

Genotipos del virus de la hepatitis B

DOLORES QUINTERO Y JAVIER SALMERÓN

Unidad Clínica de Aparato Digestivo. Hospital Universitario San Cecilio. Granada. España.

La variabilidad del genoma es una característica común en todos los virus. El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus ácido desoxirribonucleico (ADN) con una variabilidad que oscila en un cambio por cada 1.000 a 100.000 nucleótidos incorporados por cada ciclo replicativo. Esta variabilidad se debe a errores de la actividad reparadora de las transcriptasas inversas, que son las enzimas encargadas de este proceso durante la replicación viral.

En la actualidad, el VHB ha sido clasificado en 8 genotipos diferentes designados de la A a la H. Estos genotipos se de-

finen por la existencia de una divergencia de más del 8% de los nucleótidos en la secuencia completa, y muestran una distribución geográfica característica^{1,2}.

Los genotipos del VHB se pueden determinar mediante técnicas de secuenciación directa y técnica de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP)^{1,3}. Ambas técnicas requieren, previamente, la amplificación del ADN del VHB mediante la reacción en cadena de la polimerasa. La región del VHB más utilizada para la amplificación es la que corresponde al gen S, aunque puede utilizarse cualquier fragmento del gen con secuencias específicas que represente la diversidad del genoma viral completo. La secuenciación directa es la técnica de referencia, ya que permite la identificación de los genotipos del VHB y la caracterización de nuevos genotipos en una única prueba. Sin embargo, es compleja y no siempre está disponible en todos los laboratorios. La técnica de RFLP, aunque más sencilla que la secuenciación, no es óptima para la clasificación de genotipos mixtos y no permite identificar nuevos genotipos. Recientemente, se ha comercializado un ensayo de hibridación diferencial basado en la tecnología de sondas en línea (INNO-LiPA)⁴.

En el estudio de los genotipos del VHB quedan muchos aspectos por resolver, ya que la mayoría de los estudios realizados incluye un reducido número de pacientes, a veces en poblaciones seleccionadas.

Genotipos del virus de la hepatitis B y epidemiología

Los estudios epidemiológicos son los más amplios y describen la distribución geográfica del VHB (tabla 1). Así, el genotipo A se encuentra fundamentalmente en el norte de América, la India, África y en el norte de Europa; los genotipos B y C son más frecuentes en Asia; el D, en el sur de Europa y la India; el E, en el oeste y sur de África; el F, en el centro y sur de América del Sur; el G, en Estados Unidos y Europa, y el H, en América Central. En España predomina el genotipo D, como en la mayoría de los países mediterráneos, seguido del genotipo A y, por último, del genotipo F. No obstante, dependiendo de la población analizada, esta distribución varía: en los pacientes con antígeno del VHB (HBeAg) positivo predomina el genotipo A en más del 80% de los casos, mientras que en los pacientes con HBeAg negativo predomina el genotipo

Puntos clave

● En la actualidad hay evidencias suficientes de la relación entre los genotipos del virus de la hepatitis B (VHB) y la epidemiología; también de la respuesta al tratamiento con interferón en pacientes HBeAg positivo. En cambio, el nivel de evidencia es menor en la hepatitis crónica HBeAg (antígeno del VHB) negativo tratados con interferón y escaso en los tratados con lamivudina y adefovir dipivoxil.

● En los pacientes HBeAg positivo predomina el genotipo A, mientras que en los pacientes HBeAg negativo, el genotipo D.

● La mayoría de los estudios están realizados en países orientales, y sugieren la relación entre los distintos genotipos y la evolución de la hepatitis crónica por el VHB.

● Aunque el nivel de evidencia no es muy alto, los pacientes con el genotipo A tienen mayor predisposición a desarrollar mutantes del VHB resistentes a la lamivudina que los pacientes con infección por el genotipo D.

● La determinación de los genotipos debería estar disponible y asequible mediante pruebas sencillas, ya que ayudaría a clasificar mejor a los pacientes, dada su relevancia clínica, sobre todo en la predicción de la evolución de la enfermedad y en la respuesta al tratamiento.

D⁵⁻⁸. En los países del norte de Europa, donde la hepatitis crónica es frecuente entre los inmigrantes, la distribución de los genotipos es similar a la observada en su país de origen⁹.

Genotipos del virus de la hepatitis B e historia natural de la infección

Desde el punto de vista clínico, el aspecto más importante es la utilidad de los genotipos del VHB en el tratamiento de los pacientes con hepatitis B crónica, tanto en la evolución natural de la enfermedad como en la respuesta al tratamiento. La mayoría de los estudios se han realizado en pacientes asiáticos, donde predominan los genotipos B y C, con una clara asociación del genotipo B y una mayor seroconversión a anti-HBe en edades más tempranas, menor gravedad de la lesión histológica hepática y una progresión más lenta hacia la cirrosis hepática¹⁰⁻¹⁵. Estos resultados discrepan de los obtenidos en estudios realizados en España en los que, aunque con un tamaño de muestra pequeño, no se observa relación entre el genotipo y la gravedad de la lesión o la respuesta al tratamiento⁷. En un estudio reciente¹⁶ con 202 pacientes asiáticos con HBeAg positivo y transaminasas normales, se demuestra que el genotipo B se asocia a una seroconversión mayor y temprana a anti-HBe y esta, a su vez, se relaciona con la edad de la infección. Por otro lado, los valores de transaminasas se

relacionan con el genotipo C, siendo la reactivación de la hepatitis B más común en los pacientes con este genotipo. Por último, identifican 2 factores asociados con la progresión de la cirrosis: el genotipo C y la reactivación de la hepatitis.

También los genotipos se han relacionado con el desarrollo del carcinoma hepatocelular; sin embargo, los resultados son discrepantes. La mayoría de los estudios provienen de países orientales, y muestran un mayor riesgo de desarrollar un carcinoma hepatocelular en los pacientes con genotipo C con respecto al genotipo B. Además, hay diferencias en la edad del desarrollo de carcinoma hepatocelular entre China y Japón. Esto se podría explicar por los diferentes subgenotipos predominantes (Ba en el continente asiático y Bj en Japón). No obstante, es necesario estudios más extensos para aclarar este punto^{13,14,17-20}.

Disponemos de escasa información sobre la correlación entre los genotipos y la hepatitis B aguda. En un estudio japonés, el 12% de 531 pacientes con hepatitis crónica por el VHB eran de genotipo B, frente a un 39% de 61 pacientes con hepatitis B aguda²¹. También en 21 pacientes con hepatitis B aguda, de los que 10 desarrollaron una hepatitis fulminante, demuestran que tanto el genotipo, en este caso el D, como los factores de riesgo (ADVP) influyeron del mismo modo negativo y en la misma proporción en la evolución de la enfermedad²². Sin embargo, estos datos pueden indicar que hay cambios temporales en el predominio de los genotipos en relación con la inmigración y el mecanismo de transmisión, y ambos están implicados en la evolución de la enfermedad.

Diferentes estudios han demostrado que hay una estrecha relación entre la presencia de mutaciones en la región del *precore*, que impiden la expresión del HBeAg, con algunos genotipos del VHB. La mutación más frecuente en la región *precore* es la sustitución de una guanina por una adenina en el nucleótido 1.989, que crea un codón de "parada". Esta mutación ocurre en los genotipos B, C y D, pero no en el genotipo A. Esto explica la mayor prevalencia de pacientes con mutantes *precore* en el área mediterránea y en el Sudeste Asiático, ya que predominan los genotipos B, C y D^{6,11,23}.

En Barcelona⁸, en un grupo de 182 pacientes con hepatitis B crónica, se demuestra un elevado porcentaje de mutaciones en la región del *core* y *precore* (93%) en pacientes con HBeAg negativos, lo que sugiere que la seroconversión a anti-HBe en nuestra área geográfica está principalmente relacionada con las alteraciones del genoma del VHB. Las mutaciones más frecuentes se sitúan entre el nucleótido 1.762 y el 1.764 para la región del *core* en un 92% de los casos, y en la región del *precore* entre el nucleótido 1.814 y el 1.819 y el 1.896 el 1.899 en el 95% de los casos. Además, muestran una relación entre estas mutaciones con un mayor grado de enfermedad hepática, lo que sugiere una mayor replicación viral^{24,25}. Estos resultados deben confirmarse con series más largas, ya que el número de biopsias realizado en este estudio es pequeño⁸.

Tabla 1. Distribución geográfica de los genotipos del VHB y su relación con los serotipos

Genotipo del VHB	Serotipos HBsAg	Distribución geográfica
A	adw2 ayw1	Europa, América del Norte, África
B	adw2 adw1	Sudeste Asiático Sudeste Asiático
C	adrq- adr/ayr adw adr	Pacífico Sudeste Asiático Japón, Indonesia Sudeste Asiático, Pacífico
D	ayw4 ayw2/aiw3	Estados Unidos Mundial
E	aiw4	África
F	adw2 adw4 ayw4	Sudamérica Polinesia, Alaska, Sudamérica Sudamérica
G	adw2	América del Norte, Europa, Japón

VHB: virus de la hepatitis B; HBsAg: antígeno de superficie del VHB.

Genotipos del virus de la hepatitis B y respuesta al tratamiento

La respuesta al tratamiento con interferón se ha relacionado con los distintos genotipos del VHB (tabla 2). En Asia, en 2

estudios^{26,27}, se observa que la seroconversión a anti-HBe durante el tratamiento es más frecuente en los pacientes con genotipo B que en los individuos infectados por el genotipo C: un 41% en los pacientes con genotipo B frente a un 15% en el genotipo C²⁶; y en el otro estudio, un 39% frente a un 17%²⁷. En Europa, los datos son todavía más escasos. En Alemania, los pacientes infectados por el genotipo A tienen más posibilidades de eliminar el HBeAg y el antígeno de superficie del VHB (HBsAg), tanto espontáneamente como con el tratamiento con interferón, que aquellos con el genotipo D (el 37 frente al 6%)²⁸. Aunque estos trabajos incluyen un número pequeño de pacientes, sus resultados han sido confirmados recientemente en pacientes tratados con interferón pegilado: la seroconversión a anti-HBe es más frecuente en pacientes con genotipo A (47%), seguido del genotipo B (44%), genotipo C (28%) y genotipo D (25%)²⁹. También se ha estudiado la influencia de los genotipos en la respuesta al tratamiento con interferón pegilado, pegilado más lamivudina y lamivudina. En este ensayo clínico, no se observó diferencias entre los genotipos B y C: el 30, el 29 y el 23% para el genotipo B y el 31, el 28 y el 18% para el genotipo C, en cada grupo de tratamiento, respectivamente. Por otro lado, los pacientes con altos valores de alanina aminotransferasa (ALT), bajos de ADN-VHB y HBeAg positivo, presentan mayor respuesta al tratamiento que aquellos con valores bajos o normales de ALT³⁰.

Aún queda por definir de una manera clara el papel de los genotipos del VHB en la respuesta al tratamiento en los pacientes con hepatitis crónica con HBeAg negativo. A diferencia de los pacientes con HBeAg positivo, los valores altos de ALT y bajos de ADN no influyen tan claramente en la respuesta al tratamiento en la hepatitis crónica con HBeAg negativo. Con respecto a los genotipos, parece que el genotipo D presenta mejor respuesta en el tratamiento combinado con interferón pegilado más lamivudina³¹.

Si los datos que relacionan el genotipo con la respuesta al interferón son escasos, todavía no se ha demostrado la posible

relación de los genotipos del VHB con la respuesta al tratamiento con lamivudina y adefovir. Varios estudios realizados en Asia, que incluyen un pequeño número de pacientes y con una duración variable del tratamiento con lamivudina, muestran que la seroconversión es similar para los pacientes con genotipo B y C^{32,33}. Sin embargo, a pesar de que la influencia del genotipo del VHB con la respuesta al tratamiento con lamivudina está menos contrastada, es posible que los pacientes infectados con el genotipo A tengan una mayor predisposición a desarrollar mutantes del VHB resistentes a lamivudina que los pacientes con infección por el genotipo D³⁴. En un estudio realizado en Japón, la resistencia a la lamivudina no dependía del genotipo y sí de los subgenotipos Ba y Bj³⁵. En un ensayo clínico en fase III en pacientes con hepatitis B crónica tratados con adefovir dipivoxil, no se observó diferencias significativas entre los diferentes genotipos y la respuesta al tratamiento, además de confirmar y ampliar los datos sobre la distribución asimétrica de los genotipos con respecto a la zona geográfica, raza y estado del HBeAg³⁶.

En resumen, con los datos publicados hasta el momento, la relación de los genotipos del VHB con la evolución clínica de la hepatitis B crónica y la respuesta al tratamiento es cada vez más evidente. Sin embargo, los factores medioambientales hacen que los hallazgos no se puedan extrapolar de una región geográfica a otra^{37,38}. Se desconocen las razones exactas de esta relación, es posible que los diferentes genotipos se asocien con las diferentes formas de replicación y expresión de los epitopes⁸. También hay una asociación evidente entre los genotipos del VHB y la presencia de mutaciones en la región del *precore*^{6,8,11,23}. Se podría concluir que la determinación de los genotipos debería estar disponible y asequible mediante pruebas sencillas, ya que ayudaría a clasificar mejor a los pacientes, dada su relevancia clínica, sobre todo en la predicción de la evolución de la enfermedad y en la respuesta al tratamiento.

Tabla 2. Relación del genotipo con la respuesta virológica según el tipo de tratamiento

Autores	Pacientes, n	Hepatitis crónica	Tipo de tratamiento	Respuesta virológica y genotipo
Kao et al ²⁶	58	HBeAg +	IFN- α 2b	B, 41% C, 15%
Wai et al ²⁷	109	HBeAg +	IFN- α	B, 39% C, 17%
Janssen et al ²⁹	307	HBeAg +	PEG-IFN- α 2b	A, 47% B, 44% C, 28% D, 25%
Cooksley et al ³⁰	814	HBeAg +	PEG-IFN- α 2a PEG-IFN- α 2a + LMV LMV	A: 52%, 22% y 20% B: 30%, 29%, 23% C: 31%, 28%, 18% D: 22%, 18%, 18%
Bonino et al ³¹	537	HBeAg -	PEG-IFN- α 2a PEG-IFN- α 2a + LMV LMV	Mejor respuesta en los pacientes genotipo D

HBeAg: antígeno del virus de la hepatitis B; IFN: interferón; PEG-IFN: interferón pegilado; LMV: lamivudina.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

■ Ensayo clínico controlado

- Kidd-Ljunggren K, Miyakawa Y, Kidd AH. Genetic variability in hepatitis B viruses. *J Gen Virol.* 2002;83:1267-80.
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, et al. Genotype H: a new Ameridian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol.* 2002;83:2059-73.
- Norder H, Courouce AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness and structural proteins of the six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology.* 1994;198:489-503.
- Grandjacques C, Pradat P, Stuyver I, et al. Rapid detection of genotypes and mutations in the pre-core promoter and the pre-core region of hepatitis B virus genome: correlation with viral persistence and disease severity. *J Hepatol.* 2000;33:430-9.
- Rodríguez-Frías F, Buti M, Jardí R, et al. Hepatitis B virus infection: precore mutants and its relation to viral genotypes and core mutations. *Hepatology.* 1995;22:1641-7.
- Sánchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, et al. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in Western patients. *Gastroenterology.* 2002;123:1848-56.
- Ruiz Extremera A, Muñoz Rueda P, Gila Medina A, et al. Genotipo del virus de la hepatitis B y la respuesta al tratamiento con interferón (IFN) y lamivudina (LMV). *Gastroenterol Hepatol.* 2005;28 Supl 1:88-9.
- Jardí R, Rodríguez F, Buti M, et al. Mutations in the basic core promoter region of hepatitis B virus. Relationship with precore variants and HBV genotypes in a Spanish population of HBV carriers. *J Hepatol.* 2004;40:507-14.
- Buti M. Genotipos del virus de la hepatitis B. *Gastroenterol Hepatol.* 2003;26:260-2.
- Shiina S, Fujino H, Uta Y, et al. Relationship of HBsAg subtypes with HBe Ag/anti-HBe status and chronic liver disease. Part I: analysis of 1744 HBsAg carriers. *Am J Gastroenterol.* 1991;86:866-71.
- Lindh M, Hannoun C, Dhillon AP, et al. Core promoter mutations and genotypes in relation to viral replication and liver damage in East Asian hepatitis B virus carriers. *J Infect Dis.* 1999;179:775-82.
- Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology.* 2000;118:554-9.
- Sumi H, Yokosuka O, Seki N, et al. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology.* 2003;37:19-26.
- Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, et al. A case control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Japan HBV Genotype Research Group. *Hepatology.* 2001;33:218-23.
- Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus genotype is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology.* 2002;122:1756-62.
- Chia Ming C, Yun Fan L. Genotype C hepatitis B virus infection is associated with a higher risk of reactivation of hepatitis B and progression to cirrhosis than genotype B: a longitudinal study of hepatitis B e antigen-positive patients with normal aminotransferase levels at baseline. *J Hepatol.* 2005;43:411-7.
- Fujii H, Moriya K, Shintani Y, et al. Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Japan. *Gastroenterology.* 2001;120:1564-5.
- Yuen MF, Sablon E, Yuan HJ, et al. Significance of hepatitis B genotype in acute exacerbation, HBeAg seroconversion, cirrhosis related complications, and hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2003;37:562-7.
- Chan HL, Wong ML, Hui AY, et al. 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;41:1277-9.
- Sugauchi F, Kumada H, Sakugawa H, et al. Two subtypes of genotype B (Ba and B₁) of hepatitis B virus in Japan. *Clin Infect Dis.* 2004;38:1222-8.
- Imamura T, Yokosuka O, Kurihara T, et al. Distribution of hepatitis B viral genotypes and mutations in the core promoter and precore regions in acute forms of liver disease in patients from Chiba, Japan. *Gut.* 2003;52:1630-7.
- Garfein RS, Bower WA, Loney CM, et al. Factors associated with fulminant liver failure during an outbreak among injection drug users with acute hepatitis B. *Hepatology.* 2004;40:865-73.
- Lok AS, Akarca U, Greene S. Mutations in the pre-core region of hepatitis B virus serve to enhance the secondary structure of the pre-genome encapsidation signal. *Proc Natl Aca Sci USA.* 1994;91:4077-81.
- Okamoto H, Tsuda F, Akahane Y, et al. Hepatitis B virus with mutations in the core promoter for an e antigen-negative phenotype in carriers with antibody to e antigen. *J Virol.* 1994;68:8102-10.
- Tillmann H, Trautwein C, Walker D, et al. Clinical relevance of mutations in the precore genome of the hepatitis B virus. *Gut.* 1995;37:568-73.
- Kao JH, Wu NH, Chen PJ, et al. Hepatitis B genotypes and response to interferon therapy. *J Hepatol.* 2000;33:998-1002.
- Wai CT, Chu CJ, Hussain M, et al. HBV genotype B is associated with better response to interferon therapy in HBeAg (+) chronic hepatitis than genotype C. *Hepatology.* 2002;36:1425-30.
- Erhardt A, Reineke U, Blondin D, et al. Mutations of the core promoter and response to interferon treatment in chronic replicative hepatitis B. *Hepatology.* 2000;31:716-25.
- Janssen HLA, Zonnevel M, Senturk H, et al. Peginterferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomized trial. *Lancet.* 2005;365:123-9.
- Cooksley G, Manns M, Lau GKK, et al. Effect of genotype and other baseline factors on response to peginterferon alfa 2^a (40kDa) (Pegasys) in HBeAg positive chronic hepatitis B: results from a large, randomised study. *J Hepatol.* 2005;42 Suppl:71.
- Bonino F, Lau G, Marcellin P, et al. The first detailed analysis of predictors of response to interferon in HBeAg-negative chronic hepatitis B: data from a multicenter, randomized partially double-blind study of peginterferon alfa 2^a (pegasys) alone or in combination with lamivudine vs lamivudine alone. *Hepatology.* 2004;40 Suppl 1:1142.
- Kao JH, Liu CJ, Chen DS. Hepatitis B viral genotypes and lamivudine resistance. *J Hepatol.* 2002;36:303-4.
- Yuen MF, Wong DK, Sablon E, et al. Hepatitis B virus genotypes B and C do not affect the antiviral response to lamivudine. *Antivir Ther.* 2003;8:531-4.
- Zollner B, Petersen J, Puchhammer-Stockl E, et al. Viral features of lamivudine resistant hepatitis B genotypes A and D. *Hepatology.* 2004;39:42-50.
- Akutan Susuki F, Kobayashi M, Tsubota A, et al. The influence of hepatitis B virus genotype on the development of lamivudine resistance during long-term treatment. *J Hepatol.* 2003;38:315-21.
- Westland C, Delaney W, Yang H, et al. Hepatitis B virus genotypes and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxil. *Gastroenterology.* 2003;125:107-16.
- Fung SK, Lok ASF. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? *Hepatology.* 2004;40:790-2.
- Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat.* 2005;12:456-64.

Bibliografía recomendada

Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. J Viral Hepat. 2005;12:456-64.

Revisión excelente y amplia sobre el estado actual de la relación entre los genotipos, la evolución de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

Jardí R, Rodríguez F, Buti M, Costa X, Valdés A, Allende H, et al. Mutations in the basic core promoter region of hepatitis B virus. Relationship with precore variants and HBV genotypes in a Spanish population of HBV carriers. Journal of Hepatology. 2004;40:507-14.

En este trabajo se realiza un estudio detallado de las distintas mutaciones de la región del core y precore del VHB, y se analizan las distintas relaciones de estas con los genotipos.

Fung SF, Lok ASF. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? Hepatology. 2004;40:790-2.

Analiza el papel actual de los genotipos en la infección por el VHB, y revisa la relación de estos en la evolución de la hepatitis aguda.