible y específico de replicación viral e infectividad. La detección del DNA-VHB es esencial para la correcta interpretación de los resultados inmunológicos y es imprescindible para el seguimiento del paciente con tratamiento. El DNA del VHB se puede detectar en el suero, hígado y células mononucleares de sangre periférica de pacientes infectados con el VHB.

Existen diferentes métodos para la detección del DNA viral: a) métodos de hibridación de ácidos nucleicos; tales como el dot-blot, slot-blot, Southern-blot, DNA ramificado y b) métodos de amplificación de los cuales el más representativo es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). A pesar de que los métodos de hibridación tienen una buena sensibilidad, sólo logran detectar de 10^4 a 10^6 genomas/200ml de suero (23-25). En cambio con el método de PCR se logran detectar hasta 3 copias del genoma/100µl de suero con una especificidad del 100%, por lo que este método es el que se utiliza con mayor frecuencia en la actualidad (23).

Ventajas del diagnóstico molecular en comparación con el diagnóstico serológico

A pesar de que el diagnóstico serológico del VHB es el más completo, ya que podemos detectar los antígenos: HBeAg y HBsAg y los anticuerpos: IgM-anti-HBc, anti-HBc, anti-HBe y anti-HBs; el diagnóstico molecular es más sensible y específico, detecta directamente el material genético del virus, ya sea en forma libre o integrado en células hepáticas o leucocitos. Existen evidencias de la presencia del VHB en pacientes con serología negativa al HBsAg (9-12), así también como en pacientes con serología negativa al HBeAg a pesar de una elevada replicación viral (3,25,26). En el caso de los pacientes con hepatitis B y serología negativa al HBsAg, las principales causas que podrían explicar la seronegatividad son las siguientes: a) presencia de complejos inmunes (anti-HBs-HBsAg), b) mutaciones en la región S (9-12) y c) pacientes con coinfección por otros virus como es el virus de la hepatitis C (24). En el caso de la no detección del HBeAg, a pesar de una elevada replicación viral se conocen dos tipos de mutaciones; unas presentes en la región precore y otras en el promotor core. Las mutaciones en la región precore se relacionan con cambios en la posición 1896 con el cambio de una guanina por una adenina que genera un codón de paro y por lo tanto no se traduce el HBeAg (3,25). Las mutaciones en el promotor core se refieren a cambios de bases que se localizan entre los

nucleótidos del 1,570 al 1,770 del genoma del VHB. Estas mutaciones se asocian con una disminución del HBeAg y un incremento de la replicación viral (3,25,26).

Otra ventaja del diagnóstico molecular en comparación con el diagnóstico serológico es que es el método que valorara con mayor certeza la respuesta al tratamiento (2).

VARIABILIDAD GENÉTICA DEL VHB

Genotipos del VHB

A nivel de la secuencia de nucleótidos este virus se clasifica en ocho genotipos diferentes denominados del A al H (27,28). Dicha clasificación se fundamenta en que no deben de existir diferencias del 8% o mayores en la secuencia de nucleótidos del genoma completo, o del 4.2% o más cuando se considera solo el gen S entre los miembros de un mismo grupo. Los genotipos tienen una distribución geográfica característica. En países asiáticos predomina la presencia de los genotipos B y C; en Europa y EUA se identifican con mayor prevalencia los genotipos A y D; el genotipo E se identifica en países africanos; en latinoamérica, el genotipo predominante es el F, en México existen pocos estudios, sin embargo en una población del occidente del país, se identificó al genotipo F como predominante (29), el cual actualmente se ha clasificado como genotipo H.

Genotipos y severidad de daño hepático

Existen evidencias de que el genotipo C conduce a una enfermedad hepática más severa con un mayor grado de actividad necroinflamatoria y fibrosis y se presenta con mayor prevalencia en pacientes con cirrosis y CHC. Sin embargo, a pesar que la progresión de la enfermedad en pacientes con infección por el genotipo B es más lenta, la evolución a cirrosis y CHC es similar a la del genotipo C (30-32). Estos estudios provienen de países asiáticos, donde la prevalencia de los genotipos B y C es más elevada.

Un estudio realizado en una población de España, muestra una mayor frecuencia del genotipo A en pacientes con hepatitis crónica en relación con la presencia de genotipos no A en pacientes con hepatitis aguda que se resuelve favorablemente (33). Esto puede sugerir que en países con baja endemia, el genotipo A juega un papel importante en la evolución a enfermedad crónica por hepatitis B. Resultados similares, pero con otro diseño se reportaron en Argentina donde se encontró que la frecuencia del genotipo A es mayor en zonas de alta endemia de hepatitis B, en cambio en zonas de baja endemia el genotipo que predomina es el F (34). Por lo anterior, es clara la necesidad de realizar estudios representativos poblacionales en otros países incluyendo México que permitan determinar la magnitud del problema.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bendinelli M, Pistello M, Maggi F, Vatteroni M. Blood-Borne Hepatitis Viruses: Hepatitis B, C, D, and G viruses and TTV virus. En: *Clinical Virology Manual*. Editors: Specter S, Hodinka R, and Young S. 3a ed. 2000, ASM PRESS. Capítulo 27: 306-337.
2. Feld J, Lee J, Locarnini S. New targets and possible new therapeutic approaches in the chemotherapy of chronic hepatitis B. *Hepatology*, 2003;38(3):545-53.
3. Locarnini S, McMillan J, Bartholomeusz A. The hepatitis B virus and common mutants. *Semin Liver Dis*, 2003;23(1):5-20.

4. Tiollais P, Pourcel Ch, Dejean A. The Hepatitis B virus. *Nature*, 1985;317:489-495.
5. Yoffe B, Burns DK, Bhatt H, Combes B. Extrahepatic hepatitis B virus DNA sequences in patients with acute hepatitis B infection. *Hepatology*, 1990;12:187-192.
6. Strick HJ, Thornton JM, Howard CR. A topological model for Hepatitis B surface antigen. *Intervirology*, 1992;33:148-158.
7. Cooreman MP, Van-Roomalen MH, Te-Morsche R, Sunnen CMG, Sshoondermark-van de Ven EME, Jansen J, Tytgat GNJ, P.M. de Witt, and V.P. Paulij. Characterization of the reactivity pattern of murine monoclonal antibodies against wild type Hepatitis B surface antigen to G145R and other naturally occurring "a" loop escape mutations. *Hepatology*, 1999;30:1287-92.
8. Hong-Yuan H, Mei-Hwei Ch, Yen-Hsuan N, Ho-Hsiung L, Shih-Ming W, Ding-Shinn Ch. Surface gene mutants of Hepatitis B virus in infants who develop acute or chronic infections despite immunoprophylaxis. *Hepatology*, 1997;26:786-91.
9. Howard CR, Allison LM. Hepatitis B surface antigen variation and protective immunity. *Intervirology*, 1995;38:35-40.
10. Poovorawan Y, Theamoonlers A, Chongsriawatt V, Sanpavat S. Molecular analysis of the a determinant of HBsAg in children of HBeAg-positive mothers upon failure of postexposure prophylaxis. *Int J Infect Dis*, 1998;2(4):216-21.
11. Carman WF, Van Deursen FJ, Mimms LT, Hardie D, Coppola R, Decker R, Sanders R. The prevalence of surface antigen variants of Hepatitis B virus in Papua New Guinea, South Africa and Sardinia. *Hepatology*, 1997;26:1658-66.
12. Jongerius JM, Wester M, Cuypers HTM, van Ostendorp WR, Lelie PN, van der Poel CL, van Leeuwen EF. New hepatitis B virus mutant form in a blood donor that is undetectable in several hepatitis B surface antigen screening assays. *Transfusion*, 1998;38:56-59.
13. Pontisso P, Petit MA, Bankowski MJ, Peeples ME. Human liver plasma membranes contain receptors for the hepatitis B virus Pre-S1 region and, via polymerized human serum albumin, for the pre-S2 region. *J Virol*, 1989;63(5):1981-88.
14. Treichel U, Hermann K, Büschenfelde M, Stockert R, Poralla T, Gerken G. The asialoglycoprotein receptor mediates hepatic binding and uptake of natural hepatitis B virus particles derived from viraemic carriers. *J gen virol*, 1994;75:3021-3029.
15. Crowther RA, Kiselev NA, Böttcher B, Berriman JA, Borisova GP, Ose V, Pumpens P. Three-dimensional structure of hepatitis B virus core particles determined by electron cryomicroscopy. *Cell*, 1994;77:943-50.
16. Heise T, Guidotti LG, Cavanaugh VJ, Chisari FV. Hepatitis B virus RNA-binding proteins associated with cytokine-induced clearance of viral RNA from the liver of transgenic mice. *J Virol*, 1999;73(1):474-81.
17. Chisari FV. Viruses, immunity and cancer: Lessons from hepatitis B. *Am J Pathol*, 2000;156(4):1118-32.
18. Milich D, Jones J, Hughes J, Price J, Raney A, McLachlan A. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero. *Proc Natl Acad Sci*, 1990;87:6599-603.
19. Koike K, Takada S. Biochemistry and functions of hepatitis B virus X protein. *Intervirology*, 1995;38:89-99.
20. Truant R, Antunovic J, Greenblatt J, Prives C, Cromlish JA. Direct interaction of the hepatitis B virus HBx protein with p53 leads to inhibition by HBx of p53 response element-directed transactivation. *J virol*, 1995;69:1851-59.
21. Hu Z, Zhang Z, Doo E, Coux O, Goldberg AL, Liang TJ. Hepatitis B virus X protein is both a substrate and a potential inhibitor of the proteasome complex. *J Virol*, 1999;73(9):7231-40.
22. Bréchet C, Degos F, Lugassy C. Hepatitis B virus DNA in patients with chronic liver disease and negative tests for hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med*, 1985;312:270-76.
23. Zeldis JB, Lee JH, Mamish D. Direct method for detecting small quantities of hepatitis B virus DNA in serum and plasma using the polymerase chain reaction. *J Clin Invest*, 1989;84:1503-508.
24. Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Orlando ME, Raimondo G. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med*, 1999;34(1):22-26.
25. Chu CJ, Keeffe EB, Han SH, Perrillo RP, Min AD, Soldevila-Pico C, Carey W, Brown RS, Luketic VA, Terrault N, Lok ASF, The US HBV epidemiology study group. Prevalence of HBV precore/core promoter variants in the United States. *Hepatology*, 2003;38:619-28.
26. Parekh Sameer, Zoulim F, Ahn SH, Tsai A, Li J, Shigenobu K, Khan N, Trépo C, Wands J, Tong S. Genome replication, virion secretion, and e antigen expression of naturally occurring hepatitis B virus core promoter mutants. *J virol*, 2003;77(12):6601-12.
27. Norder H, Couroucé AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness and structural proteins of six strains of the Hepatitis B Virus, four of which represent two new genotypes. *Virology*, 1994;198:489-503.
28. Arauz-Ruiz P, Norder H. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol*, 2002;83:2059-2073.
29. Sánchez LV, Maldonado M, Bastidas-Ramírez BE, Norder H and A. Panduro. Genotypes and S-gene variability of hepatitis B virus Mexican strains. *J med virol*, 2002 Sep;68:24-32.
30. Jia-Horng K, Pei-Jer Ch, Ming-Yang L, Ding-Shinn Ch. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 2000;118:554-59.
31. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Genotypes and clinical phenotypes of hepatitis B virus in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Microbiol*, 2002;40(4):1207-209.
32. Chan HL, Wong ML, Yui Hui A, Hung LC, Ka-Leung Chan F, Jao-Yiu Sung F. Hepatitis B Virus Genotype C Takes a More Aggressive Disease Course Than Hepatitis B Virus Genotype B in Hepatitis B Antigen - Positive Patients. *J Clin Microbiol*, 2003;41(3):1277-279.
33. Alfonso JC, Costa J, Sánchez-Tapias JM, Mas A, de Anta MT, Jiménez T, Rodés J. Relationship between hepatitis B virus (HBV) genotypes and HBe seroconversion in chronic carriers and its impact on the course of infection. *J Hepatol*, 1999;30(Suppl 1):122.
34. Mbayed VA, López JL, Telenta FS, Palacios G, Badía I, Fierro A, Galoppo C et al. Distribution of Hepatitis B virus genotypes in two different pediatric populations from Argentina. *J Clin Microbiol*, 1998;36(11):3362-65.

LAURA VERÓNICA SÁNCHEZ OROZCO¹

ARTURO PANDURO CERDA²

¹ Profesor Investigador Titular A. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde". Departamento de Fisiología, CUCS, UdeG.

² Profesor Investigador Titular C. Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde".

CORRESPONDENCIA

Laura Verónica Sánchez Orozco.

Servicio de Biología Molecular en Medicina. Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde". Hospital # 278. Guadalajara, Jalisco.

Tel/fax (33) 36-14-7743.

Correo electrónico: vsorozco@cucs.udg.mx

Conflicto de interés no declarado