Artículo de revisión
Med Int Méx. 2018 mayo-junio;34(3):435-442.

# Biología molecular del virus de la hepatitis C

## Molecular biology of hepatitis C virus.

Santiago Dueñas-Carrera,[1] Nelson Acosta-Rivero,[1] Juan Morales-Grillo,[1] Waldo O García-Ferrera[2]

**Resumen**

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) se distribuye en todo el mundo, frecuentemente se convierte en hepatitis crónica, cirrosis y hepatocarcinoma. El genoma del VHC es una molécula de ARN monocatenario, de polaridad positiva, de aproximadamente 9.6 kb de longitud. Esta revisión resume el conocimiento actual y los avances recientes en la investigación de la biología molecular del VHC.

**PALABRAS CLAVE:** Virus de la hepatitis C; VHC; hepatitis crónica; cirrosis; hepatocarcinoma.

**Abstract**

Infection with hepatitis C virus (HCV), which is distributed worldwide, often becomes in chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. The HCV genome is a single-stranded RNA molecule of positive polarity approximately 9.6 kb in length. This review summarizes the current knowledge of recent advances in the investigation of the molecular biology of HCV.

**KEYWORDS:** Hepatitis C virus; HCV; Chronic hepatitis; Cirrhosis; Hepatocellular carcinoma.

[1] Departamento de Vacunas, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba.
[2] Jefe del Departamento de Gastroenterología, Sección Hepatología, Hospital Universitario Calixto García, La Habana, Cuba.

**Recibido:** noviembre 2017

**Aceptado:** enero 2018

**Correspondencia**
Waldo O García Ferrera
waldogferrera63@yahoo.com

**Este artículo debe citarse como**
Dueñas-Carrera S, Acosta-Rivero N, Morales-Grillo J, García-Ferrera WO. Biología molecular del virus de la hepatitis C. Med Int Méx. 2018 mayo-junio;34(3):435-442.
DOI: https://doi.org/10.24245/mim.v34i3.1903

## CARACTERÍSTICAS DEL GENOMA Y DE LAS PROTEÍNAS VIRALES

El VHC es un virus de ARN de simple cadena, de polaridad positiva, que se clasifica dentro del género Hepacivirus de la familia *Flaviviridae*.[1] En el virión, la cadena simple de ARN está protegida por una cápsida proteica que, a su vez, está cubierta por una envoltura, como demuestra el hecho de ser sensible al cloroformo.[2] La envoltura viral está compuesta por elementos virales y del hospedero.

Se ha demostrado la existencia de partículas icosahédricas de 50-75 nm aproximadamente y otras más pequeñas de 30-35 o 45-55 nm, en estudios de microscopia electrónica de partículas de VHC en suero, extracto de hígado o en líneas de células B o T humanas, infectadas de manera ineficiente con suero de VHC *in vitro*.[3-5] Los análisis demostraron que la densidad de los viriones del VHC puede variar considerablemente desde 1.03 a 1.20 g/mL.[4]

El genoma del VHC consta de aproximadamente 9.6 kb. Los primeros 341 nucleótidos (nt) constituyen la región 5′ no traducida que forma estructuras secundarias y terciarias estables. Este fragmento es muy conservado, mostrando más de 90% de identidad de secuencia nucleotídica entre 81 aislamientos diferentes.[6] Esta región contiene múltiples codones AUG antes del sitio de inicio de la traducción, así como regiones que intervienen en la replicación y en la traducción. Tal es el caso de los elementos que funcionan como sitio interno de entrada al ribosoma y que, por tanto, diferencian la traducción del genoma viral de la que tiene lugar para los ARNm celulares.[7] El sitio interno de entrada al ribosoma elimina la necesidad de una estructura 5′cap o de un extremo 5′ libre en el mensajero de traducción. El sitio interno de entrada al ribosoma comprende los nt del 44 al 354 del genoma viral, solapándose con los primeros 13 nt de la región codificante. A continuación de la región 5′ no traducida, el genoma del VHC contiene un marco abierto de lectura que codifica una poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos (aa). Este precursor proteico es procesado cotraduccionalmente y postraduccionalmente por una combinación de proteasas virales y del hospedero,[8] rindiendo al menos 10 proteínas individuales (**Figura 1**). Del extremo N-terminal al C-terminal se ubican las proteínas: C, E1, E2, p7 (proteínas estructurales), NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B (proteínas no estructurales).[9]

La región que codifica para la proteína de la cápsida está conservada entre los diferentes aislamientos correspondientes a distintos genotipos, mostrando una homología a nivel nucleotídico de más de 90%.[10] La proteína de la cápsida es rica en aminoácidos básicos (arginina y lisina) y residuos de prolina. Diferentes estudios indican que la forma inmadura de este antígeno viral es una proteína de 23 kDa (*P23*), compuesta de 191 aminoácidos, no glicosilada. La proteína de la cápsida es procesada de la poliproteína viral por una peptidasa señal de la célula hospedera. Se puede presentar en dos formas: una mayoritaria de 21 kDa[11] y otra forma menor de 19 kDa.[12] El carácter de nucleocápsida de esta proteína viral se ha comprobado por estudios de inmunomicroscopia electrónica de viriones tratados con detergente.[3] De hecho, la forma de 21 kDa parece ser el componente principal de la cápsida viral y tanto esta variante,[13,14] como otra que abarca los primeros 120 aa de este antígeno,[15] han demostrado tener una capacidad intrínseca de autoensamblaje. La forma menor es transportada al núcleo debido a la existencia de señales de localización nuclear como las ubicadas de los aa 5-13, 38-43 y 58-71, así como a la ausencia del dominio C-terminal hidrofóbico que es el responsable de la asociación de la proteína de la cápsida a las membranas del retículo endoplasmático (RE) y a gotas de lípidos.[16] La región que comprende los aa 38-43 (38-PRRGPR-43) es bien conservada en los diferentes subtipos del VHC aislados y

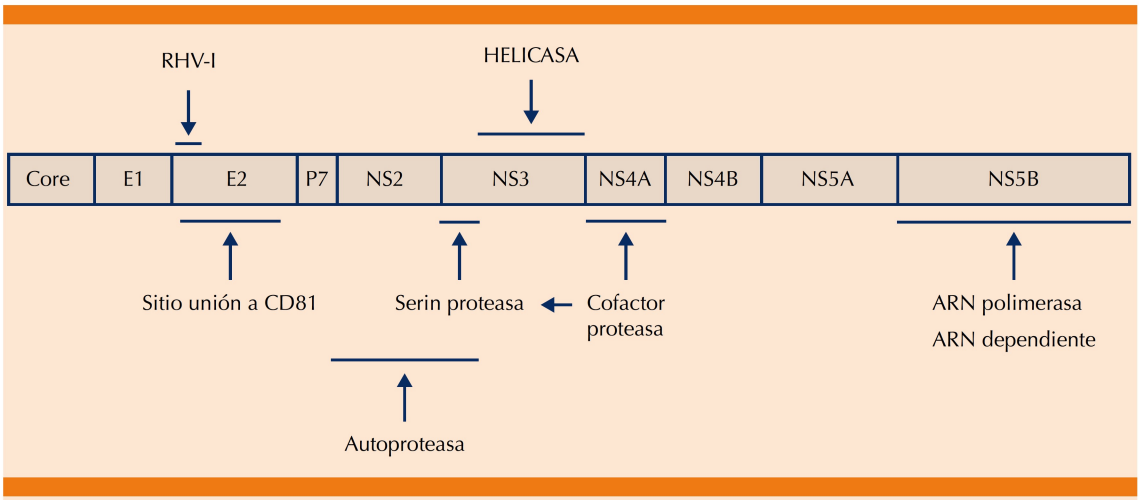



**Figura 1.** Representación esquemática de la poliproteína del VHC.

resulta suficiente para la localización nuclear de la proteína de la cápsida. Además, varios grupos han descrito que la cápsida se une a la región 5′ no traducida del VHC,[17,18] lo que puede ser importante para la encapsidación y el ensamblaje de la partícula viral. Se ha demostrado también la unión inespecífica de la cápsida a ARN[17] y ADN.[19] Otro paso del ensamblaje del virión que se ha podido establecer es la multimerización de la cápsida.[20] Por último, la proteína de la cápsida se ha vinculado con la regulación de diferentes genes en las células infectadas por el VHC, que incluyen su implicación en la inhibición de la apoptosis y la transformación a fenotipo tumorigénico.[21-23] Sin embargo, estudios adicionales serán necesarios para aclarar el papel real de la proteína de la cápsida durante la infección por el VHC.

La glicoproteína E1 forma parte de la envoltura del virión y consta de 192 aa (del 192 al 383) con peso molecular de 32-35 kDa. Tiene un péptido señal, seguido de una secuencia de corte en su extremo amino terminal. Su extremo carboxílico es hidrofóbico y tiene dos secuencias homólogas a segmentos transmembránicos, entre los que se incluyen cinco motivos de glicosilación, de los que sólo se utilizan cuatro.[24]

La segunda glicoproteína (gp72), también llamada E2/NS1, parece intervenir en la interacción inicial del virus con la célula hospedera. Esta proteína también ha evidenciado su capacidad para interactuar con la proteína cinasa dependiente de ARN de doble cadena, por lo que se ha relacionado con los mecanismos de resistencia al interferón. Este antígeno viral contiene 10 sitios de glicosilación y se presenta en dos formas fundamentales: una variante que abarca desde el aa 384 al 809 y otra que comprende la región del 384 al 746.[25] Esto se debe a que la proteína tiene dos tipos de procesamiento. Puede mantenerse intacta o puede sufrir un corte por una peptidasa entre los aa 746 y 747, que da lugar a una E2 truncada y a una proteína denominada p7.[9] El polipéptido p7 tiene una masa molecular aproximada de 7 kDa y consiste principalmente de aa hidrofóbicos. Esta proteína forma un canal iónico sensible a amantadina, que pudiera jugar un papel importante en la replicación viral. La distribución de esta proteína parece ser regulada de forma compleja, lo que sugiere que tenga múltiples funciones en el ciclo de vida del VHC, intracelularmente y en el virión.[26]

Las proteínas de la envoltura E1 y E2 interactúan de manera no covalente entre ellas para formar

heterodímeros que se localizan en el retículo endoplasmático de la célula infectada, debido a la existencia de dominios transmembranas en estos antígenos. Ambas proteínas de la envoltura se distinguen por una marcada variabilidad, incluso dentro de un mismo individuo. En la proteína E2 se han descrito dos regiones hipervariables (RHV-I y RHV-II). La primera, de 30 aa, se ha evidenciado en todos los aislamientos virales y comienza justo con el inicio de la proteína (aa 384). La segunda RHV se ha descrito sólo en los aislamientos de genotipo 1b y abarca 7 aa (aa 454-460).[27] Además, la glicoproteína E1 tiene una región con variabilidad moderada que abarca los aa 215-255.

La NS2 es una proteína integral de membrana de 23 kDa, de carácter hidrofóbico.[11] Esta proteína contiene un posible dominio de proteasa del tipo cisteína[28] que, junto a un tercio de la NS3, ubicado hacia la región N-terminal, forma una proteasa estimulada por Zn responsable del corte entre la NS2 y la NS3, por lo que se le considera autocatalítica. La NS3, por su parte, es una proteína de 70 kDa y codifica tres actividades enzimáticas, una proteasa del tipo serina[29] y una combinación NTPasa/helicasa. Se ha demostrado la formación de complejos heterodiméricos NS2/NS3 *in vivo*.[30] Además de ser una proteína multifuncional, la proteína NS3 afecta varias funciones celulares.[25] El polipéptido hidrofóbico NS4A, de 8 kDa aproximadamente, es necesario para el corte por parte de NS3. La NS4A puede mediar la asociación de NS3 con la membrana del retículo endoplasmático, lo que puede ser importante para la función de la proteasa.[18] La NS4B es una proteína de 27 kDa poco conocida, aunque parece formar parte del complejo de replicación viral.[18]

En la NS5A se ha localizado una región relacionada con la sensibilidad del subtipo 1b del VHC al tratamiento con interferón.[31] Asimismo, esta proteína es capaz de reprimir a la proteína cinasa inducida por interferón, activada por ARN de doble cadena, por interacción directa con el dominio catalítico. Por estos datos, la proteína NS5A parece intervenir en el mecanismo que confiere resistencia al efecto antiviral del interferón en las células infectadas. Se ha encontrado, además, que esta proteína sufre fosforilación en residuos de serina en su región central. Esto ocurre cuando la proteína NS5A es expresada como parte de una poliproteína NS3-NS5, lo que sugiere que se produce la formación de un complejo NS3-NS5A responsable de la fosforilación diferencial de NS5A. Este proceso de fosforilación es dependiente y dirigido por NS4A.[32] Se ha reportado que cuando se eliminan porciones de la región N-terminal de la NS5A, esta proteína funciona como un activador transcripcional potente, ésta es una actividad potencial de la proteína NS5A.[25] La NS5A interactúa con varias proteínas celulares e interviene en la replicación del VHC.

Por su parte, la NS5B contiene un motivo característico de las polimerasas que usan moldes de ARN. Está demostrado que esta proteína tiene una localización perinuclear.[33] Su interacción con membranas sugiere que la replicación debe ocurrir asociada con las membranas del retículo endoplasmático alrededor del núcleo.[33] Los trifosfatos de ribavirina no tienen efecto en su actividad polimerasa, por lo que el efecto terapéutico observado en los pacientes no está relacionado con la inhibición de la polimerasa viral.[32] Las proteínas asociadas con membranas de vesículas humanas (VAP-A y VAP-B) parecen ser factores hospederos esenciales en la replicación del VHC, mediante la unión de NS5A y de NS5B.[34] Hace poco se sugirió que la proteína NS5B pudiera tener un papel adicional en la patogénesis del VHC, al relacionarse con el retardo en la progresión del ciclo celular de hepatocitos a través de la inducción de interferón beta.[35]

Al final de la molécula de ARN del VHC se localiza la región 3' no codificante que incluye una porción de 40 nt poco conservada, una

cola de poli U de longitud heterogénea, y una secuencia altamente conservada de 98 nt que forma estructuras secundarias y terciarias estables y parece jugar un papel importante en la replicación viral.[36]

## Heterogeneidad viral

La comparación de secuencias nucleotídicas de diferentes aislamientos en todo el mundo indica que el VHC es muy heterogéneo. Los aislamientos del VHC pueden separarse en, al menos, seis tipos principales, subdivididos en más de 50 subtipos.[37] Los subtipos se designan por un número arábigo que corresponde al del tipo principal en el que se clasifica, seguido por una letra minúscula en orden según el descubrimiento (por ejemplo: 1a, 1b, 2a, 2b…). La prevalencia de estos genotipos varía marcadamente en las diferentes partes del mundo. Los subtipos 1a y 1b abarcan 70% de los casos de infección por el VHC. Esta heterogeneidad tiene una connotación especial en el desarrollo de vacunas porque dificulta la obtención de un producto de este tipo que dé protección global. La heterogeneidad y la existencia de diferentes genotipos también complica el tratamiento terapéutico y el diagnóstico molecular.[38]

La causa de esta heterogeneidad es la alta tasa de error de la ARN polimerasa dependiente de ARN y la carencia de mecanismos de corrección durante la síntesis del ARN viral. El VHC tiene capacidad de mutar estimada entre $10^{-3}$ y $10^{-4}$ sustituciones por sitio de genoma por año.[39] Este valor es suficientemente alto como para que coexista en un individuo infectado una población relacionada de diferentes genomas del virus, de los que uno se hace predominante bajo la presión del sistema inmunitario. Este fenómeno es conocido como dinámica de "cuasiespecies" y constituye un mecanismo rápido y eficiente para el escape del virus a la respuesta inmunitaria del organismo.[10,40] La distribución de "cuasiespecies" parece fluctuar a lo largo de la infección.[32] Existen denominados "puntos calientes" o zonas donde ocurren mutaciones con mayor frecuencia, principalmente ubicados en la región N-terminal de la proteína E2, concentrados en las dos regiones hipervariables descritas. Las mutaciones en estas dos regiones provocan con alta frecuencia cambios de aminoácidos,[32] con la consiguiente implicación para el reconocimiento antigénico por parte del sistema inmunitario hospedero.

## Ciclo viral

Los hepatocitos son el blanco principal de la infección y la replicación del VHC. Este virus, además de infectar los hepatocitos, es capaz de infectar células sanguíneas, como las células mononucleares de sangre periférica y los polimorfonucleares.[41] La infección de células mononucleares de sangre periférica y de linfocitos T infiltrados en el hígado parece caracterizar la infección crónica, mientras que es rara en portadores sanos de anticuerpos del virus y en formas aliviadas espontáneamente.[42] La unión del virus a la célula hospedera requiere la interacción de la proteína E2 o el complejo E1/E2 con un complejo de receptores que está presente en la superficie celular. Hasta el momento, el complejo receptor celular del VHC no se ha identificado. Sin embargo, parece ser que la molécula CD81 participa en esa interacción, como lo indica su unión a partículas virales.[43] De manera alternativa, la asociación de partículas del VHC con β-lipoproteínas e inmunoglobulinas pudiera indicar que la entrada del VHC a la célula podría estar mediada por los correspondientes receptores de estas moléculas.[44] La fusión de la envoltura viral con la membrana celular ocurre en el compartimiento endocítico y está relacionada con el pH bajo (microambiente ácido) que provoca cambios en las proteínas E1 y E2 del VHC, exponiéndose el péptido de fusión. Después de la entrada a la célula, el ARN viral es liberado de la nucleocápsida en el citoplasma.[45] Posteriormente, el genoma viral es traducido a

partir del sitio interno de entrada al ribosoma y la poliproteína viral es procesada proteolíticamente en las proteínas virales individuales. La mayor parte de estas proteínas, si no todas, forman un complejo multiproteico altamente ordenado y fuertemente asociado con las membranas intracelulares. Dentro de este complejo, la cadena positiva de ARN es copiada a un intermediario de cadena negativa, que a su vez sirve de molde para la síntesis de un exceso de la progenie de cadena positiva. El principal componente en la replicación lo constituye la NS5B, la ARN polimerasa ARN dependiente, que produce la nueva cadena de ARN mediante el mecanismo de síntesis *de novo*, o sea, sin necesidad de un cebador inicial, aunque las regiones no codificantes pudieran funcionar también para proporcionar el cebador. La cadena positiva, sintetizada por esta vía, puede usarse para la síntesis de nuevas cadenas negativas, para la traducción o para la encapsidación en partículas virales.[36] El autoensamblaje de las proteínas estructurales ocurre en el lumen del retículo endoplasmático, del que adquiere parte de los componentes de la envoltura del virión. Durante este proceso ocurre la formación de multímeros intermediarios de la cápsida y de heterodímeros de la E1 y la E2.[46] Por último, el virus parece ser exportado de la célula por la vía secretora constitutiva a través del complejo de Golgi.[36]

El nivel de viremia promedio en los pacientes infectados crónicamente es de alrededor de 3.5 millones de copias/mL,[47] independientemente del genotipo viral.[38] Las concentraciones de ARN viral tienen poca fluctuación y su cinética se ha relacionado con la cinética de la proteína de la cápsida en el suero de los individuos crónicos no tratados con antivirales. Los cálculos muestran un mínimo de producción viral y clarificación diaria de aproximadamente $10^{11}$ a $10^{13}$ viriones en individuos crónicos no tratados. El virus libre tiene un tiempo de vida medio de 1.5 a 4.6 h, mostrando un recambio de 97 a 99% por día. En cambio, el virus dentro de la célula tiene un tiempo de vida media que varía entre 1.7 y más de 70 días, con recambio diario de 1 a 33%.[38] La existencia de células infectadas en estado de latencia, en las que el periodo no productivo es considerablemente más largo que el ciclo productivo de la infección, es un factor importante en la infección por el VHC.[38]

## CONCLUSIONES

El virus de la hepatitis C establece una compleja interacción con el organismo hospedero a través de las proteínas virales. La heterogeneidad viral, la modificación de funciones celulares por parte de las proteínas virales, incluida la acción sobre células del sistema inmunitario, constituyen los principales mecanismos empleados por el virus de la hepatitis C para lograr su persistencia en el organismo hospedero.

## REFERENCIAS


1. Mayo MA, Pringle CR. Virus taxonomy 1997. J Gen Virol 1998;79(Pt 4):649-657.
2. Feinstone SM, Mihalik KB, Kimimura T, Alter HJ, London WT y Purcell RH. Inactivation of hepatitis C virus and non-A, non-B hepatitis by chloroform. Infect Immunol 1993;41:816-821.
3. Takahashi K, Kishimoto S, Yoshizawa H, Okamoto H, Yoshikawa A y Mishiro S. p26 protein and 33 nm particle associated with nucleocapsid of hepatitis C virus recovered from the circulation of infected hosts. Virology 1992;191:431-434.
4. Prince AM, Huima-Byron T, Parker TS y Levine DM. Visualization of Hepatitis C virions and putative defective interfering particles isolated from low-density lipoproteins. J Virol Hepatitis 1996;3:11-17.
5. Shimizu YK, Feinstones SM, Kohara M, Purcell RH y Yoshikura H. Hepatitis C Virus: Detection of intracellular virus particles by electron microscopy. Hepatology 1996;23:205-209.
6. Bukh J, Purcell RH y Miller RH. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89(11):4942-4946.
7. Honda M, Ping L-H, Rijnbrand RCA, Amphlett E, Clarke B, Rowlands DT y Lemon SM. Structural requirements for initiation of translation by internal ribosome entry within genome-lengh hepatitis C virus RNA. Virology 1996;22:31-42.
8. Manabe S, Fuke I, Tanishita O, Kaji C, Gomi Y, Yoshida S, Mori C, Takamizawa A, Yosida I, Okayama H. Production

of nonstructural proteins of hepatitis C virus requires a putative viral protease encoded by NS3. Virology 1994;198(2):636-644.

9. Takamizawa A, Mori C, Fuke I, Manabe S, et al. Structure and organization of the hepatitis C virus genome isolate from human carriers. J Virol 1991;65:1105-1113.
10. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. Semin Liver Dis 1995;15(1):41-63.
11. Santolini E, Migliaccio G, La monica N. Biosynthesis and biochemical properties of the hepatitis C virus core protein. J Virol 1994;68:3631-3641.
12. Lo S-Y, Masiarz F, Hwang SB, Lai MMC, Ou J-H. Differential subcellular localization of hepatitis C virus core gene products. Virology 1995;213:455-461.
13. Acosta-Rivero N, Alvarez-Obregon JC, Musacchio A, Falcon V, Dueñas-Carrera S, Marante J, Menendez I, Morales J. *In vitro* self-assembled HCV core virus-like particles induce a strong antibody immune response in sheep. Biochem Biophys Res Commun 2002;290(1):300-4.
14. Acosta-Rivero N, Rodriguez A, Musacchio A, Falcon V, Suarez VM, Martinez G, Guerra I, Paz-Lago D, Morera Y, de la Rosa MC, Morales-Grillo J, Dueñas-Carrera S. *In vitro* assembly into virus-like particles is an intrinsic quality of Pichia pastoris derived HCV core protein. Biochem Biophys Res Commun 2004;325(1):68-74.
15. Acosta-Rivero N, Rodriguez A, Mussachio A, Poutu J, et al. A C-terminal truncated hepatitis C virus core protein variant assembles *in vitro* into virus-like particles in the absence of structured nucleic acids. Biochem Biophys Res Commun 2005;334(3):901-6.
16. Chang SC, Yen J-H, Kang H-Y, Jang M-H, Chang M-F. Nuclear localization signals in the core protein of hepatitis C virus. Biochem Biophys Res Commun 1994;205(2):1284-1290.
17. Hwang SB, Lo S-Y, Ou J-H, Lai MMC. Detection of cellular proteins and viral core protein interacting with the 5' untranslated region of hepatitis C virus RNA. J Biomed Sci 1995;2:227-236.
18. Reed KE, Rince MC. Molecular characterization of hepatitis C virus in hepatitis C virus, Reesink HW (ed). Curr Stud Hematol Blood Transf Basel, Karger 1998;2:1-37.
19. Acosta-Rivero N, Rodriguez A, Musacchio A, Falcon V, Suarez VM, Chavez L, Morales-Grillo J, Dueñas-Carrera S. Nucleic acid binding properties and intermediates of HCV core protein multimerization in Pichia pastoris. Biochem Biophys Res Commun 2004;323(3):926-31.
20. Matsumoto M, Hwang SB, Jeng K-S, Zhu N, Lai MMC. Homotypic interaction and multimerization of hepatitis C core protein. Virology 1996;218:43-51.
21. Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, et al. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. Nat Med 1998;4:1065-7.
22. Marusawa H, Hijikata M, Chiba T, Shimotohno K. Hepatitis C virus core protein inhibits Fas- and tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis via NF-kappaB activation. J Virol 1999;73:4713-20.
23. Kittlesen DJ, Chianese-Bullock KA, Yao ZQ, Braciale TJ, Hahn YS. Interaction between complement receptor gC1qR and hepatitis C virus core protein inhibits T-lymphocyte proliferation. J Clin Invest 2000;106: 1239-49.
24. Fournillier A, Cahour A, Escriou N, Girard M, Wychowski C. Processing of the E1 glycoprotein of hepatitis C virus expressed in mammalian cells. J Gen Virol 1996;77:1055-1064.
25. Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. Acta Med Okayama 2001;55(3):133-159.
26. Griffin S, Clarke D, McCormick C, Rowlands D, Harris M. Signal peptide cleavage and internal targeting signals direct the hepatitis C virus p7 protein to distinct intracellular membranes. J Virol 2005;79(24):15525-36.
27. Rosa D, Campagnoli S, Moretto C, Guenzi E, et al. A quantitative test to estimate neutralizing antibodies to the hepatitis C virus: Cytofluorimetric assessment of envelope glycoprotein 2 binding to target cells. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:1759-1763.
28. Gorbalenya AE, Snijder EJ. Viral cysteine proteinases. Persp Drug Discov Des 1996;6:64-86.
29. Steinkühleer C, Tomei L, De Francesco R. *In vitro* activity of hepatitis C virus NS3 purified from recombinant baculovirus-infected Sf9 cells. J Biol Chem 1996;271:6367-6373.
30. Kiiver K, Merits A, Ustav M, Zusinaite E. Complex formation between hepatitis C virus NS2 and NS3 proteins. Virus Res. 2005. Publicación electrónica antes de impresión.
31. Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, et al. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis 1b. J Clin Invest 1995;96:224-230.
32. Kato N. Genome of human hepatitis C virus (HCV): gene organization, sequence diversity, and variation. Microb Comp Genomics 2000;5(3):129-151.
33. Hwang SB, Park K-J, Kim Y-S, Syng YC, Lai MMC. Hepatitis C virus NS5 B protein is a membrane associated phosphoprotein with a predominantly perinuclear localization. Virology 1997;227:439-446.
34. Hamamoto I, Nishimura Y, Okamoto T, Aizaki H, et al. Human VAP-B is involved in hepatitis C virus replication through interaction with NS5A and NS5B. J Virol 2005;79(21):13473-82.
35. Naka K, Dansako H, Kobayashi N, Ikeda M, Kato N. Hepatitis C virus NS5B delays cell cycle progression by inducing interferon-beta via Toll-like receptor 3 signaling pathway without replicating viral genomes. Virology 2005. Publicación electrónica antes de impression.
36. Bartenschlager R, Lohmann V. Replication of the hepatitis C virus. Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol 2000;14(2):241-254.
37. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deleage G, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. Hepatology 2005;42(4):962-73.

38. Zeuzem S. The kinetics of hepatitis C virus infection. Clin Liver Dis 2001;5(4):917-930.
39. Abe K, Inchauspe G, Fijisawa K. Genomic characterization and mutation rate of hepatitis C virus in patients who contracted hepatitis during an epidemic of NANBH in Japan. J Gen Virol 1992;73:2725-2729.
40. Alfonso V, Mbayed VA, Sookoian S, Campos RH. Intra-host evolutionary dynamics of hepatitis C virus E2 in treated patients. J Gen Virol 2005;86(Pt 10):2781-6.
41. Lamelin JP, Zoulim F, Trépo C. Lymphotropism of hepatitis B and C viruses: an update and a newcomor. Int J Clin Lab Res 1995;25:1-6.
42. Zignego AL, De Carli M, Monti M, Careccia G, et al. Hepatitis C virus infection of mononuclear cells from peripheral blood and liver infiltrates in chronically infected patients. J Med Virol 1995;47:58-64.
43. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. Science 1998;282:938-941.
44. Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low-density lipoprotein receptor. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96(22):12766-12771.
45. Lindenbach BD, Rice CM. Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. Nature 2005;436:933-938.
46. Blanchard E, Brand D, Trassard S, Goudeau A, Roingeard P. Hepatitis C virus-like particle morphogenesis. J Virol 2002;76(8):4073-4079.
47. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, et al. Interferon alfa 2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. N Engl J Med 1998;339:1485-1492.



**AVISO PARA LOS AUTORES**

*Medicina Interna de México* tiene una nueva plataforma de gestión para envío de artículos. En: **www.revisionporpares.com/index.php/MIM/login** podrá inscribirse en nuestra base de datos administrada por el sistema *Open Journal Systems* (OJS) que ofrece las siguientes ventajas para los autores:

- Subir sus artículos directamente al sistema.
- Conocer, en cualquier momento, el estado de los artículos enviados, es decir, si ya fueron asignados a un revisor, aceptados con o sin cambios, o rechazados.
- Participar en el proceso editorial corrigiendo y modificando sus artículos hasta su aceptación final.