

XXXV CONGRESO ANUAL DE LA FUNDACIÓN/ASOCIACIÓN ESPAÑOLA PARA EL ESTUDIO DEL HÍGADO

Factores genéticos del huésped y respuesta terapéutica en la hepatitis C

C.M. Fernández Rodríguez*, S. Alonso López, M.L. Gutiérrez García, I. Gómez-Molins, B. Carrascosa Aguilar y J.L. Lledó Navarro

Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón, Madrid, España

Introducción

La historia natural de la infección por virus de la hepatitis C (VHC) está determinada por una interacción compleja entre factores genéticos del huésped, factores del virus y respuesta inmunológica. La eliminación del VHC depende de una respuesta inmunológica vigorosa, que se asocia a determinados alelos HLA. Hay asociaciones genéticas implicadas en la regulación y función de la respuesta adaptativa T específica y en la respuesta innata de células NK. El propósito de esta revisión es presentar la evidencia científica disponible de la interacción de factores genéticos del huésped y la respuesta antiviral o la eliminación espontánea del VHC.

Algunos factores dependientes del virus, como los genotipos 2 y 3, la carga viral basal baja¹⁻⁴ y, más recientemente, la cinética viral ayudan a predecir la probabilidad de respuesta virológica sostenida (RVS)⁵⁻¹⁰. Otros factores dependientes del huésped, como la raza, la obesidad, la fibrosis avanzada, la resistencia a la insulina, la presencia de diabetes mellitus 2, la sobrecarga férrica, el sexo masculino, la producción de citocinas, determinados haplotipos HLA y diferencias en la respuesta celular T, condicionan la respuesta antiviral¹¹⁻¹⁴. Hasta la fecha, los factores genéticos del huésped asociados a RVS son desconocidos.

Es importante considerar que muchos estudios genéticos se han realizado en cohortes pequeñas, heterogéneas, con insuficiente poder estadístico para establecer asociaciones significativas, por lo que muchos de los datos disponibles deben interpretarse con precaución.

Respuesta inmune en la infección por virus de la hepatitis C

Además de las barreras físicas, la inmunidad innata incluye componentes solubles, como los factores del complemento y los interferones (IFN) del tipo I, y componentes celulares, como los granulocitos, macrófagos, células dendríticas y células NK. La inmunidad adaptativa incluye componentes humorales, como anticuerpos producidos por células B, y la respuesta celular inmune CD4+ y CD8+. Los estudios en humanos y modelos animales de infección VHC demuestran que el virus induce una respuesta innata inmediatamente después de la infección, pese a lo cual la infección persiste casi siempre. La eliminación viral sólo ocurre si hay una respuesta antiviral potente de células T CD4+ y CD8+^{15,16}. La respuesta celular T adecuada requiere la presentación de péptidos virales unidos a moléculas HLA en la membrana celular de células presentadoras de antígeno a linfocitos T con el receptor de células T reactivo (TCR). Los alelos HLA son muy variables en los humanos y se han identificado varios de ellos asociados a diferente curso evolutivo en la infección crónica VHC, el más consistente en la protección es el HLAB27. En la infección crónica VHC, la respuesta celular T es habitualmente disfuncional, en parte debido a la presencia y actividad de células T reguladoras y de citocinas inmunosupresoras, como la interleucina (IL)-10 (fig. 1). Además, hay alteraciones en la función y diferenciación de células T, lo que contribuye a una respuesta T inadecuada. La proteína del core del VHC induce la formación de la proteína supresora de citocinas 3 (SOCS 3) que suprime la señalización jak-STAT, que en conjunción con la IL-8, cuyos valores intrahepáticos están elevados en la infección por VHC, bloquean la formación de ISGF3 inducida por IFN (fig. 1)¹⁷⁻¹⁹.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cfernandez@fhalcon.es (C.M. Fernández Rodríguez).

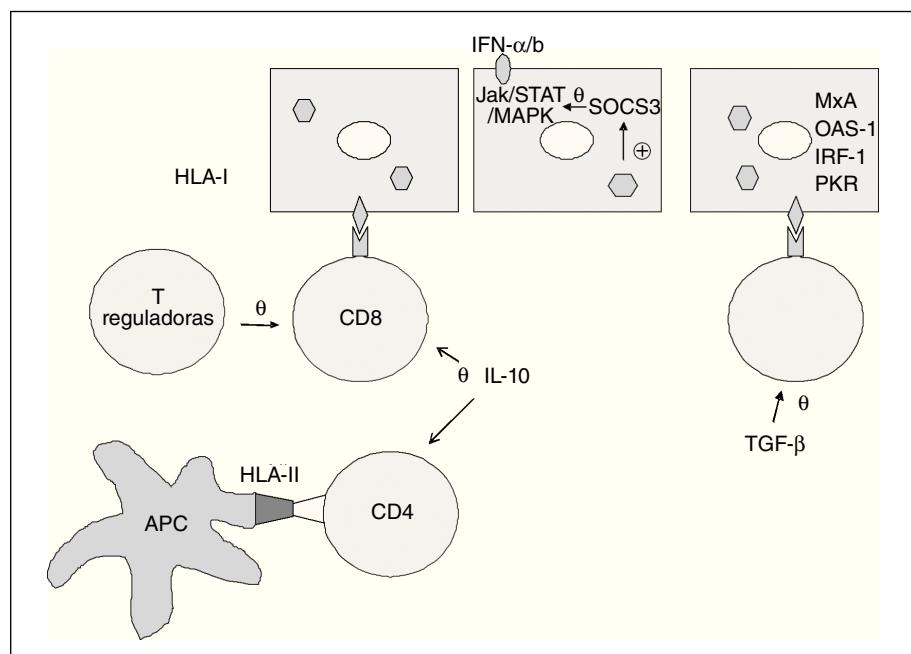


Figura 1 Representación esquemática de la perturbación de la respuesta celular T en la infección crónica por VHC. Hay una inhibición por IL-10 de la respuesta CD4+ y CD8+ y de la respuesta NK por TGF-β. Asimismo, las células T reguladoras inhiben la respuesta CD8+. Algunos polimorfismos MxA, OAS-1, PKR y INF-1 se asocian a mayor aclaración de la infección VHC. La proteína del core de VHC induce la SOC-3 que suprime la señalización jak-STAT de los interferones de la clase I.

Estudios en chimpancés demuestran que la respuesta celular T citotóxica es esencial para la erradicación del VHC; la presentación de epítopos virales con HLA-I a las células CD8+ se asocia a un control efectivo de la replicación viral, sin embargo, la cooperación de las células CD4+ también es necesaria para una respuesta CD8+ eficiente^{20,21}.

Genes implicados en la inmunidad innata

La infección viral induce una respuesta en la célula infectada que incluye la activación del sistema del INF y la inducción de genes que codifican proteínas antivirales. Algunos polimorfismos de genes inducidos por INF se han relacionado con mejor respuesta a la infección VHC, como el gen de resistencia a mixovirus (*MxA*), el 2'-5'-oligoadenilato sintetasa (*OAS-1*), la proteína cinasa dependiente de ARN de doble hebra (*PKR*) y el factor-1 regulador del IFN (*INF-1*)²², lo que indica que diferencias en genes implicados en la inmunidad innata afectan el curso de la infección VHC. Otros autores han encontrado polimorfismos de nucleótidos simples (SNP) que se asocian a protección frente al VHC como el factor regulador del interferón tipo 1 (INF1), pero no el *MxA*²³. Hasta la fecha, no hay información que analice la relación entre la respuesta o aclaramiento de la infección VHC y la función monocítica o de células dendríticas.

Las células NK son una subpoblación linfóide que ejerce su efecto antiviral a través de la secreción de citocinas antivirales o lisis de células infectadas. Su función se regula a través de factores inhibitorios y activadores que se ligan a los receptores NK, los factores inhibitorios son importantes para limitar la citotoxicidad NK. Las células NK expresan el receptor inhibidor de las células NK similar a la inmunoglobulina (KIR) que interacciona con determinados HLA-I que expresan las células diana. Se ha postulado que un genotipo del huésped que favorezca la interacción inhibitoria débil

de los receptores KIR con los HLA-I o la expresión activadora KIR-HLA-I favorecería en ambos casos el aclaramiento del VHC²⁴. La mayoría de los ligandos KIR identificados se componen de alelos HLA-C; según sus características, estos alelos se agrupan en HLA-C1 y HLA-C2. La señal inhibitoria resultante de la interacción HLA-KIR más potente se ha observado con los ligandos HLA-C2, esto produce inhibición NK potente y excluye la interacción con HLA-C1. Es interesante resaltar que se ha descrito un aumento de homocigotos HLA-C2/C2 en pacientes con infección VHC, mientras que los HLA-C1/C1 se asocian a mayor aclaramiento del VHC²⁵.

La respuesta celular NK puede eliminar un inóculo bajo del virus C, pero si la carga viral es superior y desborda esta respuesta, la activación mantenida KIR-HLA-NK puede producir daño celular y progresión a fibrosis avanzada o cirrosis²⁵.

La función celular NK también puede inhibirse por TGF-β; así, el polimorfismo del promotor del gen *TGF-β* que reduce la expresión del TGF-β1 se asocia a mayor aclaramiento de la infección VHC (fig. 1)²⁵.

Genes implicados en la inmunidad adaptativa

La respuesta celular T CD8+ se produce por reconocimiento del receptor TCR de HLA-I y péptidos del virus C expresados en los hepatocitos infectados. La respuesta T CD8+ juega un papel muy importante en el aclaramiento VHC, esta situación se asocia a una respuesta polifuncional y multiespecífica. Dado que hay un repertorio limitado de respuesta celular T frente a ligandos HLA-péptidos virales, la emergencia de mutaciones disminuye la afinidad HLA-péptido, lo que favorece la cronicidad de la infección VHC²⁶.

El locus HLA en humanos presenta una gran variabilidad, la región que determina qué péptidos virales se ligan para

ser presentados a las células T está sujeta a múltiples polimorfismos, de manera que los alelos diferentes HLA presentan afinidad por diferentes epítopos e influyen en la respuesta celular T CD8+. Algunos alelos HLA clase I se asocian a protección. Por ejemplo, los HLA-A1101 y HLA-B57 fueron más frecuentes en 231 individuos que eliminaron el VHC que en 444 con infección crónica²⁵. El HLA-B27 muestra una asociación protectora muy significativa frente al VHC en una cohorte de mujeres irlandesas; esta protección está mediada por la respuesta celular T CD8+ T contra un único epítopo para las que las mutaciones del VHC no le confieren escape, salvo que éstas fueran preexistentes²³.

Estudios de asociación genómica

Polimorfismo de nucleótidos simples en la región IL28B y respuesta al tratamiento

Con la secuenciación del genoma humano en 2003 se abrió la posibilidad de estudiar enfermedades frecuentes analizando el genoma de muestras de pacientes y controles; la fuente de marcadores obtenidos, como las mutaciones únicas de nucleótidos o SNP, se analiza con herramientas bioinformáticas para detectar variación que se denomina "asociada" a la enfermedad. Esta asociación apunta a la región del genoma donde la variación genética que causa la enfermedad es probable que se localice, esto permite la investigación de una patología determinada sin la formulación a priori de hipótesis. El primer estudio de asociación genómica (GWAS) se realizó en 2007, para conocer los genes involucrados en la diabetes²⁷.

Recientemente, 3 estudios independientes de asociación genómica han encontrado que el SNP cerca de la región IL28B se asocia a mayor respuesta al tratamiento²⁸⁻³⁰. Se han estudiado grupos muy amplios de pacientes con genotipo 1, tratados con INF-peg alfa 2a o INF-peg alfa 2b y ribavirina, se ha observado que el polimorfismo genético cerca del gen humano *IL28B*, que codifica el IFN-λ3, se asocia a diferencias significativas en la respuesta al tratamiento. Los pacientes con genotipo 1 del VHC, portadores de determinadas variantes alélicas cerca del gen *IL28B*, tienen más probabilidad de alcanzar respuesta virológica sostenida que otros²⁸⁻³⁰. Las poblaciones estudiadas provenían de diferentes áreas geográficas (europeos, afroamericanos, australianos y japoneses). Ge et al²⁸ estudiaron 1.137 pacientes con genotipo 1, e identificaron que varios SNP cerca del gen *IL28B* en el cromosoma 19 eran más frecuentes en respondedores que en no respondedores. Posteriormente, Suppiah et al²⁹ y Tanaka et al³⁰ identificaron la variante RS 8099917, localizada a unas 8 kb del gen *IL28B*, como la que más se asocia a respuesta virológica sostenida. Al mismo tiempo, Thomas et al³¹ han descrito que la variante observada por Ge et al se ha relacionado con una probabilidad mayor de aclaramiento espontáneo del VHC. Los IFN-λ, que incluyen el IFN-λ1, IFN-λ2 e IFN-λ3, también denominados IL-29, IL-28-A y IL-28-B, son un nuevo grupo de citocinas emparentadas a distancia con los miembros de la familia INF y la IL-10³¹. El complejo IFN-λR consiste en una única cadena que se une a ligandos, el IFN-λR1 (también denominado IL-28Rλ), y una cadena accesoria, IL-10R2, compartida con

receptores de las citocinas relacionadas con la IL-10. La señalización de los IFN-λ a través de los IFN-λR activan la ruta jak-STAT y MAPK para inducir respuesta antiviral, antiproliferativa, inmune y antitumoral. Aunque los estudios descritos han identificado el polimorfismo cerca de o en la región IL28B, ninguna de estas variantes tiene un efecto evidente en la función del gen del IFN-λ3. Aunque el IFN-λ1 produce inhibición del VHC dependiente de la dosis y el tiempo y refuerza la eficacia antiviral del IFN-α, los IFN-λ tiene menor efecto antiviral in vitro que los IFN-α³²⁻³⁶.

Estudios genómicos de cribado de factores del huésped necesarios para la propagación del virus de la hepatitis C

A diferencia del sistema del replicón, los sistemas de cultivo celular del VHC (VHCcc) reproducen el ciclo completo de replicación del VHC. Recientemente, Li et al han utilizado este sistema como parte de un programa de cribado, utilizando ARN corto de interferencia (siARN) para silenciar funcionalmente proteínas del huésped³⁶. El siARN contra el receptor celular CD81 y claudina-1 disminuyó significativamente la infectividad del virus, así como contra la proteína ApoE, implicada en la síntesis de lipoproteínas necesarias para la formación de partículas infecciosas. Estos investigadores, utilizando herramientas bioinformáticas, encontraron otras 30 proteínas del huésped, 14 de ellas ya previamente descritas, implicadas en la replicación del VHC, como las cinasas MAPK1 y raf1/MAPK3, la proteína ligadora de ARN ELAVL1 y la ARN helicasa, DDX3X y la CyPa (ciclofilina A). Se conoce una interacción física directa entre Raf1/MAPK3, Stat3 y DDX3x y una o más de las proteínas del VHC. Los autores encontraron una interacción significativa entre proteínas del virus, moléculas de adhesión, señalización de TGF-β, ErbB y ubiquitina.

En los próximos años, los esfuerzos combinados de genómica funcional, proteómica y estudios genómicos de asociación esclarecerán de forma completa el papel de las proteínas del huésped y la interacción con proteínas del virus en el curso de la enfermedad y arrojarán información relevante sobre nuevas dianas terapéuticas.

Bibliografía

1. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. PEG-interferon alfa-2b in combination with ribavirin compared to interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C. Lancet. 2001;358:958-65.
2. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. Ann Int Med. 2004;140:346-55.
3. Zeuzem S, Pawlotsky JM, Lukasiewicz E, Von Wagner M, Gouli I, Lurie Y, et al; DITTO-HCV Study Group. International multicenter, randomized, controlled study comparing dynamically individualized versus standard treatment in patients with chronic hepatitis C. J Hepatol. 2005;43:250-7.
4. Lee SS, Bain VG, Peltekian K, Krajden M, Yoshida EM, Deschenes M, et al. Treating chronic hepatitis C with pegylated interferon alfa-2a (40 KD) and ribavirin in clinical practice. Aliment Pharmacol Ther. 2006;23:397-408.

5. Fried M, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347:975-82.
6. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003;38:645-52.
7. Ferenci P, Fried MW, Shiffman ML, Smith CI, Marinos G, Gonçalves FL Jr, et al. Predicting sustained virological responses in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40 KD)/ribavirin. *J Hepatol.* 2005;43:425-33.
8. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, Pockros PJ, Reddy KR, Hadziyannis SJ, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology.* 2006;43:954-60.
9. Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, Sperl J, Horsmans Y, Cianciara J, et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *J Hepatol.* 2006;44:97-103.
10. Mangia A, Minerva N, Bacca D, Cozzolongo R, Ricci GL, Carretta V, et al. Individualized treatment duration for hepatitis C genotype 1 patients: a randomized controlled trial. *Hepatology.* 2008;47:43-50.
11. Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling MH, Albrecht J. Is an “à la carte” combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? *Hepatology.* 2000;31:211-8.
12. D’Arondel C, Munteanu M, Moussalli J, Thibault V, Naveau S, Simon A, et al. A prospective assessment of an “à la carte regimen” of PEG-interferon alpha-2b and ribavirin combination in patients with chronic hepatitis C using biochemical markers. *J Viral Hepat.* 2006;13:182-9.
13. Frese M, Schwarze V, Barth K, et al. Interferon- γ inhibits replication of subgenomic and genomic hepatitis C virus RNAs. *Hepatology.* 2002;35:694-703.
14. Gao B, Hong F, Radaeva S. Host factors and failure of interferon-alpha treatment in hepatitis C virus. *Hepatology.* 2004;39: 880-90.
15. Thimme R, Bukh J, Spangenberger HC, Wieland S, Pemberton J, Steiger C, et al. Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:15661-8.
16. Dustin LB, Rice CM. Flying under the radar: the immunobiology of hepatitis C. *Annu Rev Immunol.* 2007;25:71-99.
17. Asselah T, Bièche I, Laurendeau I, et al. Liver gene expression signature of mild fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2005;129:2064-75.
18. Bode JG, Ludwig S, Ehrhardt C, et al. IFN-alpha antagonistic activity of HCV core protein involves induction of suppressor cytokine signalling 3. *FASEB J.* 2003;17:488-90.
19. Larrea E, Aldabe R, Molano E, Fernández-Rodríguez CM, Ametzazurra A, Civeira MP, et al. Altered expression and activation of signal transducers and activators of transcription (STATs) in hepatitis C virus infection: in vivo and in vitro studies. *Gut.* 2006;55:1188-96.
20. Stärkel P. Genetic factors predicting response to interferon treatment for viral hepatitis C. *Gut.* 2008;57:440-2.
21. Persico M, Capasso M, Russo R, et al. Elevated expression and polymorphisms of SOCS3 influence patient response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. *Gut.* 2008;57:507-15.
22. Knapp S, Yee LJ, Frodsham AJ, Hennig BJ, Hellier S, Zhang L, et al. Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKE. *Genes Immun.* 2003;3:411-9.
23. Wietzke-Braun P, Maouzi AB, Mänhardt LB, Bickeböller H, Ramaadori G, Mihm S. Interferon regulatory factor-1 promoter polymorphism and the outcome of hepatitis C virus infection. *Eur J Gastro Hepatol.* 2006;18:991-7.
24. Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, et al. HLA and NK inhibitory genes in resolving hepatitis C infection. *Science.* 2004;305:872-4.
25. Bengsch B, Thimme R, Hubert E. Role of host genetic factors in the outcome of hepatitis C virus infection. *Viruses.* 2009;1:104-25.
26. Tsai SL, Chen Y, Chen M, Huang C, Sheen I, Yeh C, et al. Hepatitis C virus variants circumventing cytotoxic T lymphocyte activity as a mechanism of chronicity. *Gastroenterology.* 1998; 115:954-66.
27. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature.* 2007;445:881-5.
28. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature.* 2009;461:399-401.
29. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiell G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet.* 2009;DOI:10.1038/ng.449.
30. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kuroski M, Matsura K, Sakamoto N, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet.* 2009;41:1105-9.
31. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature.* 2009; DOI:10.1038/nature08463. PMID. 19759533.
32. Li M, Liu X, Zhou Y, Su SB. Interferon-lambdas: the modulators of antivirus, antitumor, and immune responses. *J Lukoc Biol.* 2009; 86:23-32.
33. Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, et al. IL-28, IL-29 and their class III cytokine receptor IL-28R. *Nature Immunol.* 2003;4:63-8.
34. Marcello T, Grakoui A, Barba-Spaeth G, et al. Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics. *Gastroenterology.* 2006;131:1887-98.
35. Asselah T, Soumelis V, Estrabaud E, Marcellin P. Chronic hepatitis C: pathophysiology, diagnosis and treatment options. Clinical update on inflammatory disorders of the gastrointestinal tract. In *Front Gastrointestinal Res.* Basel: Karger; 2010. p. 42-58.
36. Li Q, Brass AL, Ng A, Hu Z, Xavier RJ, Liang TJ, et al. A genome-wide genetic screen for host factors required for hepatitis C virus propagation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:16410-5.