

Hepatitis Virales agudas / persistentes: infección por HBV y por HCV

José Raúl Oubiña

*Cátedra I de Microbiología, Parasitología e Inmunología
Microbiología II*



Objetivos

- ✓ Promover el razonamiento para resolver situaciones.
- ✓ Correlacionar los fundamentos patogénicos de la infección por HBV y por HCV con el diagnóstico de cada uno de ellos.
- ✓ Analizar las medidas de profilaxis activa y pasiva para HBV en el contexto de la variabilidad y diversidad de este agente.
- ✓ Introducir al futuro médico los conceptos básicos de la respuesta viral al tratamiento anti-HBV y anti-HCV .
- ✓ Comprender el potencial rol de los “anticuerpos con amplia actividad neutralizante” en la definición de epítopes de antígenos de envoltura de HCV para construir una futura vacuna.

Contenidos (I): Hepatitis B

- ✓ ¿Cómo se descubrió el HBV?
- ✓ ¿Qué relación existe entre estructura y función de los genes y proteínas del HBV?
- ✓ ¿Por qué algunas infecciones por HBV son agudas y otras persistentes?
- ✓ ¿Qué implicancias médicas tienen las mutantes en las proteínas precore y S (RHP)?
- ✓ ¿Cómo se diagnostica una hepatitis B aguda o crónica?
- ✓ ¿Es siempre eficaz la profilaxis activa / pasiva?
- ✓ ¿Cómo responde el HBV a los antivirales?



• Una pista...

El suero de un aborigen australiano reacciona con el de una persona con hemofilia formando una banda que es teñida de rojo con azocarmín (para proteínas) y no con tinción para lípidos.

El así denominado *Antígeno australiano* tiene una prevalencia del 0,1% en la población general australiana, pero alcanza el 10% entre leucémicos politransfundidos.

MILESTONES IN LIVER DISEASE

A new antigen in leukemia sera
J Am Med Assoc 1965;191:541–546]

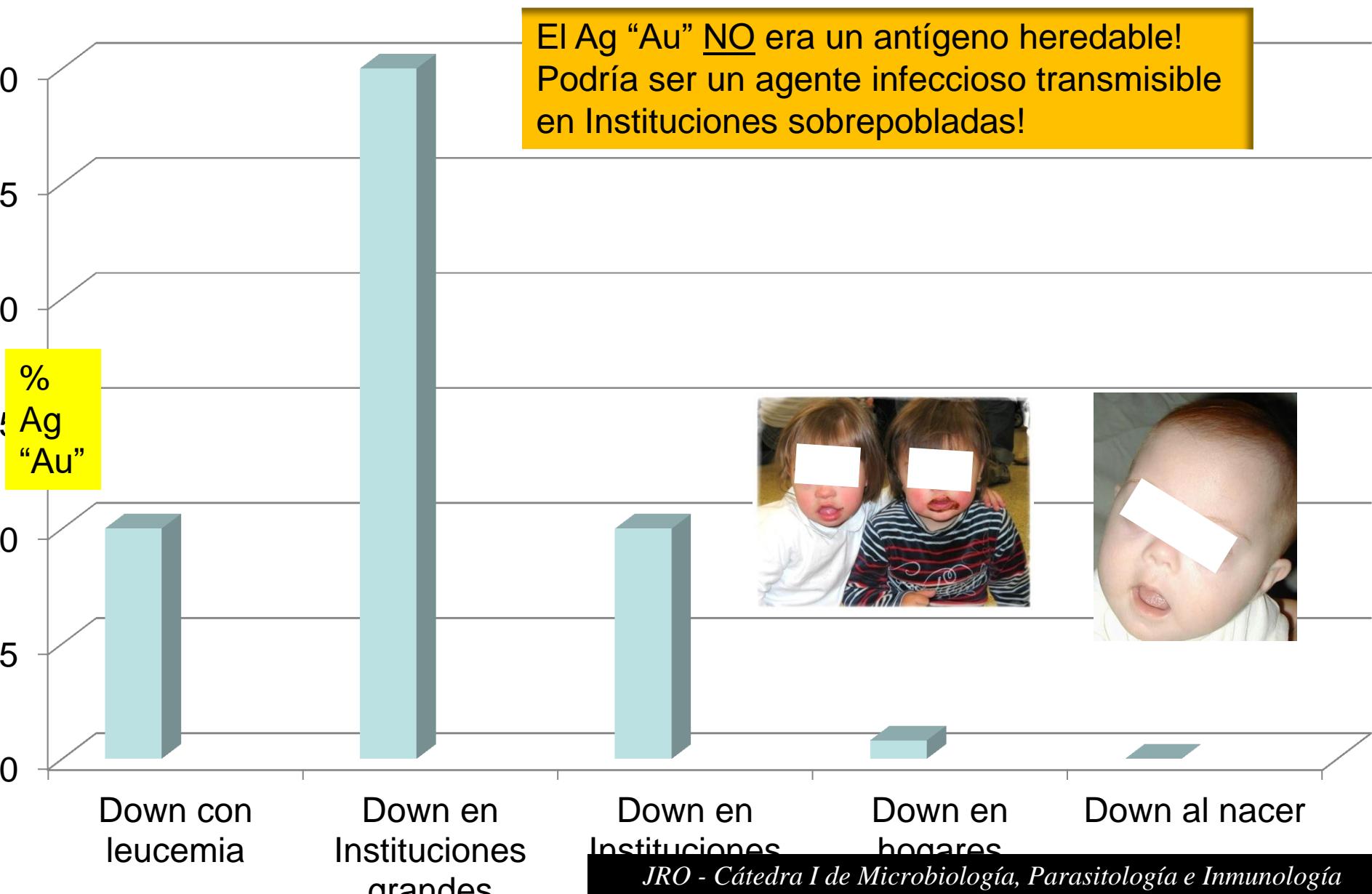
Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S.

Abstract:

The ‘Australia Antigen’ is found in the sera of some normal individuals from foreign populations. The total absence of the antigen from the sera of normal United States’ subjects and its relatively high frequency in acute leukemia suggests that the presence of the antigen maybe of value in the diagnosis of early acute leukemia. Whether the antigen results from or precedes the leukemia process remains to be seen.

[Abstract reproduced by permission of J Am Med Assoc 1965;191:541–546.]

Prevalencia del Ag australiano (HBs Ag) en pacientes con leucemia / Síndrome de Down

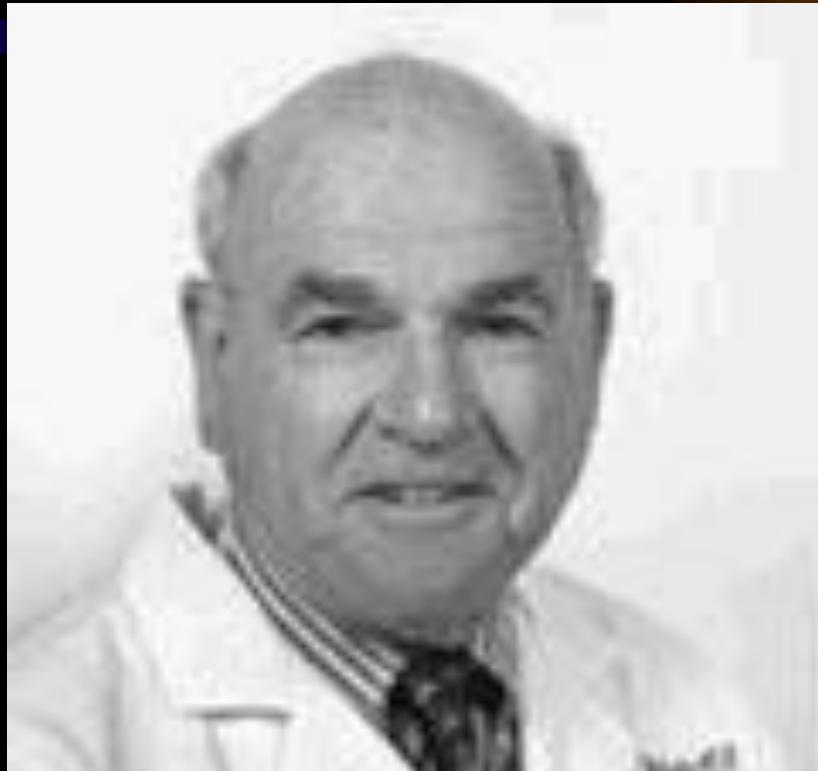


Cada vez más cerca...

- Paciente con síndrome de Down
 $\text{Ag Au } (-) \rightarrow \text{Ag Au } (+)$
con ↑ de transaminasas

- Bárbara Werner
(técnica de Blumberg)
 $\text{Ag Au } (-) \rightarrow \text{Ag Au } (+)$
con ↑ de transaminasas

La historia del HBV comenzaba en los años 60

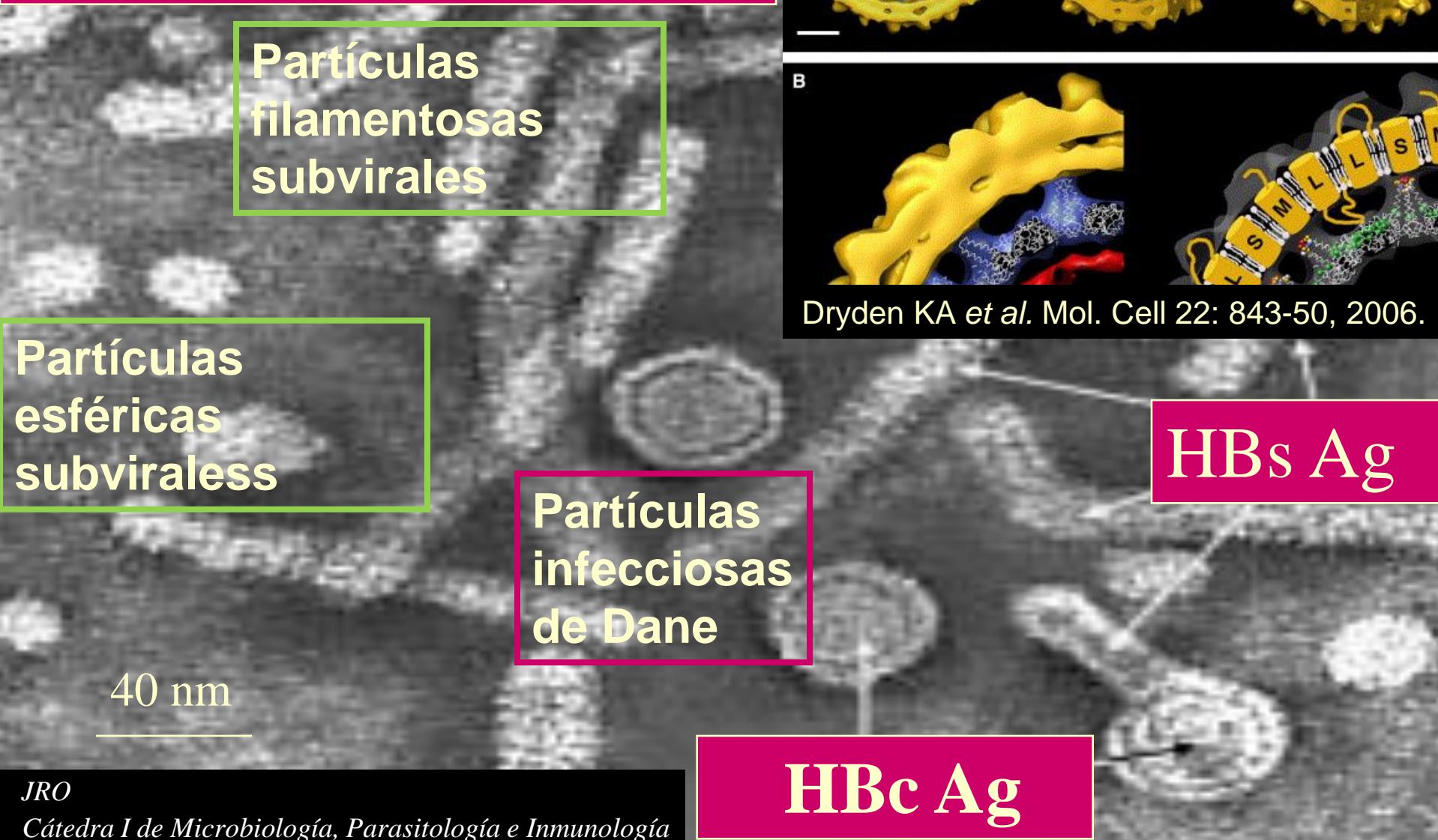


Baruch Blumberg,
Premio Nobel de Medicina o Fisiología en
1976 por sus contribuciones al campo de la
hepatitis B...

Hepatitis B

- ✓ Estructura y función
- ✓ Replicación viral y sus implicancias en la epidemiología molecular, la patogénesis, el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento
- Patogénesis molecular de la hepatitis B y su diagnóstico

Complejidad estructural del HBV



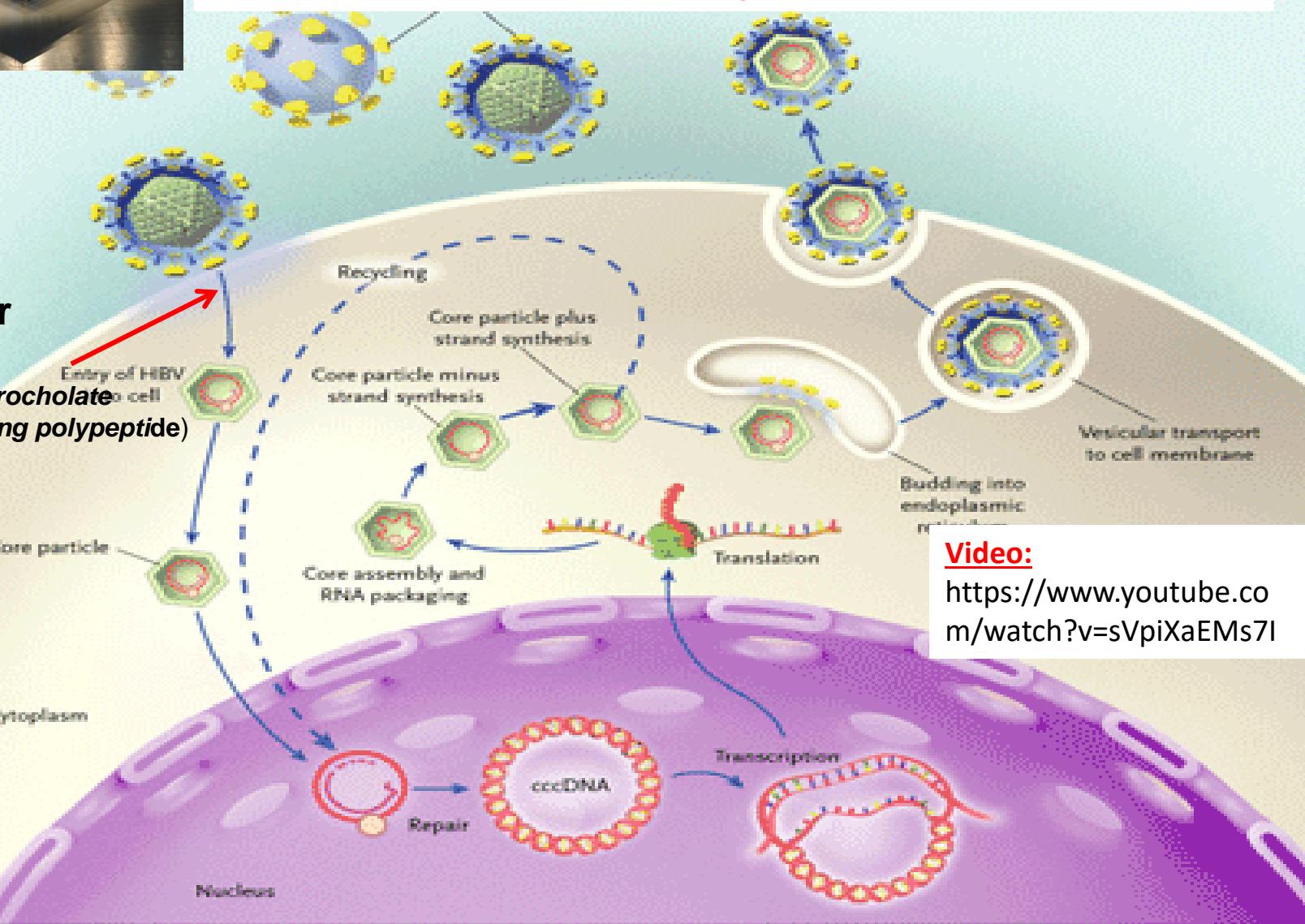
Hepatitis B

- ✓ Estructura y función
- ✓ Replicación viral y sus implicancias en la epidemiología molecular, la patogénesis, el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento
- Patogénesis molecular de la hepatitis B y su diagnóstico

Ciclo replicativo del HBV

La replicación del HBV pasa bastante desapercibida para la célula: no se disparan eficientemente los genes codificantes de IFN

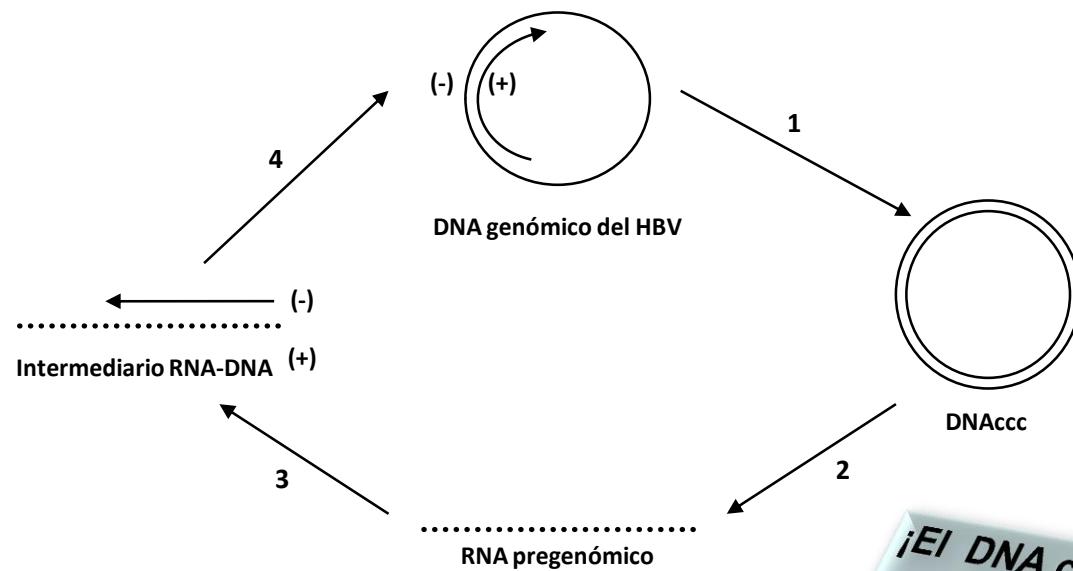
**Receptor
NTCP
(Sodium taurocholate cell
cotransporting polypeptide)**



Video:

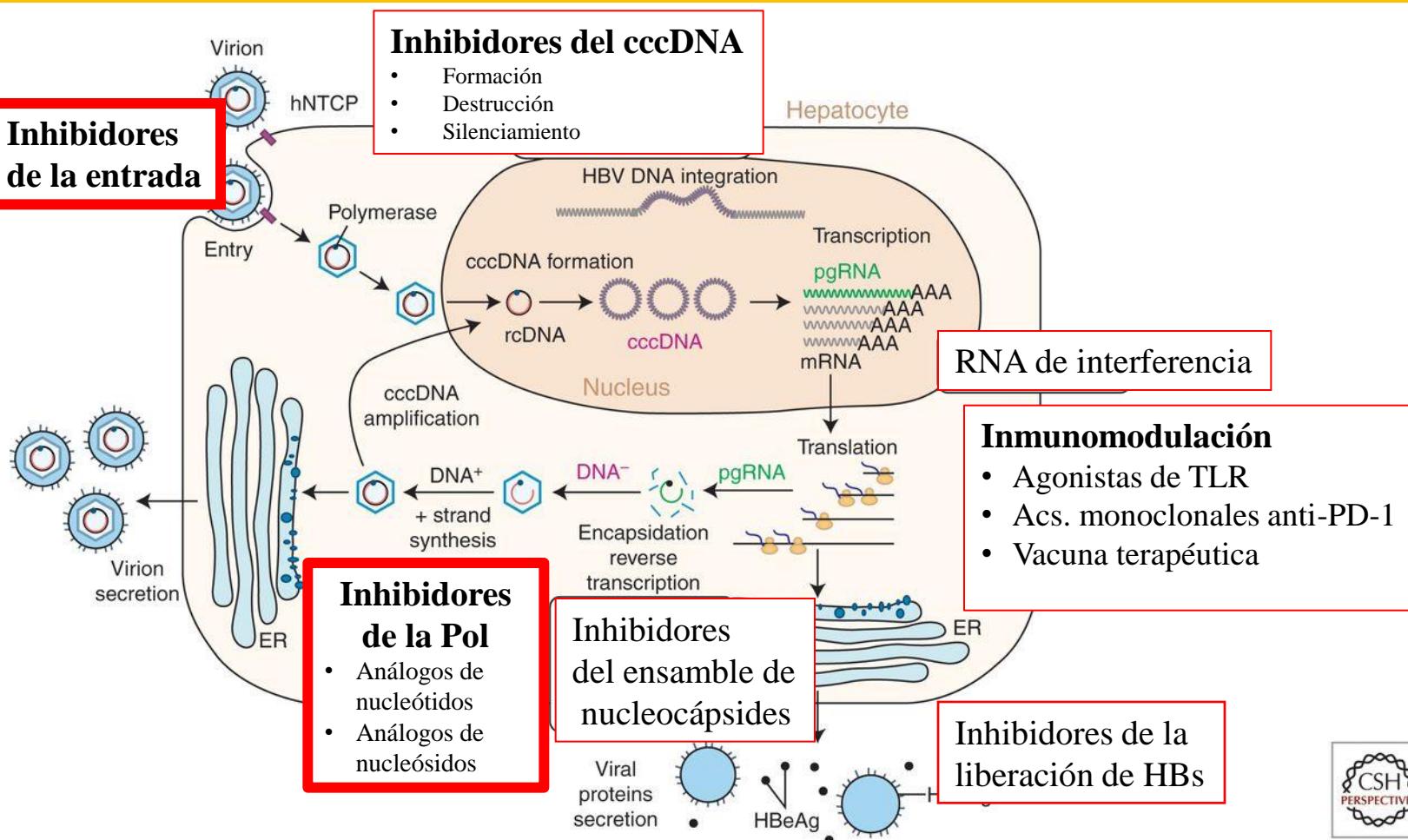
<https://www.youtube.com/watch?v=sVpiXaEMs7I>

Replicación del genoma del HBV



¡El DNA ccc podría ser eliminado mediante activación del receptor de Linfotoxina beta a través de APOBEC 3B! (?)
Lucifora et al, Science, 2014
iii(RESULTADO CONTROVERSIAL!!!)

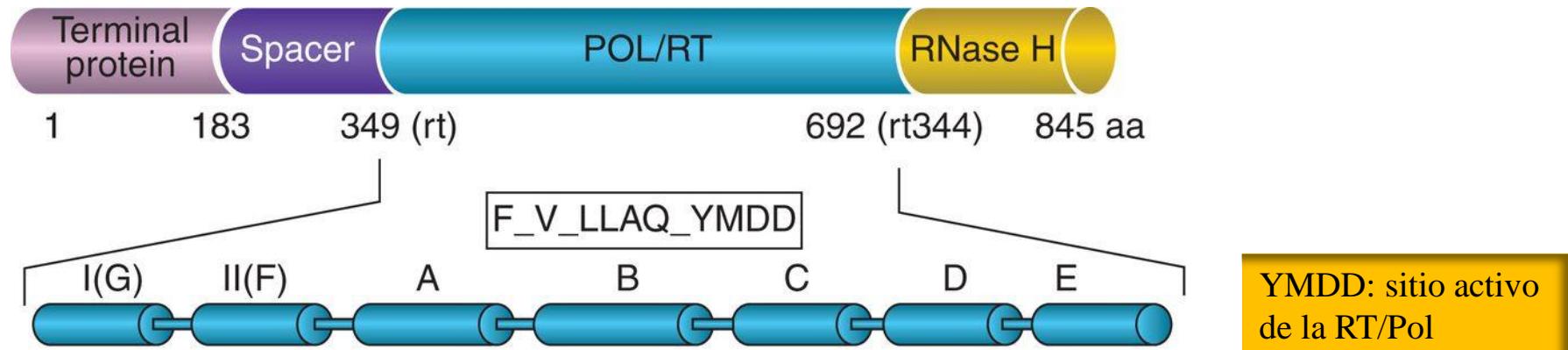
Representación esquemática de las diversas clases de moléculas anti-HBV que actúan sobre la replicación del HBV



De: Zoulim F, Durantel D.
Cold Spring Harb Perspect Med 2015;5:a021501



Mutaciones en la polimerasa viral (Pol /RT) asociadas a la resistencia del HBV al tratamiento con inhibidores de dicha enzima



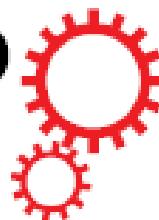
Lamivudina
Telbivudina
Adefovir
Tenofovir
Entecavir

LMV resistance	rtL80I	rtL180M rtA181T/V rtL180M rtA181T/V rtA181T/V	rtM204V/I rtM204I
LdT resistance			
ADV resistance			rtN236T
TFV resistance			
ETV resistance			
	To be determined		
		rtL180M rtT184* rtI169T	rtM204I/V rtS202**
			rtM250I/V
			*S/A/I/L/G/C/M **C/G/I



De: Zoulim F, Durantel D.
Cold Spring Harb Perspect Med 2015;5:a021501

SCIENTIFIC REPORTS



OPEN

CRISPR/Cas9 cleavage of viral DNA efficiently suppresses hepatitis B virus

Received: 23 January 2015

Accepted: 29 April 2015

Published: 02 June 2015

Vyas Ramanan^{1,*}, Amir Shlomai^{2,*,#}, David B.T. Cox^{1,6,9,*}, Robert E. Schwartz^{1,3,4}, Eleftherios Michailidis³, Ankit Bhatta⁴, David A. Scott^{5,11}, Feng Zhang^{1,6,10,11}, Charles M. Rice² & Sangeeta N. Bhatia^{1,3,5,6,7,8}

Chronic hepatitis B virus (HBV) infection is prevalent, deadly, and seldom cured due to the persistence of viral episomal DNA (cccDNA) in infected cells. Newly developed genome engineering tools may offer the ability to directly cleave viral DNA, thereby promoting viral clearance. Here, we show that the CRISPR/Cas9 system can specifically target and cleave conserved regions in the HBV genome, resulting in robust suppression of viral gene expression and replication. Upon sustained expression of Cas9 and appropriately chosen guide RNAs, we demonstrate cleavage of cccDNA by Cas9 and a dramatic reduction in both cccDNA and other parameters of viral gene expression and replication. Thus, we show that directly targeting viral episomal DNA is a novel therapeutic approach to control the virus and possibly cure patients.

Sistema CRISPR /Cas 9: ¡una herramienta muy atractiva!

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat

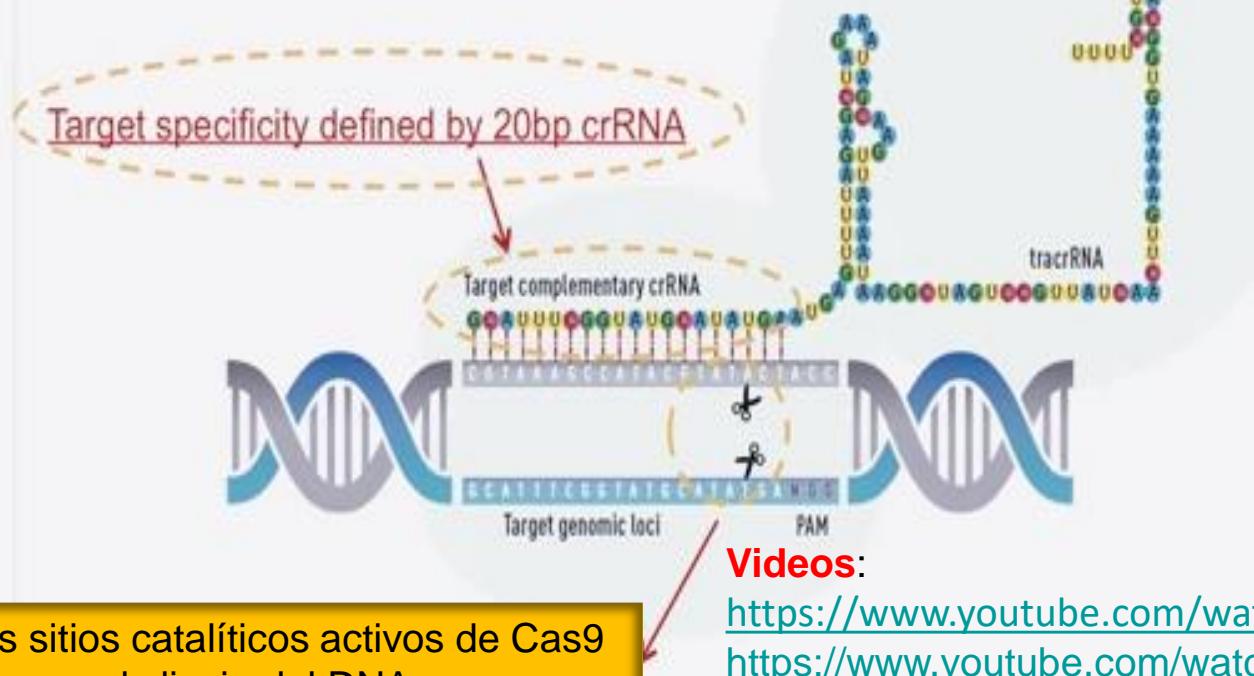
Sistema bacteriano de respuesta inmune desarrollado para editar el genoma

Cas9: Nucleasa para DNA

Guide RNA: Crispr RNA (CrRNA) + tracrRNA



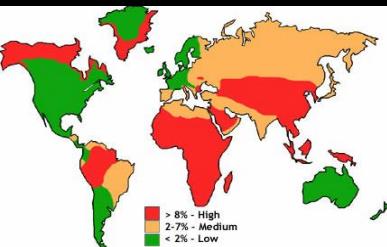
¡Puede ser codificado para modificar funcionalidad!



Dos sitios catalíticos activos de Cas9 inducen el clivaje del DNA

Videos:

<https://www.youtube.com/watch?v=MnYppmstxIs>
<https://www.youtube.com/watch?v=2pp17E4E-O8>
<https://www.youtube.com/watch?v=SuAxDVbt7kQ>



Hepatitis B

240 000 000 (240×10^6)

Crónicamente infectados en el mundo

1 000 000 000 000 (10^{12})

HBV partículas sintetizadas / día

240 000 000 000 000 000 (240×10^{18})

HBV partículas sintetizadas globalmente /
día



HBV

- 1 tipo antigenico (serotipo)
- 10 subtipos antigenicos
- 8 genotipos confirmados (A-H) y 2 propuestos (I y J)
- Multiples subgenotipos (Ej. B1, B2; F1-F4, etc.)
- Innumerables cuasiespecies

JRO

*Cátedra I de Microbiología,
Parasitología e Inmunología*

Variabilidad y diversidad



JRO

Cátedra I de Microbiología, Parasitología e Inmunología

.1/20

de las Hepatitis B llevan a la hospitalización.

.1/100

de las Hepatitis B adquiere carácter **fulminante, frecuentemente fatal.**

.1/10

de las Hepatitis B pasa a la **cronicidad.**

.1/4

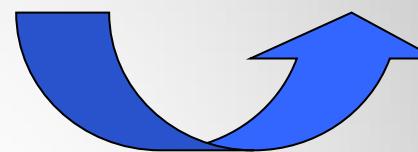
de las Hepatitis B crónicas es una forma activa que lleva a **cirrosis o al hepatoma.**

RESPUESTA IMMUNE ANTI-HBV

DÉBIL
OLIGOCLONAL

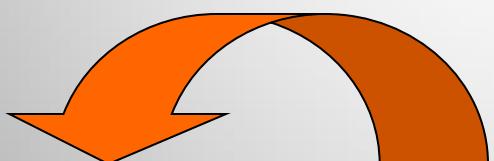
VIGOROSA
POLICLONAL
MULTI-ESPECÍFICA

INFECCIÓN
AGUDA



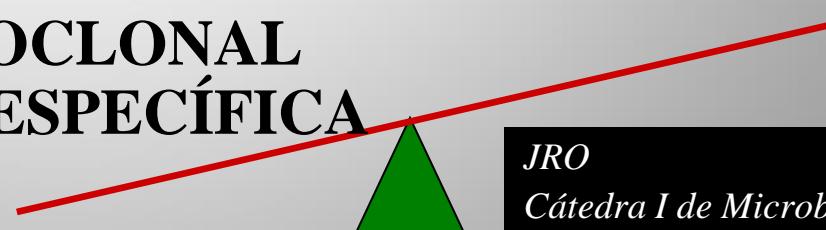
Francis V. Chisari

INFECCIÓN
PERSISTENTE



DÉBIL
OLIGOCLONAL
OLIGO-ESPECÍFICA

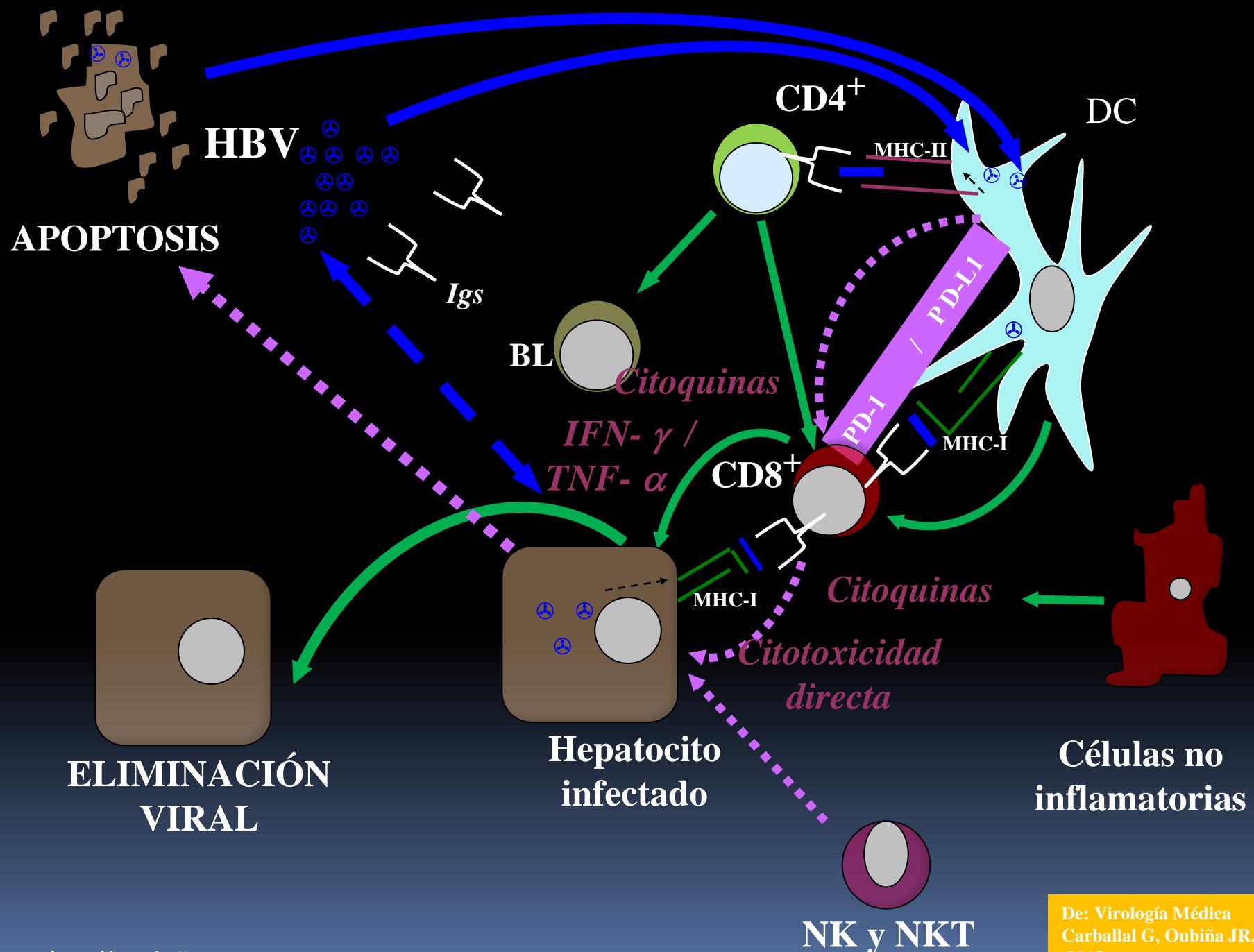
VIGOROSA
POLICLONAL
MULTI-ESPECÍFICA



JRO
Cátedra I de Microbiología,
Parasitología e Inmunología

Hepatitis B

- ✓ Estructura y función
- ✓ Replicación viral y sus implicancias en la epidemiología molecular, la patogénesis, el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento
- ✓ Patogénesis molecular de la hepatitis B y su diagnóstico





Immunosurveillance of the Liver by Intravascular Effector CD8⁺ T Cells

Luca G. Guidotti,^{1,2,9,*} Donato Inverso,^{1,3,9} Laura Sironi,^{1,4} Pietro Di Lucia,¹ Jessica Fioravanti,¹ Lucia Ganzer,^{1,4} Amleto Fiocchi,¹ Maurizio Vacca,¹ Roberto Aiolfi,^{1,3} Stefano Sammicheli,¹ Marta Mainetti,¹ Tiziana Cataudella,¹ Andrea Raimondi,⁵ Gloria Gonzalez-Aseguinolaza,⁶ Ulrike Protzer,⁷ Zaverio M. Ruggeri,⁸ Francis V. Chisari,² Masanori Isogawa,² Giovanni Sitia,¹ and Matteo Iannacone^{1,3,5,*}

¹Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, 20132 Milan, Italy

²Department of Immunology and Microbial Sciences, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA 92037, USA

³Vita-Salute San Raffaele University, 20132 Milan, Italy

⁴Department of Physics, University of Milano Bicocca, 20126 Milan, Italy

⁵Experimental Imaging Center, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, 20132 Milan, Italy

⁶Gene Therapy and Gene Regulation Program, Center for Applied Medical Research, 31008 Pamplona, Spain

⁷Institute of Virology, Technical University of Munich, 81675 Munich, Germany

⁸Department of Molecular and Experimental Medicine, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA 92037, USA

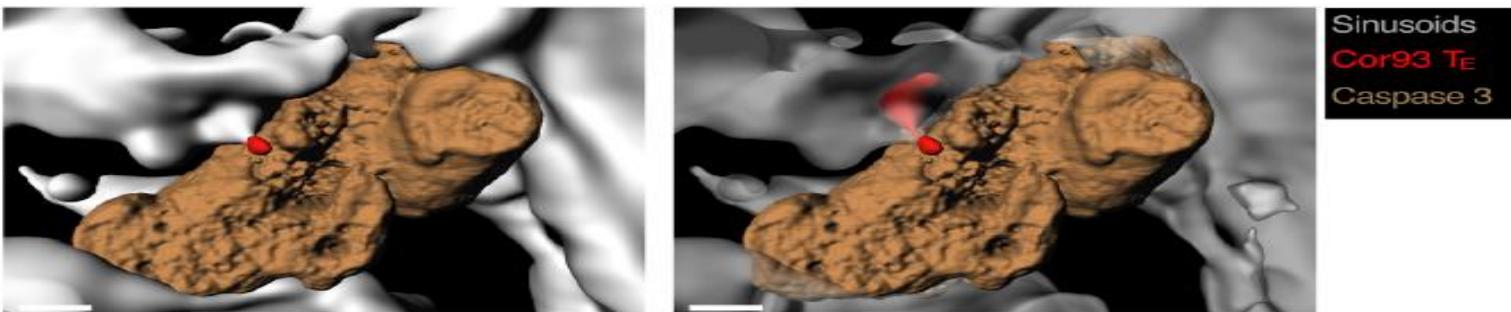
⁹Co-first author

LT CD8⁺ efectores reconocen antígenos expresados en hepatocitos y funcionan por una vía diapédesis-independiente

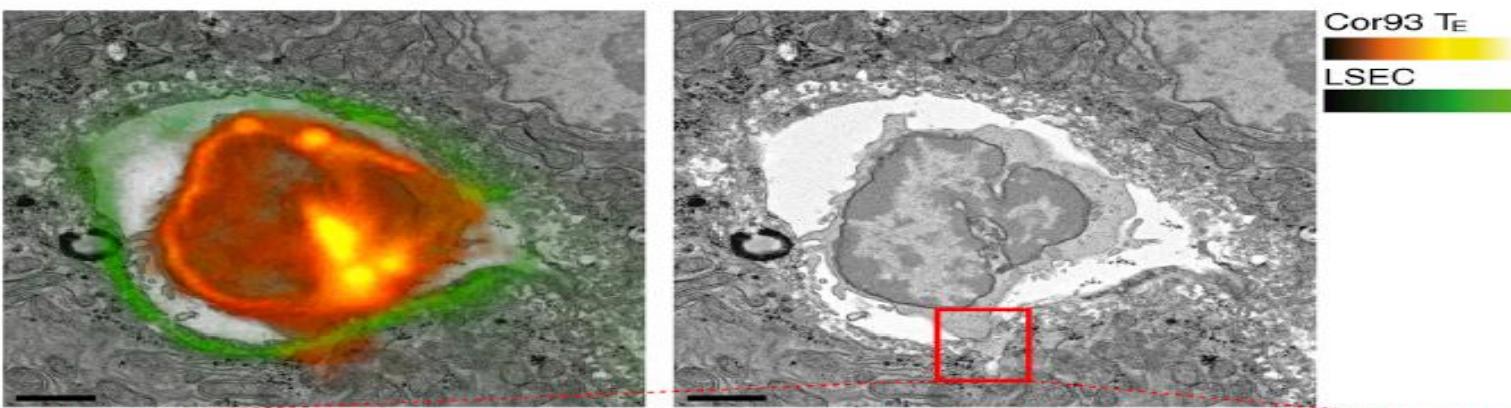
A



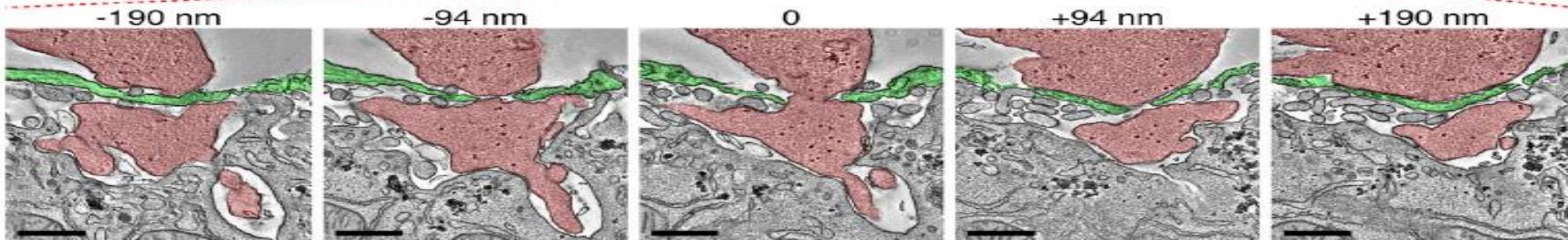
B



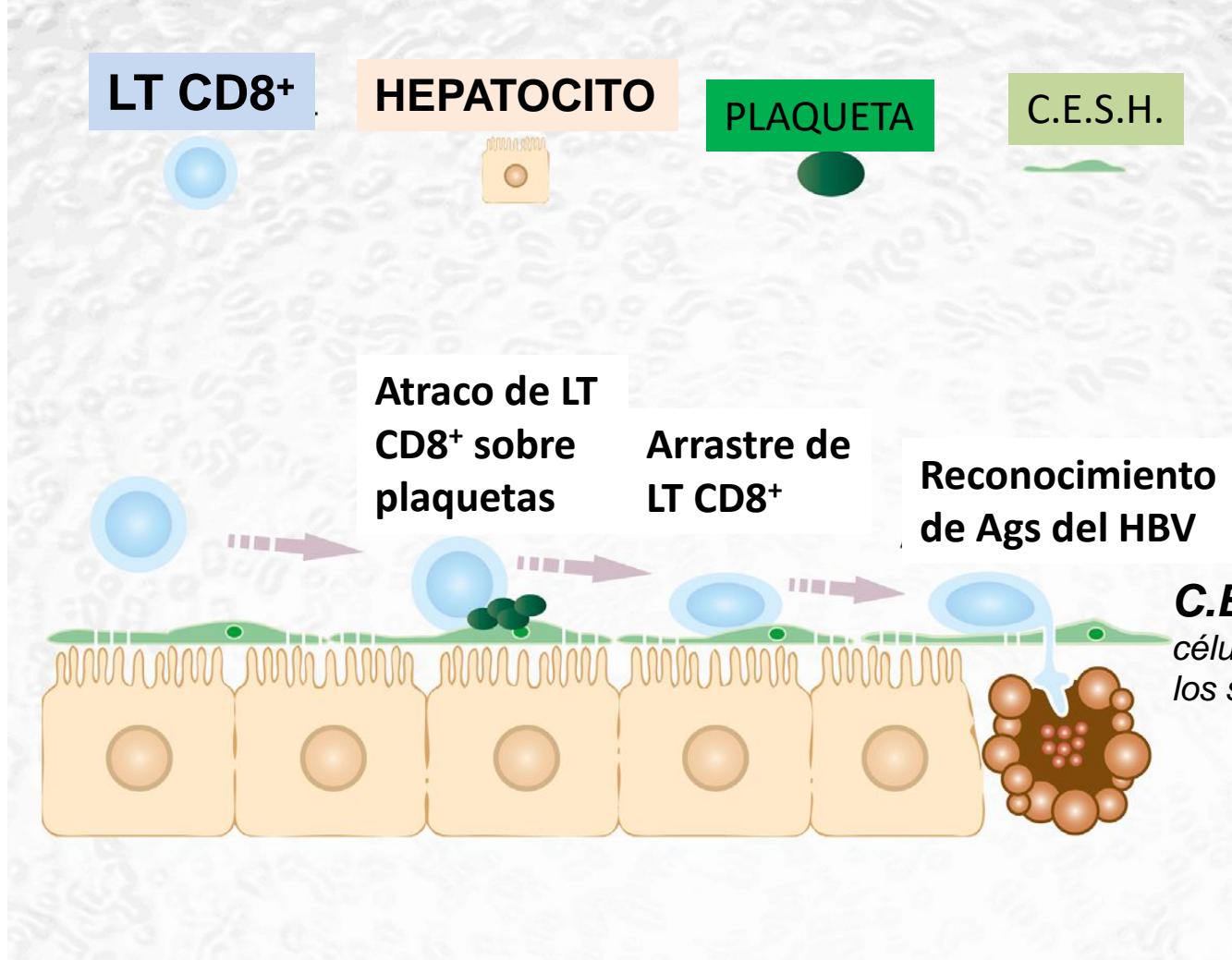
C



D



Resumiendo...



Guidotti G, et al. Cell 2015;161:486-500.

Vídeos: <http://www.cell.com/action/showImagesData?pii=S0092-8674%2815%2900258-5>

Síntesis (I)

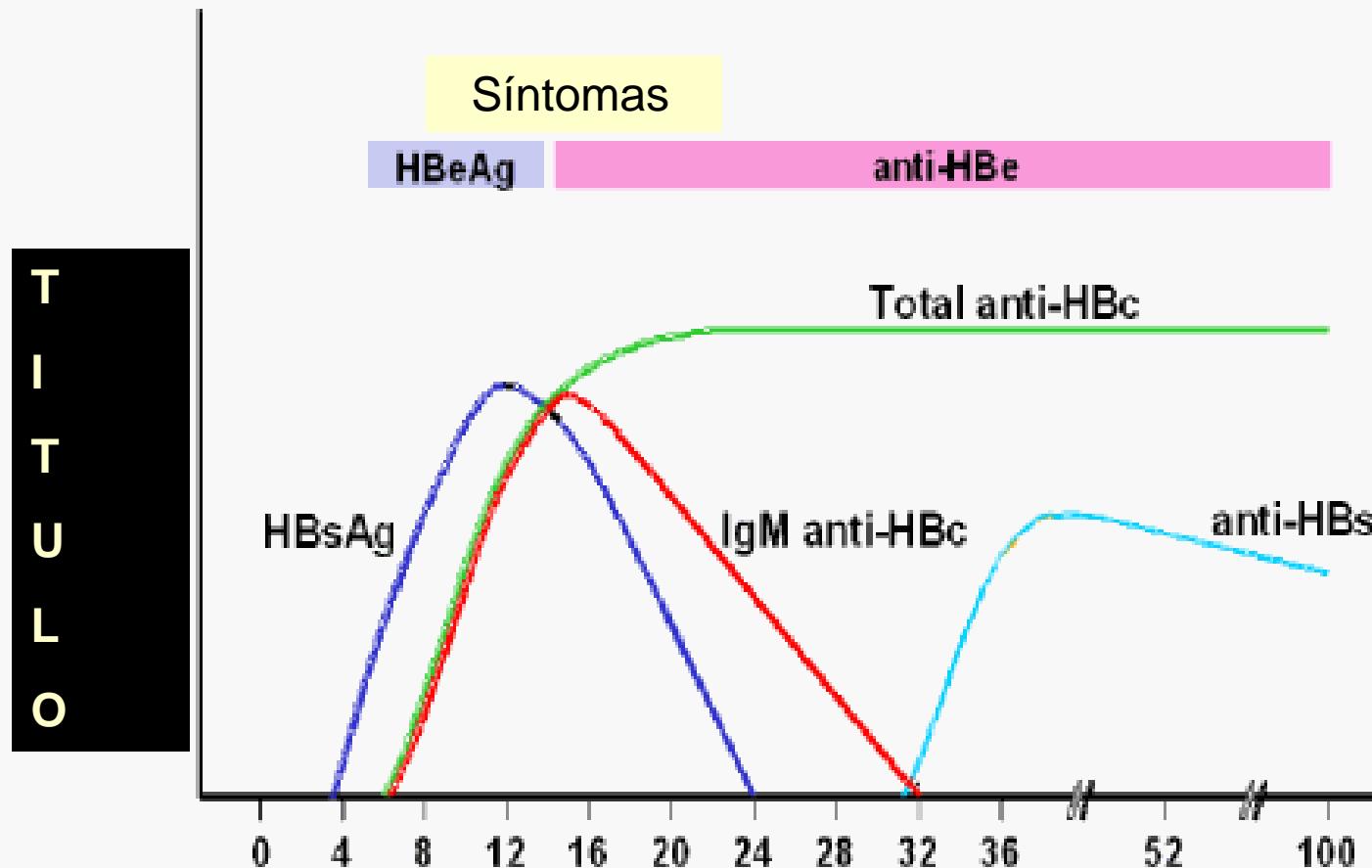
- ✓ La R.I. celular determina el desenlace de la infección por HBV.
- ✓ La edad de la infección influencia tal desenlace.
- ✓ Algunos genotipos parecen tener un diferente comportamiento biológico.
- ✓ Las mutaciones en BCP / *precore* tienen diferente valor intrínseco según el genotipo
- ✓ Algunas cepas salvajes del genotipo E pueden producir infecciones (*breakthrough*) en niños inmunizados
- ✓ Las mutantes de escape del gen S pueden producir hepatitis crónica y cirrosis.
- ✓ Las delecciones del genoma viral pueden favorecer la integración al DNA celular.
- ✓ *Desconocemos el comportamiento biológico de las recombinantes del HBV...*

Síntesis (II)

- Generación de mutantes en el HBs Ag: por dentro y por fuera del determinante “a”: escape a Ac. Nt. y a LT citotóxicos.
- Mutantes de escape al DX, a la RI o a ambos.
- Impacto en y de la profilaxis específica.

Hepatitis B aguda con recuperación

Curso serológico típico



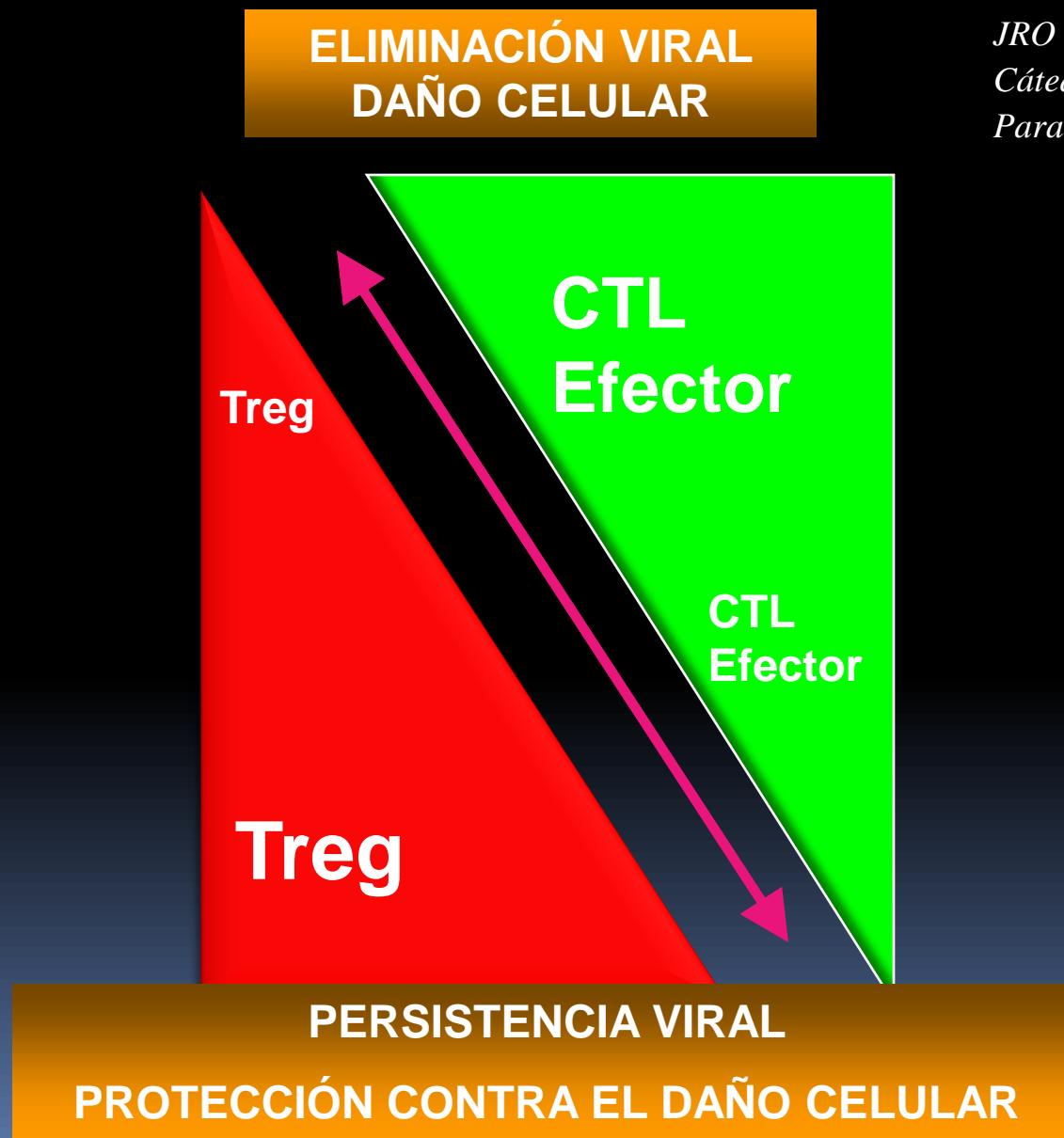
ELISA y CLIA: límite de detección < 0,1 – 0,62 ng/ml de HBsAg
(1 ng/mL = 2 UI/mL)

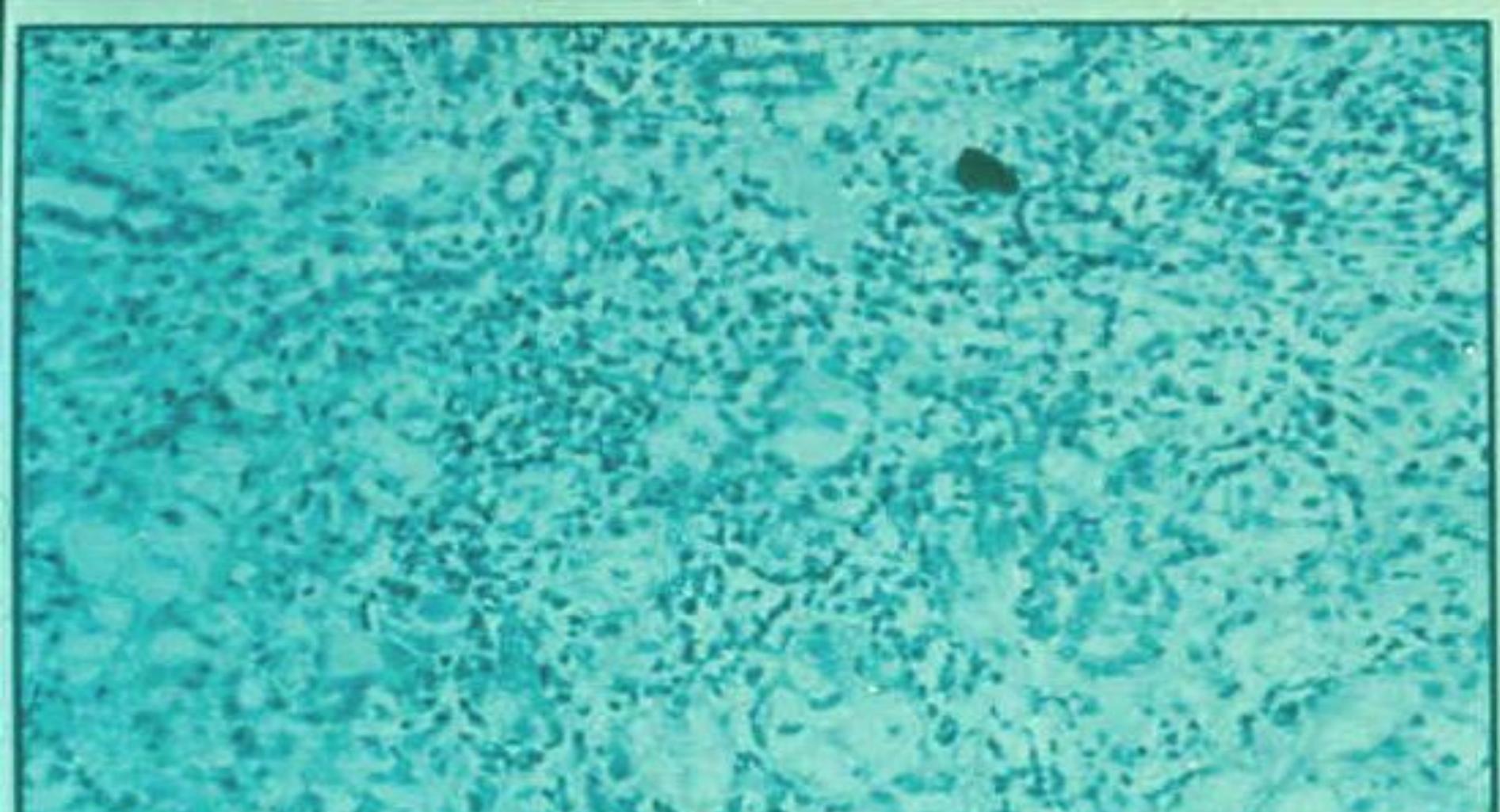
Un balance muy delicado ...



JRO

Cátedra I de Microbiología,
Parasitología e Inmunología



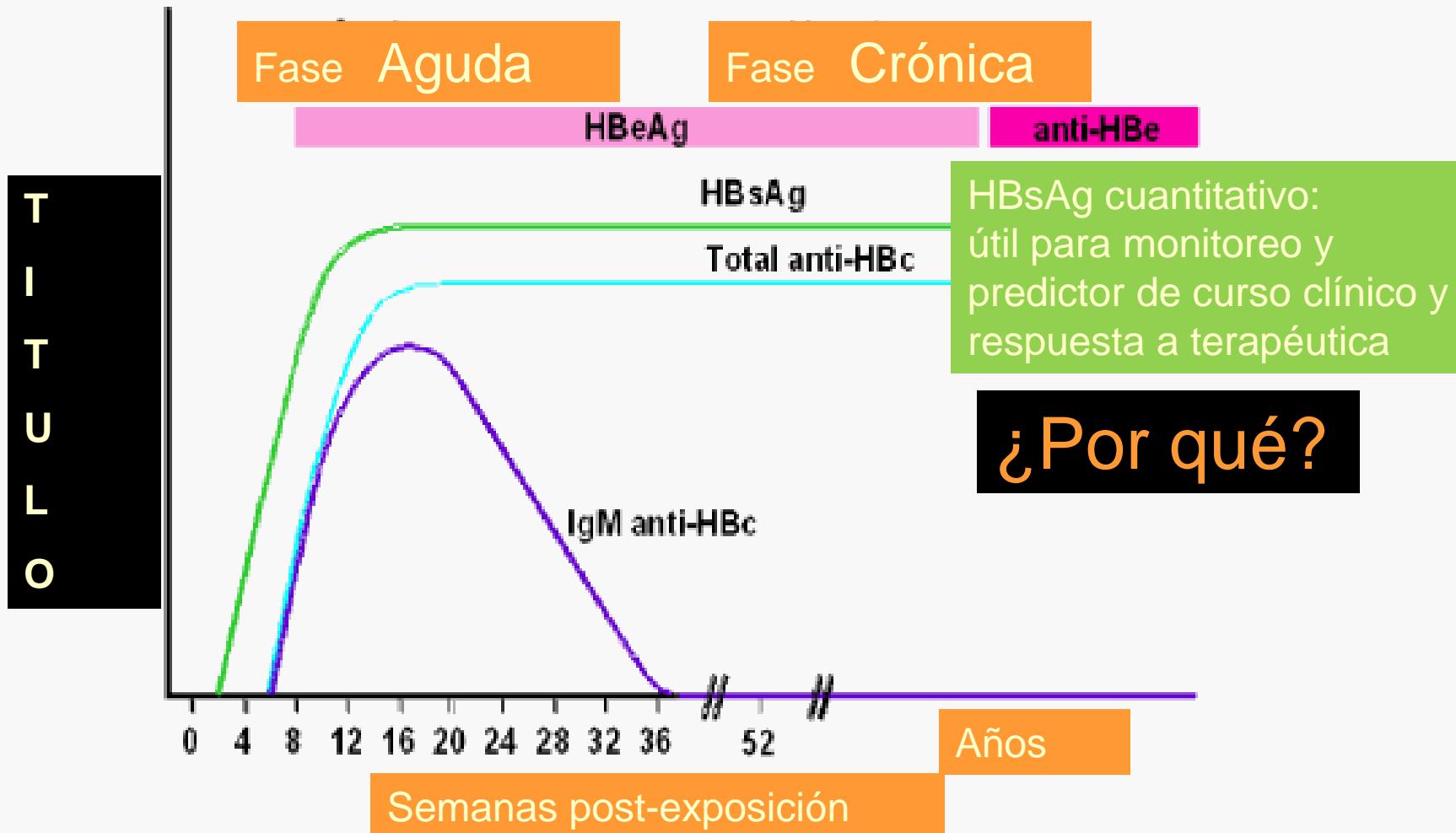


Hepatitis B crónica activa con actividad inflamatoria que se extiende más allá del tracto periportal. No se conserva la estructura. H-E.

(Cortesía del Dr. B. Portmann. King's College Hospital, Londres).

Hepatitis B que evoluciona a la cronicidad

Curso serológico habitual



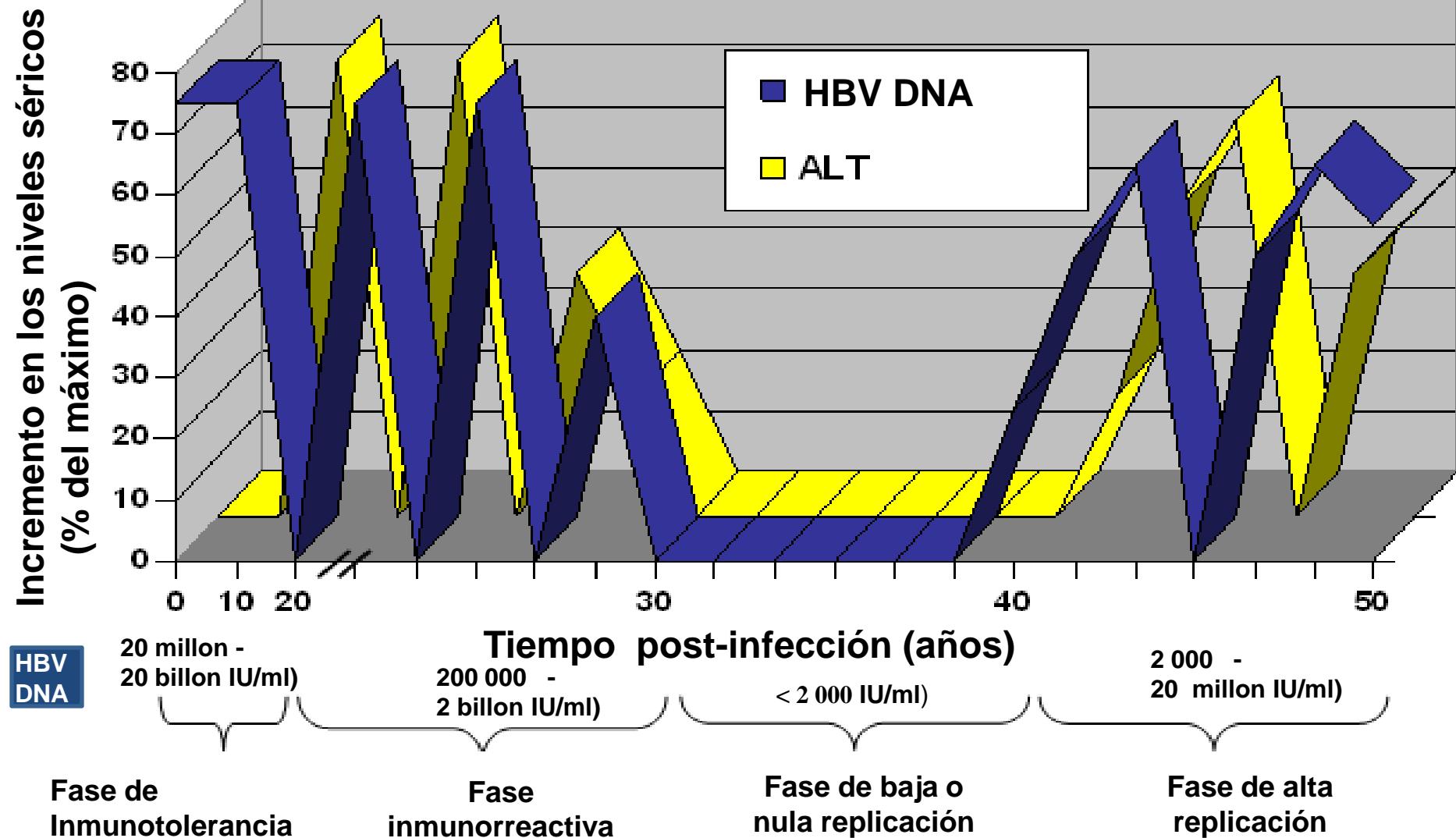
Source: http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/slideset/hep_b/slide_3.htm

anti-HBc

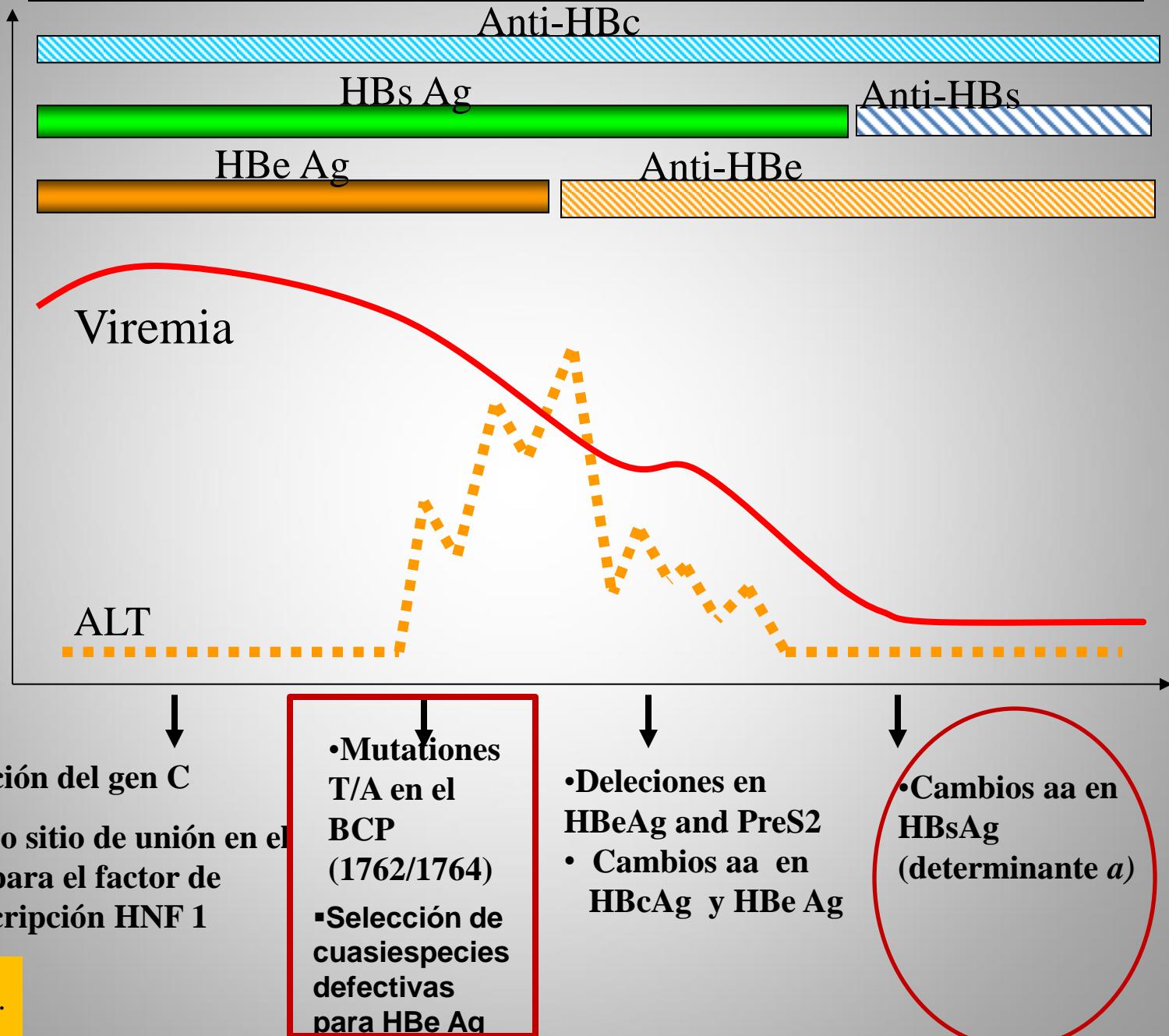
HBe Ag

anti-HBe

HBs Ag



CURSO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR HBV

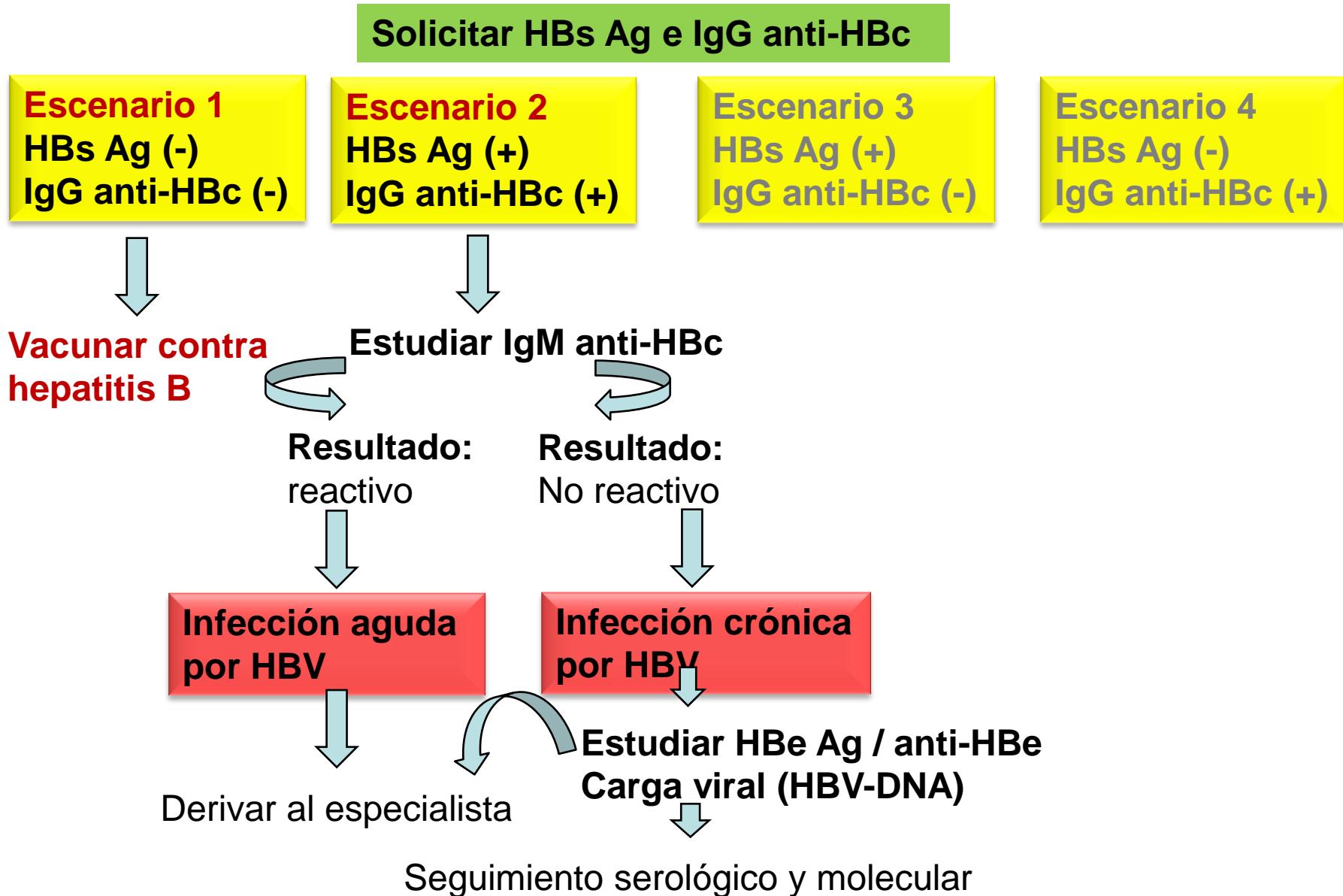


Hepatitis B: marcadores séricos

Estado del paciente	HBs Ag	Anti-HBs	HBe Ag	Anti-HBe	Anti-HBc	DNA de HBV
Infección aguda						
-Temprana	+	-	+	-	IgM	+
-Período de ventana	-	-	-	+/-	IgM	+/-
-Recuperación	-	+	-	+	IgG	+/-
Infección persistente						
-Estado activo	+	-	+	-	IgG, IgM	>10 ⁵ copias/mL
-Estado inactivo	+	-	-	+	IgG	<10 ⁵ copias/mL
-Reactivación	+	-	+/-	-	IgG, IgM	>10 ⁵ copias/mL
-Con variante HBe Ag minus (variantes de <i>pre-core/core</i>)	+	-	-	+	IgG	>10 ⁵ copias/mL
"Oculta"	-	+/-	-	+/-	+/-	+
Vacunado	- ²	+	-	-	-	-
Infección pasada	-	+	-	-	IgG	-

“Presencia de HBV DNA en hígado de individuos con HBsAg (-) en suero utilizando las técnicas actuales de ensayo y con HBV DNA < 200 UI/mL de suero. European Association for the Study of the Liver (EASL)[20], The Taormina Consensus Conference , 2008.

Algoritmo de diagnóstico de hepatitis B (I)



Algoritmo de diagnóstico de hepatitis B (II)

Solicitar HBs Ag e IgG anti-HBc

Escenario 1

HBs Ag (-)

IgG anti-HBc (-)

Escenario 2

HBs Ag (+)

IgG anti-HBc (+)

Escenario 3

HBs Ag (+)

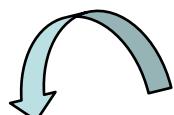
IgG anti-HBc (-)

Escenario 4

HBs Ag (-)

IgG anti-HBc (+)

Repetir en nueva muestra a los 30 días
HBs Ag e IgG anti-HBc



Resultado:

HBs Ag: reactivo

IgG anti-HBc: reactivo



Caso confirmado
de infección por HBV
Pasar a escenario 2

Resultado:

HBs Ag: reactivo

IgG anti-HBc: no reactivo



Caso probable
de infección por HBV

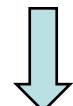
Estudiar HBe Ag / anti-HBe

Carga viral (HBV-DNA)

Seguimiento serológico y molecular

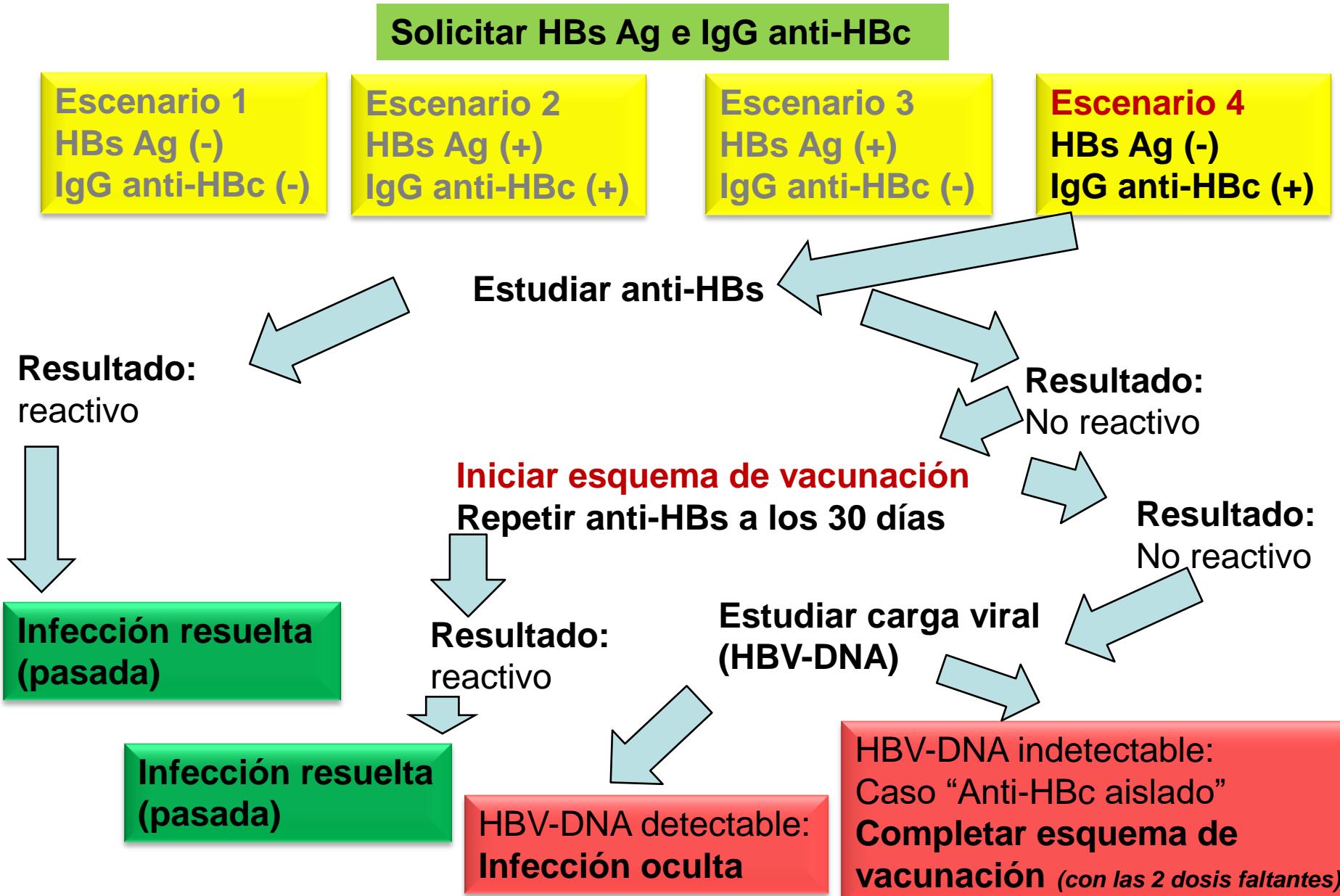
Resultado:

No reactivo para
ambos marcadores



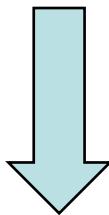
Vacunar contra
hepatitis B

Algoritmo de diagnóstico de hepatitis B (III)

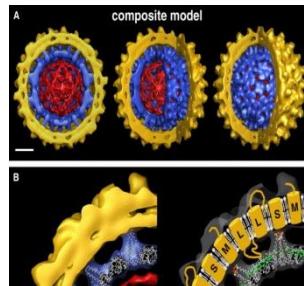


Significado de la cuantificación sérica de DNA HBV vs HBsAg

DNA HBV



Viriones

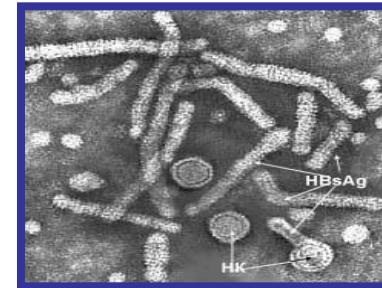


Dryden KA et
al. Mol. Cell
22: 843-50,
2006.

↓ HBV DNA
implica:

↓ de la replicación

HBs Ag

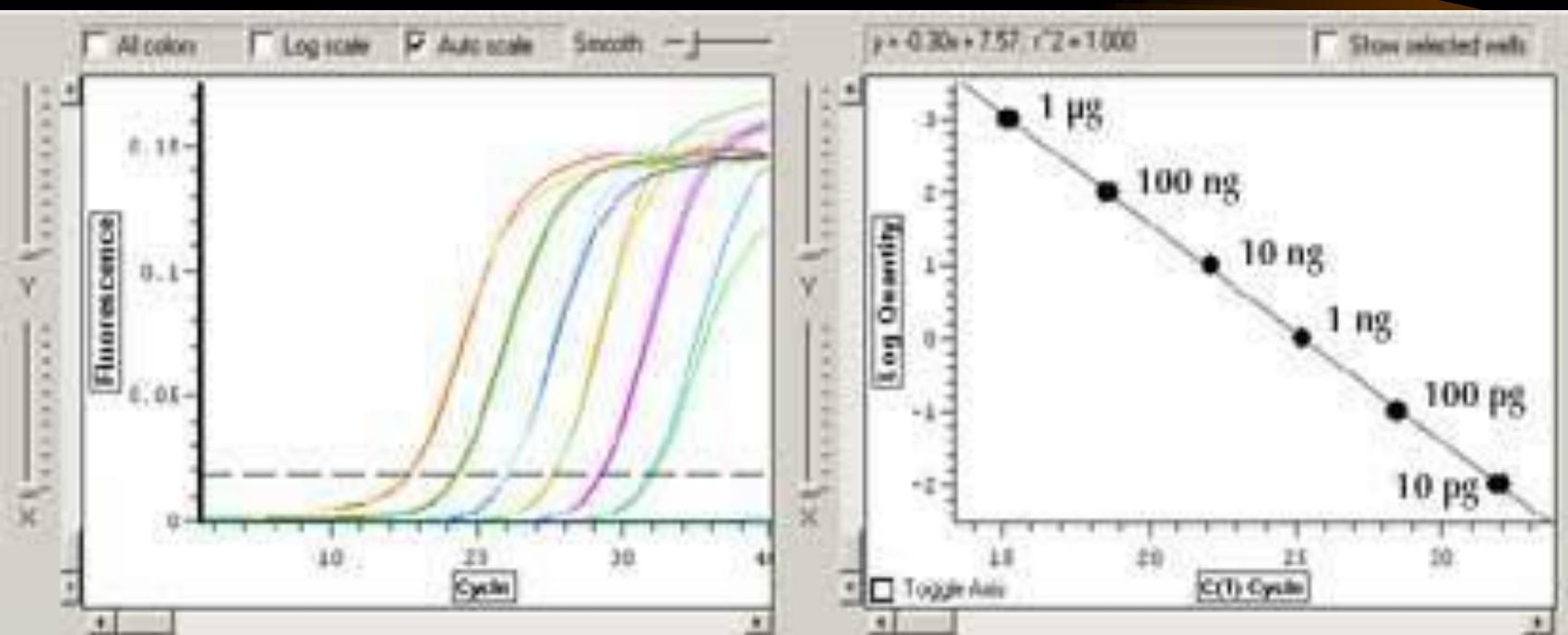


Viriones + partículas subvirales
(1 / 100 – 100.000)

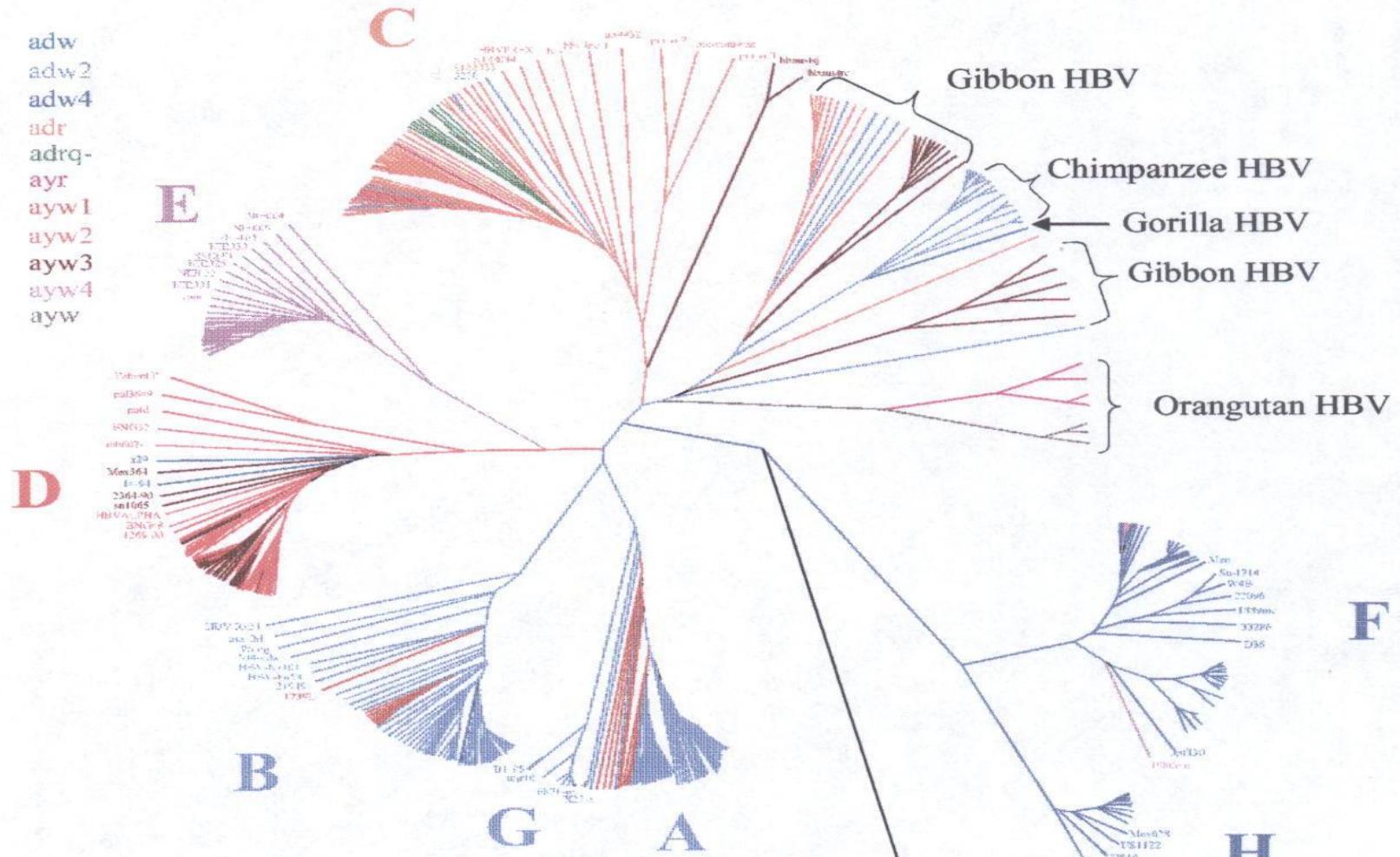
↓ HBs Ag
implica:

↓ de la
transcripción del cccDNA /
traducción de RNAm

PCR en tiempo real



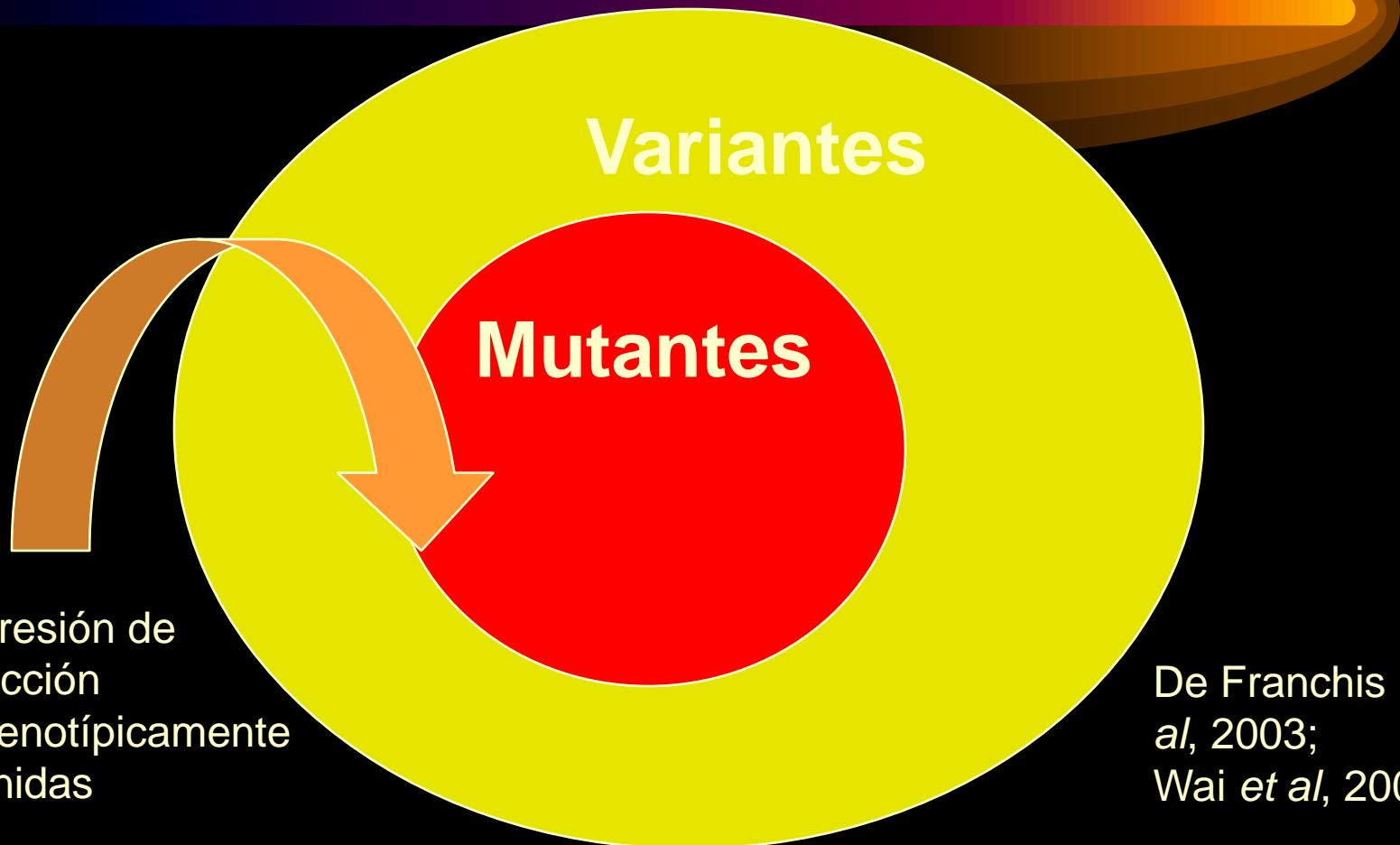
adw
adw2
adw4
adr
adrq-
ayr
ayw1
ayw2
ayw3
ayw4
ayw



Dendrograma obtenido mediante UPGMA: relación entre genotipos de HBV.

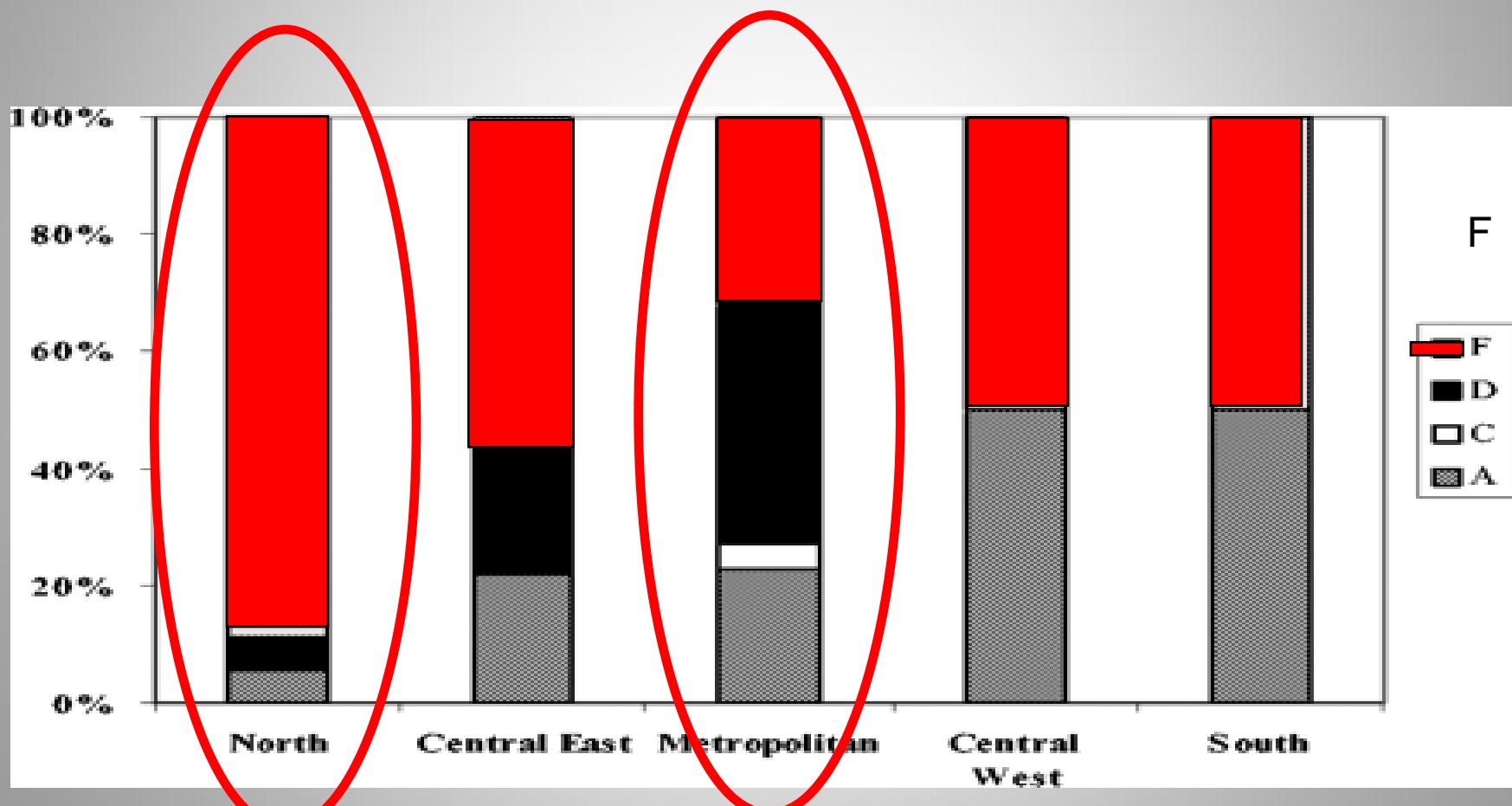
Se acaba de descubrir el genotipo “J” en Japón (el “I” es controversial...)

Variantes y mutantes del HBV

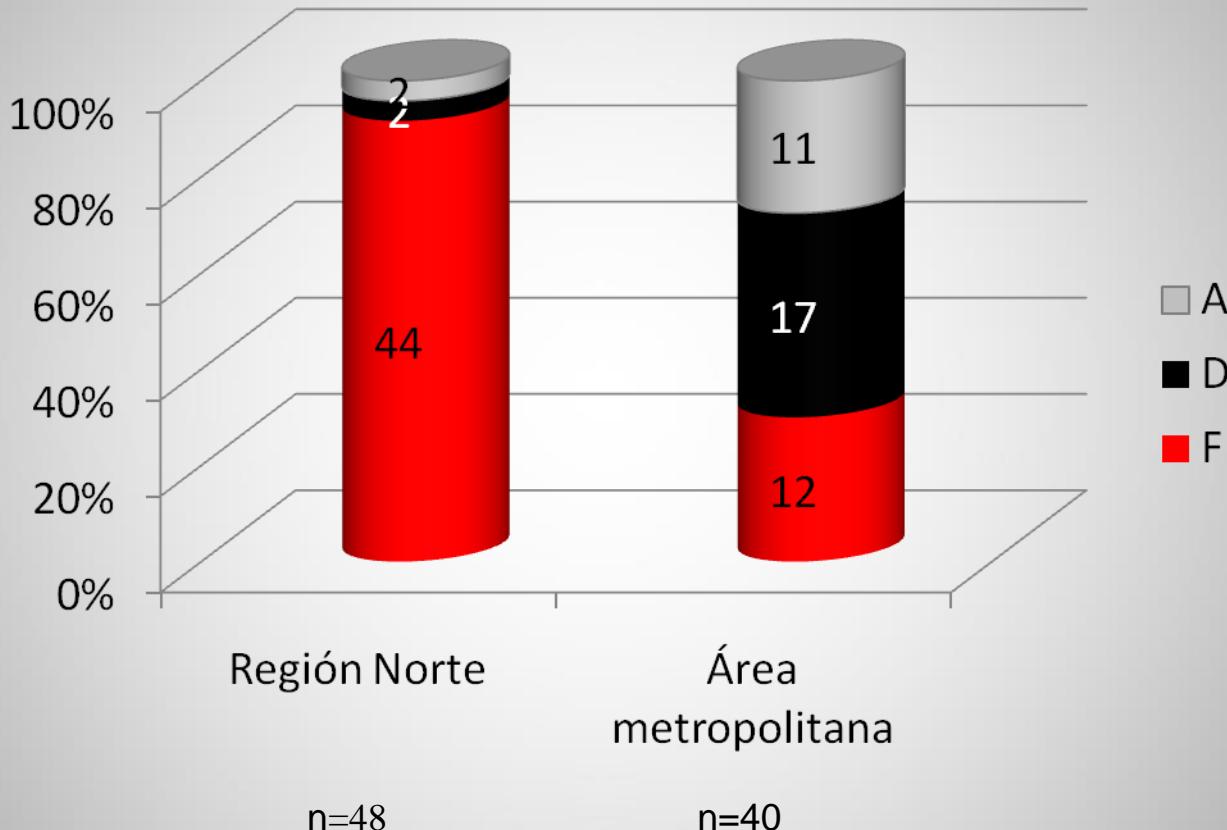


Genotipo	Algunas características importantes de importancia médica
A	Más frecuentemente asociado con cronicidad (que el D y el F), pero con mejor pronóstico, debido a una remisión bioquímica sostenida. <i>Edad de la seroconversión HBe Ag-/anti-HBe es intermedia.</i>
B	Remisión bioquímica sostenida más probable después de la seroconversión HBe Ag –anti-Hbe que el genotipo C. <i>Edad de seroconversión HBe Ag / anti-HBe es muy tardía.</i>
C	Curso más agresivo; alta tasa de CHC y cirrosis; <i>Seroconversión HBeAg –anti-HBe (a muy tardía edad) es predictiva de reactivación .</i>
D	Frecuentemente asociada con mutante en PreCore (Codón 1896-1898: STOP) . <i>Edad de la seroconversión HBeAg/anti-HBe es intermedia.</i>
E	Niños inmunizados desarrollan infecciones con cepas mutantes y <u>salvajes</u> : Gambia (1999, 2008) y Argentina (2007; primer caso en el continente americano).. <i>Edad de la seroconversión HBeAg/anti-HBe es muy temprana.</i>
F	La mediana de la edad al Diagnóstico de CHC fue menor que la de pacientes infectados con otros genotipos (A-D) (22.5 vs. 60 años, respectivamente; P=.002) en nativos de Alaska sin asociación con mutaciones en el BCP.
G	Incapaz de sintetizar HBe Ag
H	?

Genotipos de HBV en hemodonantes de Argentina



Genotipos del HBV en individuos crónicamente infectados de Argentina

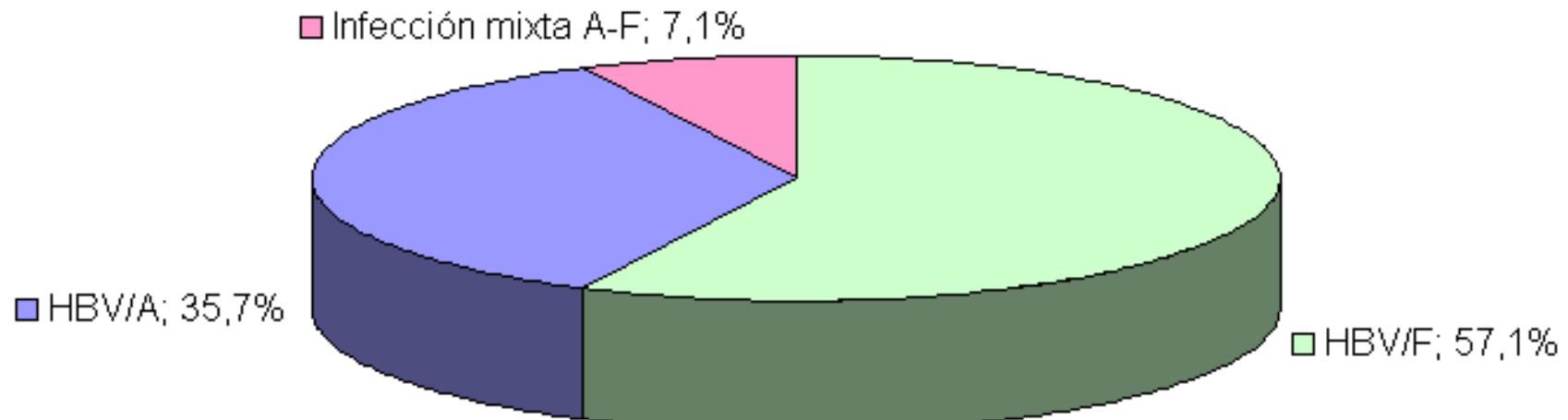


Piñeiro y Leone y cols.
J Clin Virol, 2008.

HBV en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) de Bs As.

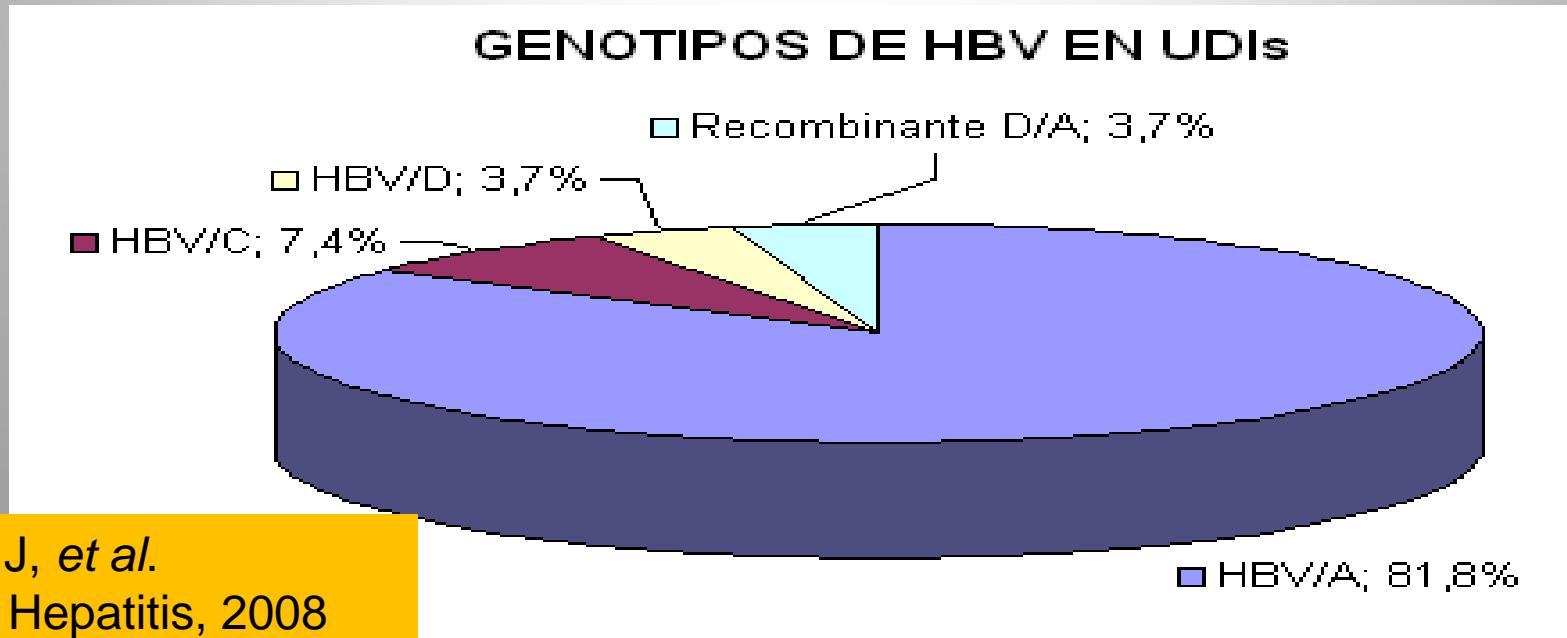
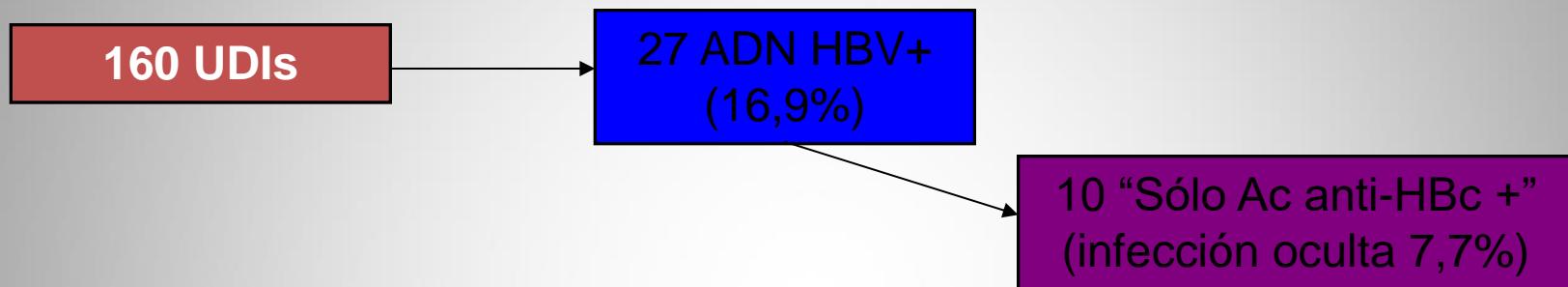


GENOTIPOS DE HBV EN HSH



Trinks J, et al.
J Viral Hepatitis, 2008

HBV en UDIIs de Buenos Aires



Clasificación de las mutantes de escape del HBs Ag



Un mutante...

- Mutantes de escape al diagnóstico.
- Mutantes de escape a la Rta. Inmune humoral / celular.
- Mutantes de escape dobles.

JRO

Cátedra I de Microbiología, Parasitología e Inmunología

Profilaxis

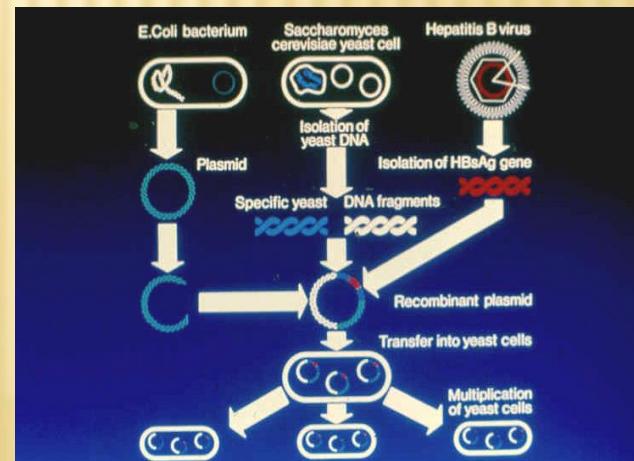
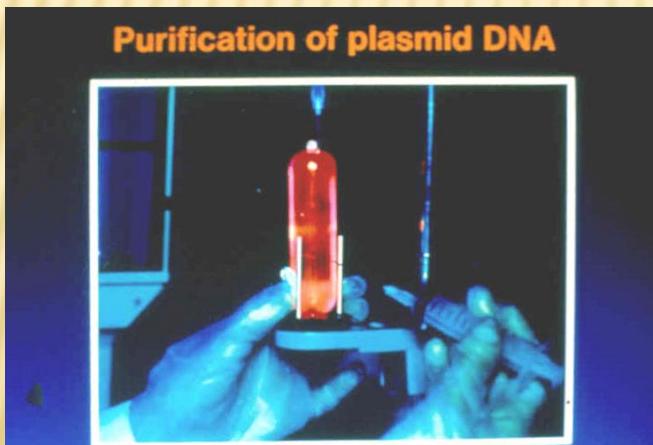
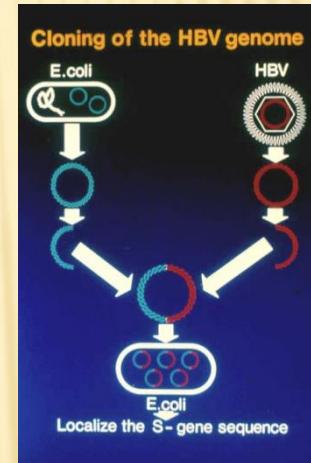
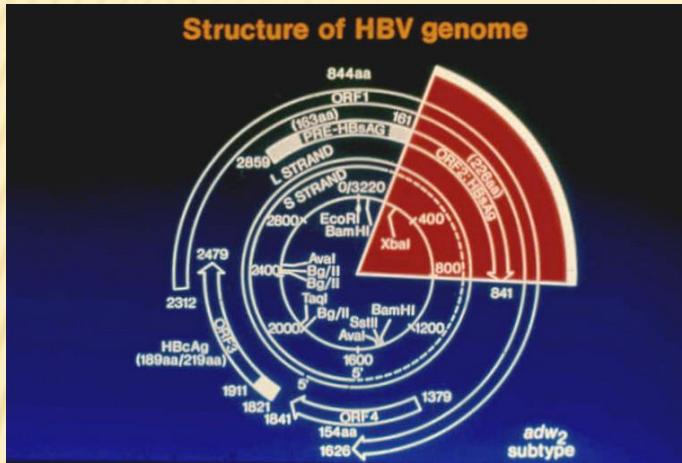
Activa:

- Vacuna de 1ra.
generación (HBs Ag)
- Vacuna de 2da.
Generación (HBs Ag)
- Vacuna de 3ra.
Generación (HBs Ag
+ PreS 2 Ag)

Pasiva:

- Gammaglobulina
hiperinmune

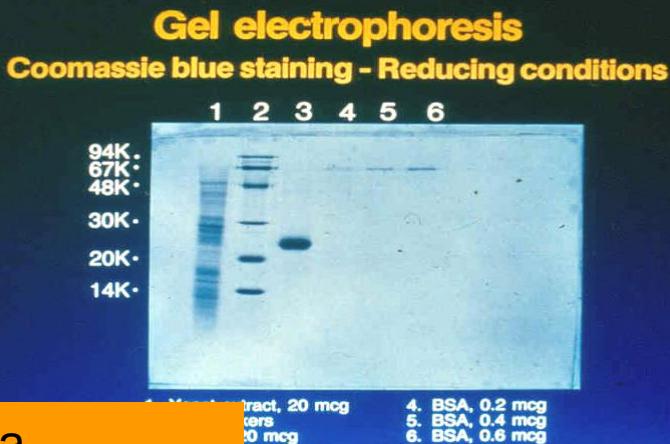
CONSTRUCCIÓN DE LA VACUNA ANTI-HEPATITIS B DE SEGUNDA GENERACIÓN



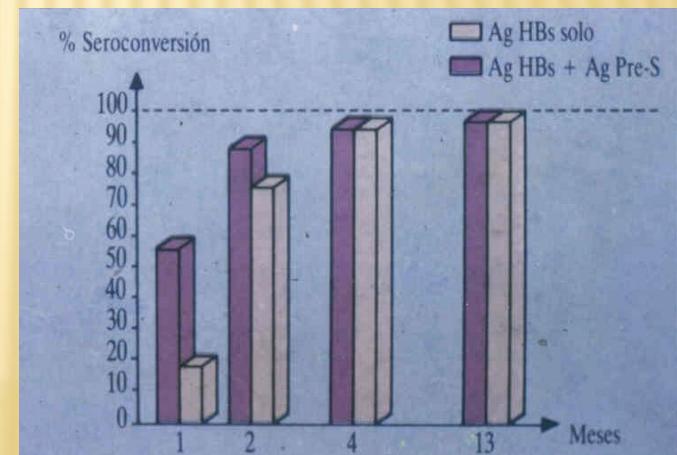
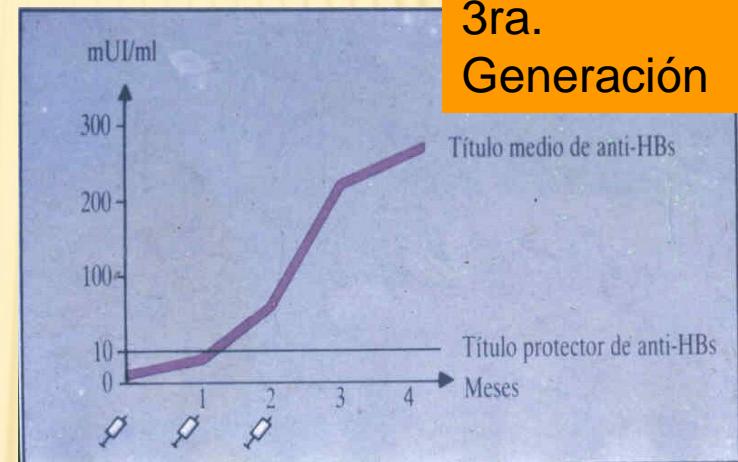
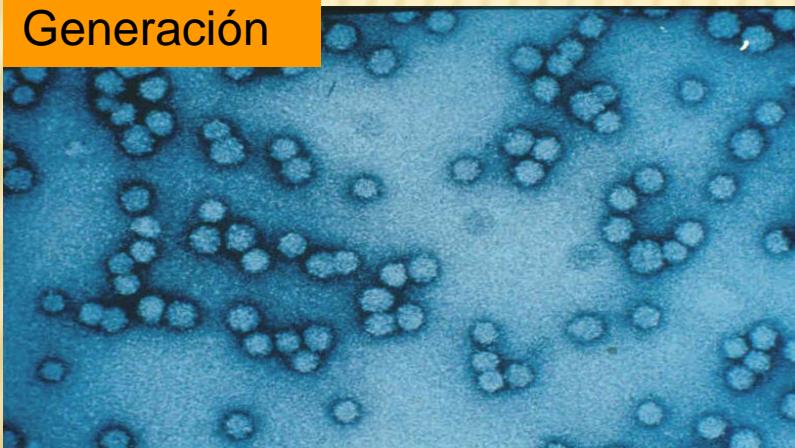
JRO

Cátedra I de Microbiología, Parasitología e Inmunología

INMUNOGENCIDAD DE VACUNAS DE 2DA. Y 3RA. GENERACIÓN ANTI-HBV

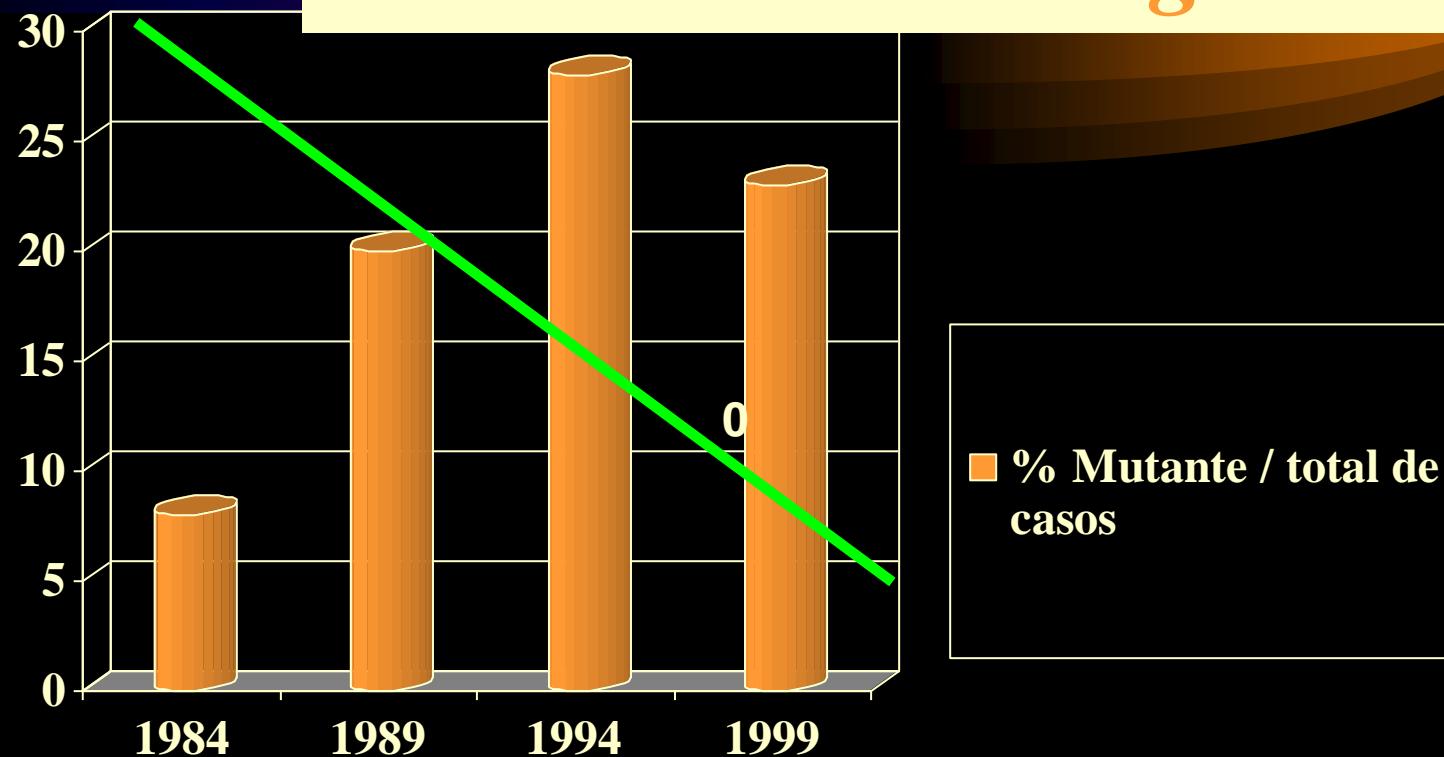


2da.
Generación



2da. y 3ra.
Generación

Prevalencia de mutantes del HBs Ag en Taiwan

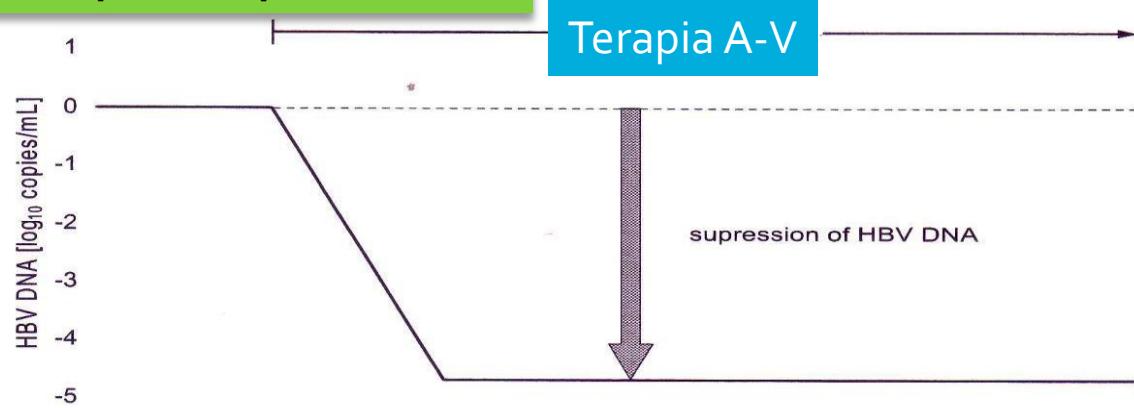


Tratamiento

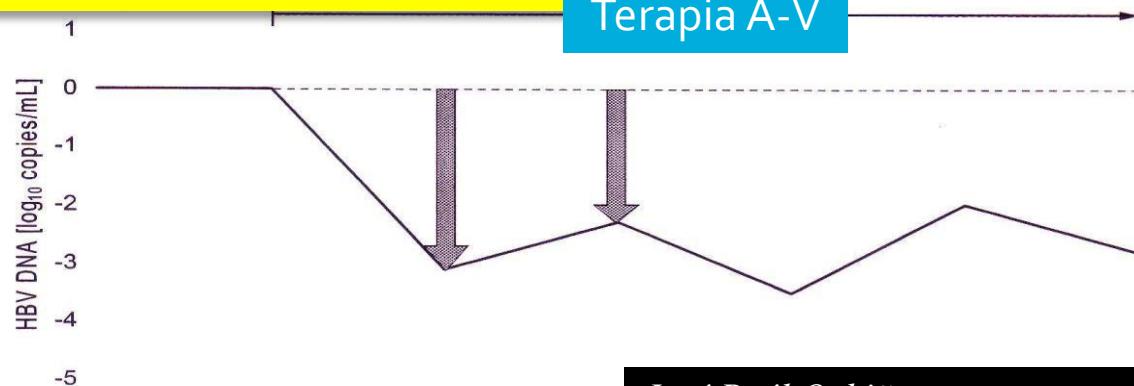
- Interferón PEG / Lamivudina (3TC).
- Otros: Adefovir, Entecavir, entre otros.

Carga viral de HBV y resistencia a antivirales

a) Completa supresión viral

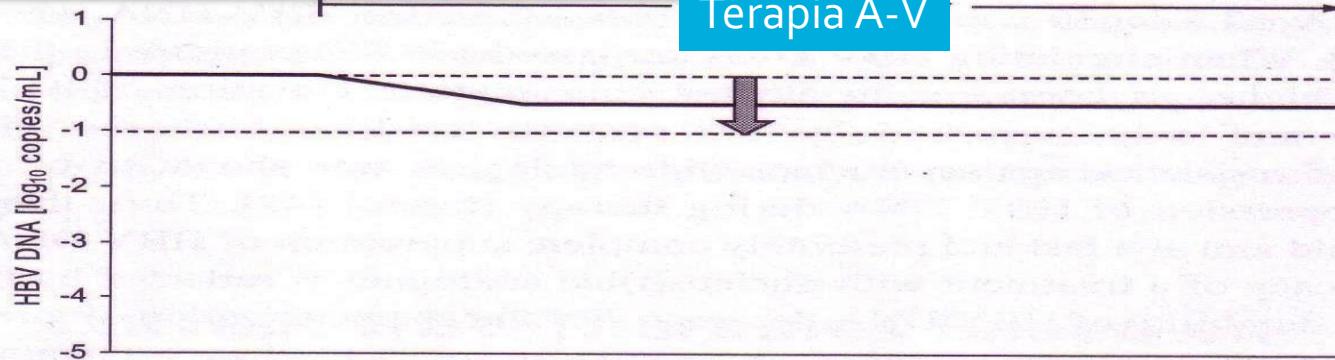


b) Incompleta supresión viral

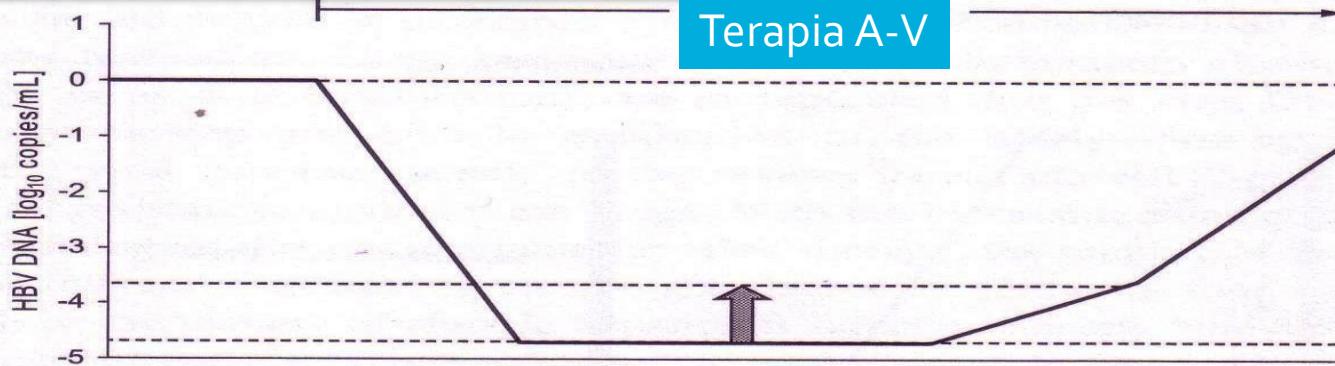


CARGA VIRAL DE HBV Y RESISTENCIA A ANTIVIRALES

c). Fallo primario al tratamiento A-V



d). Fallo secundario al tratamiento A-V





“Barry” Blumberg.

Falleció el 5 de abril de 2011, a los 85 años.

Metas a alcanzar...

- Vacunas terapéuticas para los 240 millones de individuos crónicamente infectados:
¿Pre S /S Ag más HBc Ag más ...
- Terapéutica que erradique el DNAccc



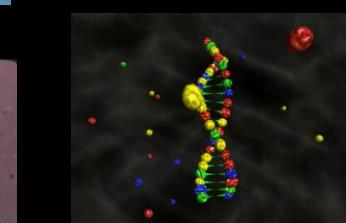
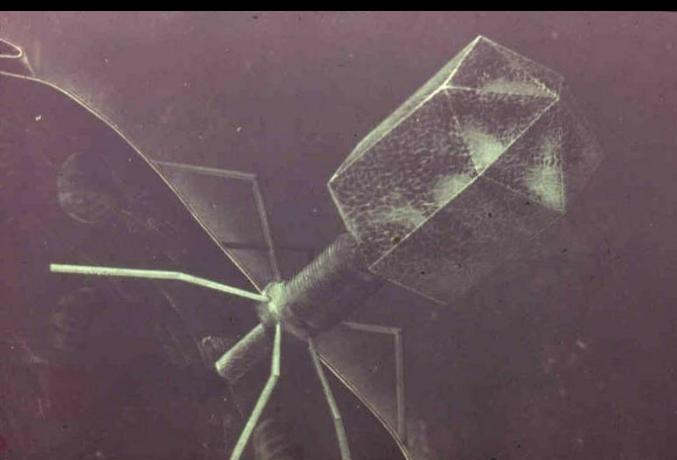
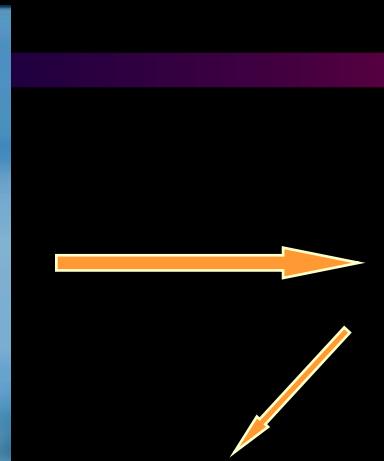
Contenidos (II): Hepatitis C

- ✓ ¿Cómo se descubrió el HCV?
- ✓ ¿Qué relación existe entre estructura y función de los genes y proteínas del HCV?
- ✓ ¿Por qué algunas infecciones por HCV son agudas y otras persistentes?
- ✓ ¿Qué implicancias médicas tienen las mutantes en las glicoproteínas de envoltura?
- ✓ ¿Cómo se diagnostica una hepatitis C aguda o crónica?
- ✓ ¿Cómo responde el HCV a los antivirales?
- ✓ ¿Hay perspectivas de elaborar una futura vacuna ?

HEPATITIS C: SOY CLONADO, LUEGO EXISTO

Por medio de la biología molecular se pudo detectar la existencia de este virus, que ya había sido muy bien identificado por la investigación clínica.

¿Cómo se descubrió el HCV?



Clonado en vector λ gt11

850.000 clones analizados con... Acs de un paciente con Hepatitis NoA NoB



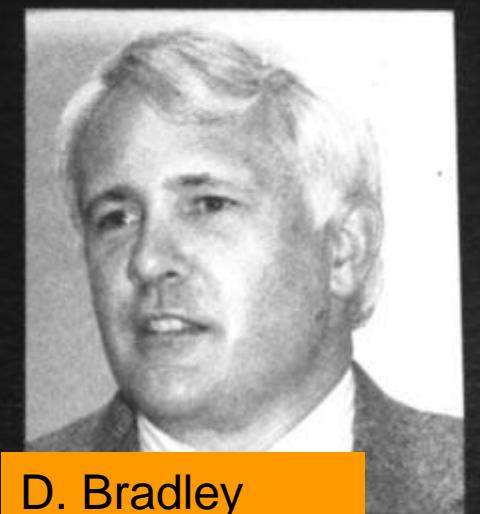
M. Houghton



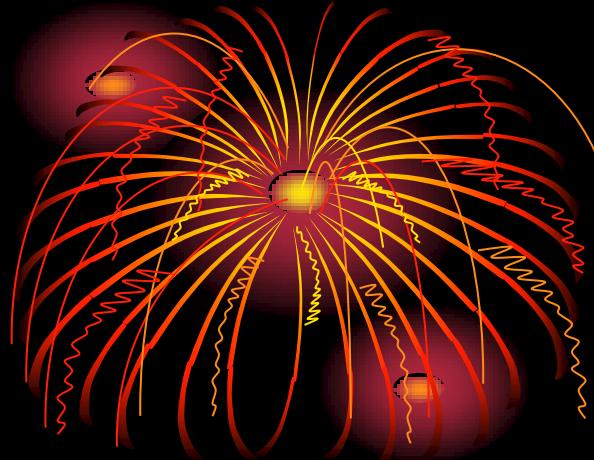
Q-L Choo



G. Kuo



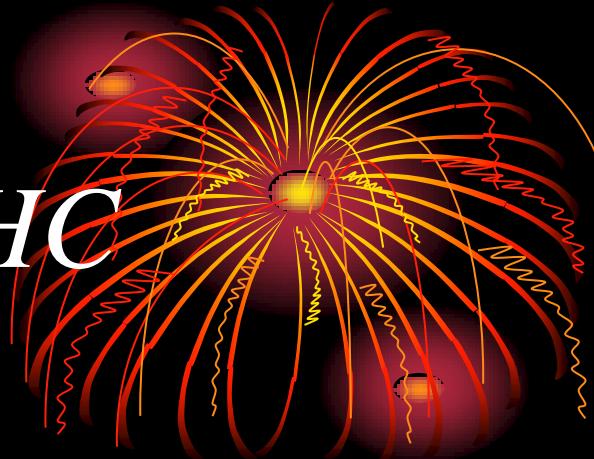
D. Bradley



¡Por primera vez en la historia se descubre un virus al margen de su morfología y constitución antigénica!

**¡Es el virus
de la Hepatitis C!**

Morfología del VHC



*Partícula de 55 –
65 nm con finas
proyecciones
espiculadas.*

*Kaito M. y col.. J Gen
Virol 75: 1755- 1760,
1994.*

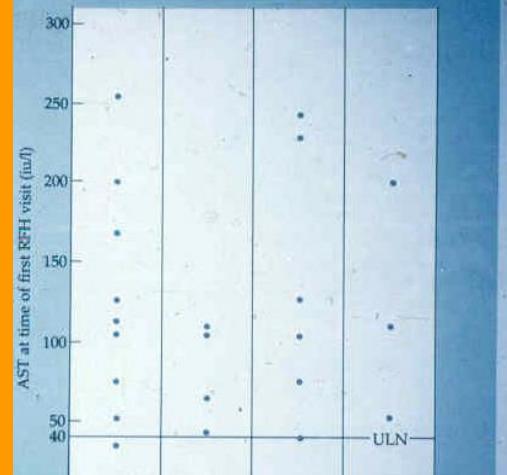


50 nm

ABBOTT HCV EIA 2ND GENERATION ANTIGEN COMPOSITION PUTATIVE HCV GENOME



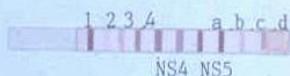
Relación del HCV con hepatitis G leves (HL), crónicas activas (CA), CA con cirrosis (CAC) y cirrosis inactivas (CI)



HL CA CAC CI

LIA PARA HEPATITIS C

Control Positivo



Bandas	Corresponde a:
a-d	core
e	NS5 Epítopes específicos del HCV
f	NS4
1	Ig G humana nivel III (positiva intensa)
2	Ig G humana nivel Ia (bajo corte)
3	Ig G humana nivel Ib (alto corte)
4	Ig G humana nivel II (positiva moderada)

Paciente T.M.



Nota: Un ensayo se considera reactivo para anti-HCV, cuando se cumple una de las siguientes condiciones:

*Por lo menos una banda perteneciente a antígenos del HCV muestra una intensidad = o > a 2 +

*Por lo menos dos bandas pertenecientes a antígenos del HCV muestran una intensidad = o > a 1 +

RIBA PARA HEPATITIS C

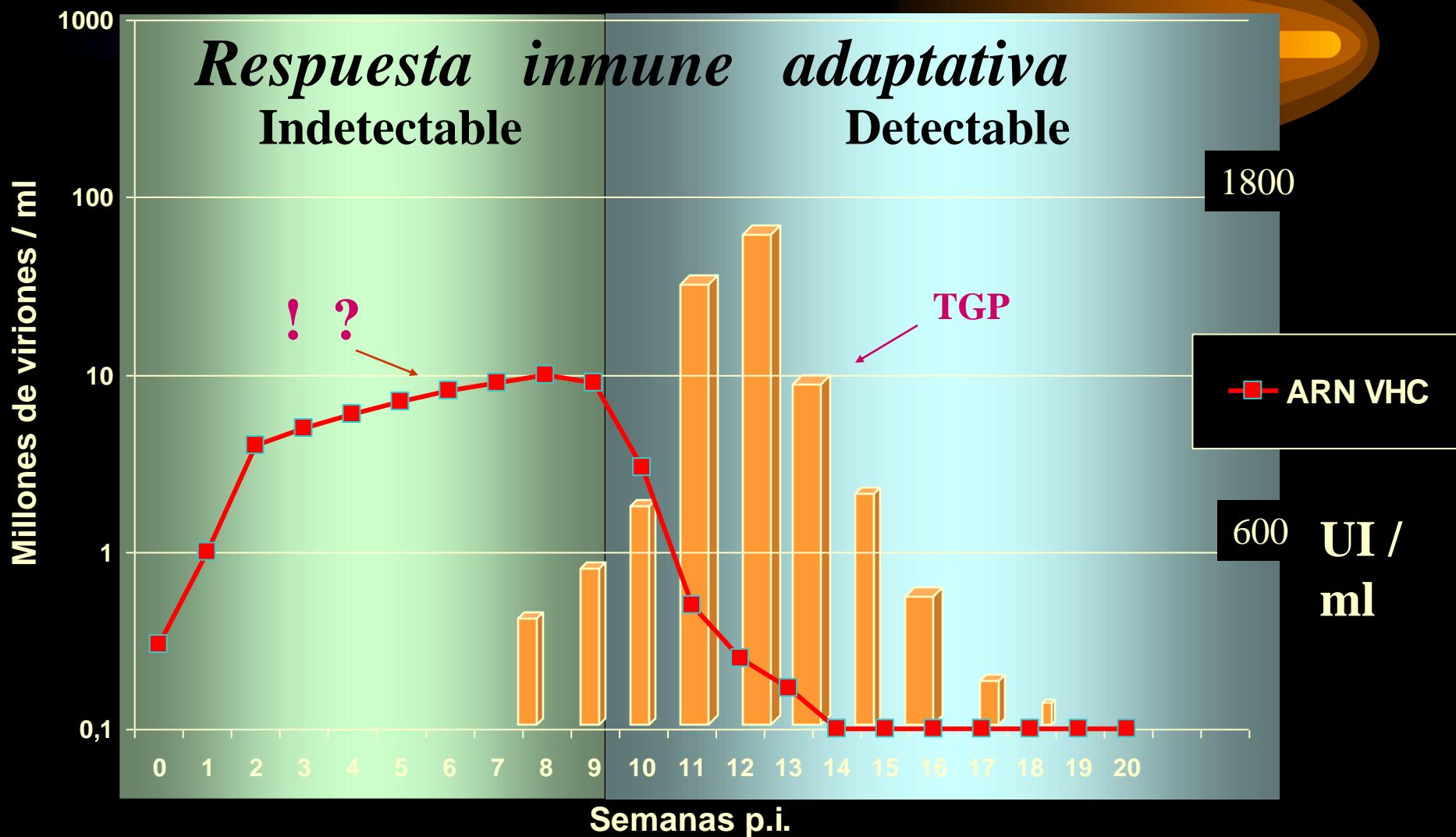
0 4

RIBA 2da Gen.

- Control II
- 5-1-1
- c100-3
- c33-C
- c22
- SOD
- Control I

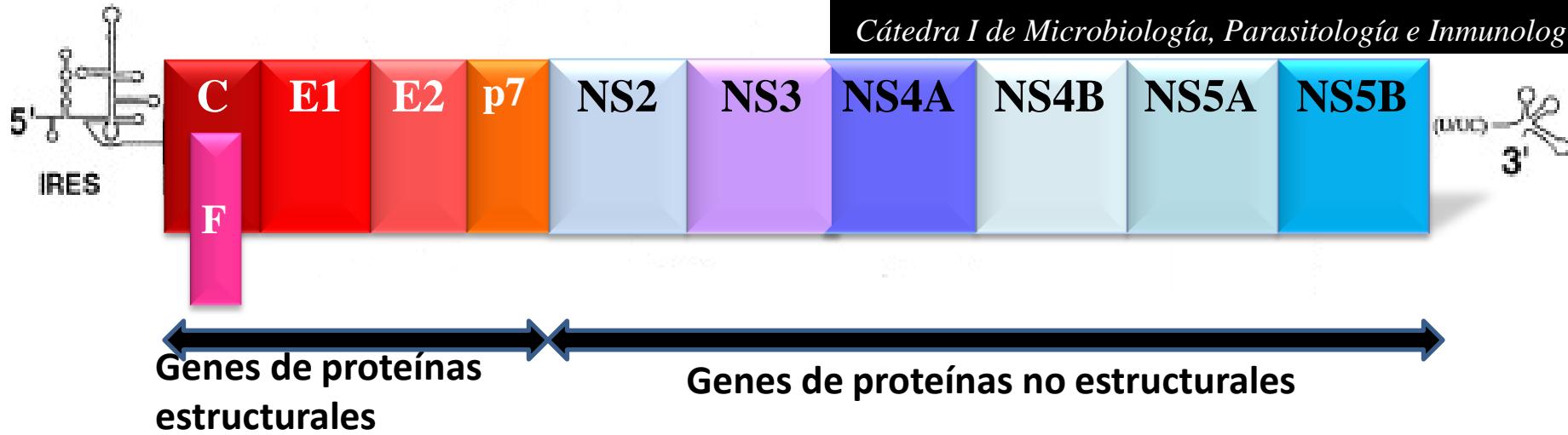
JRO

Cátedra I de Microbiología, Parasitología e Inmunología

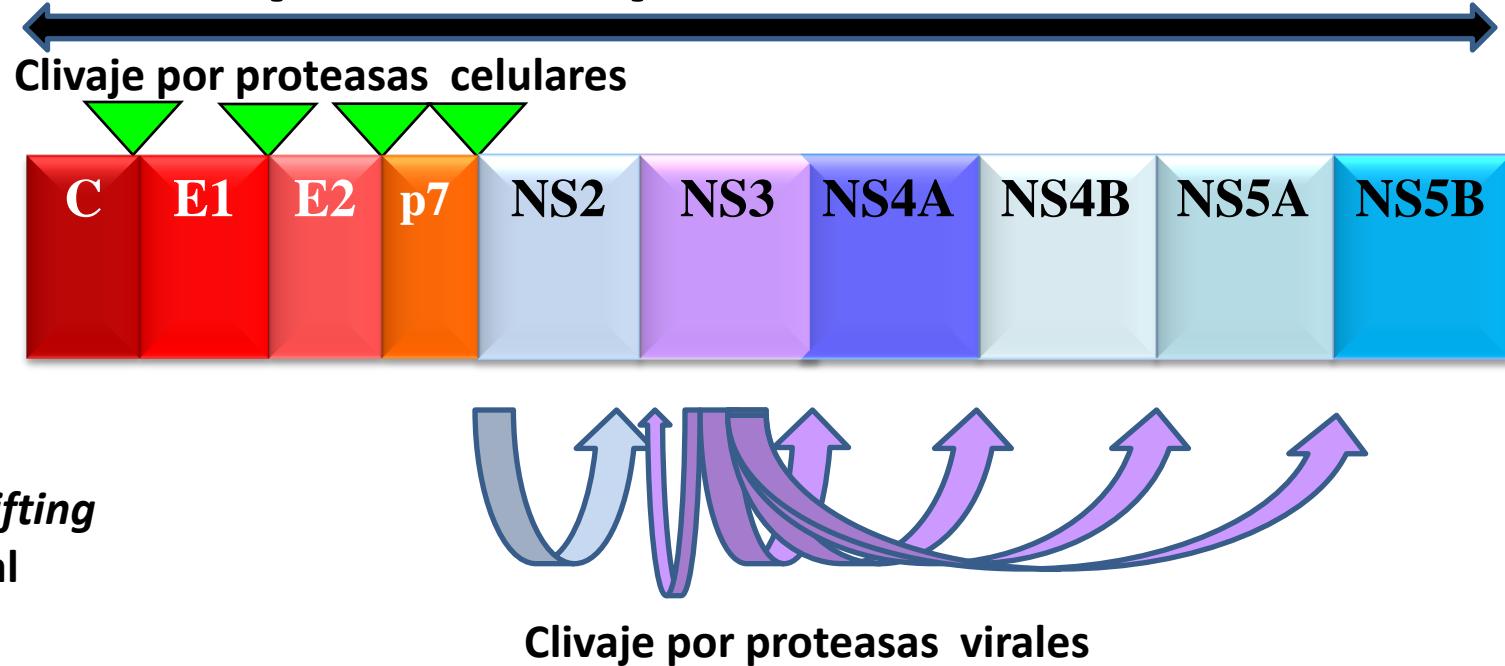
y lesión hepática en la infección autolimitada

Dinámica viral

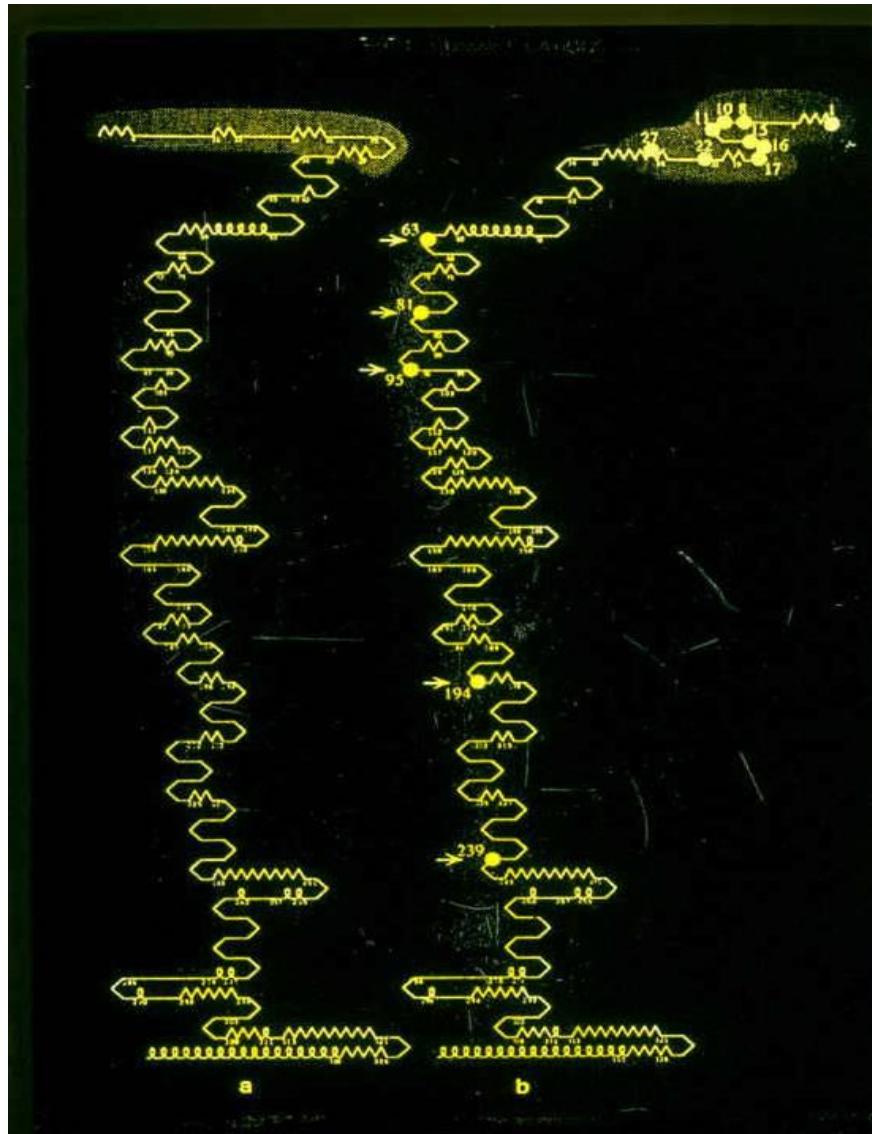
	<i>HBV Adefovir</i>	<i>HBV Lamivudine</i>	<i>HIV Ritonavir</i>	<i>HCV Ifn alfa</i>
<i>Virus en plasma Vida 1/2</i>	26,4 h	14 h	5,8 h	2,7 - 7,2 h
<i>Producción viral / día</i>	$2,1 \times 10^{12}$	10^{11}	10^{10}	$1,1 - 12,7 \times 10^{11}$
<i>Células infectadas Vida 1/2</i>	11 - 30 días	10 - 100 días	1,6 días	2,4 - 4,9 días



Poliproteína precursora del HCV

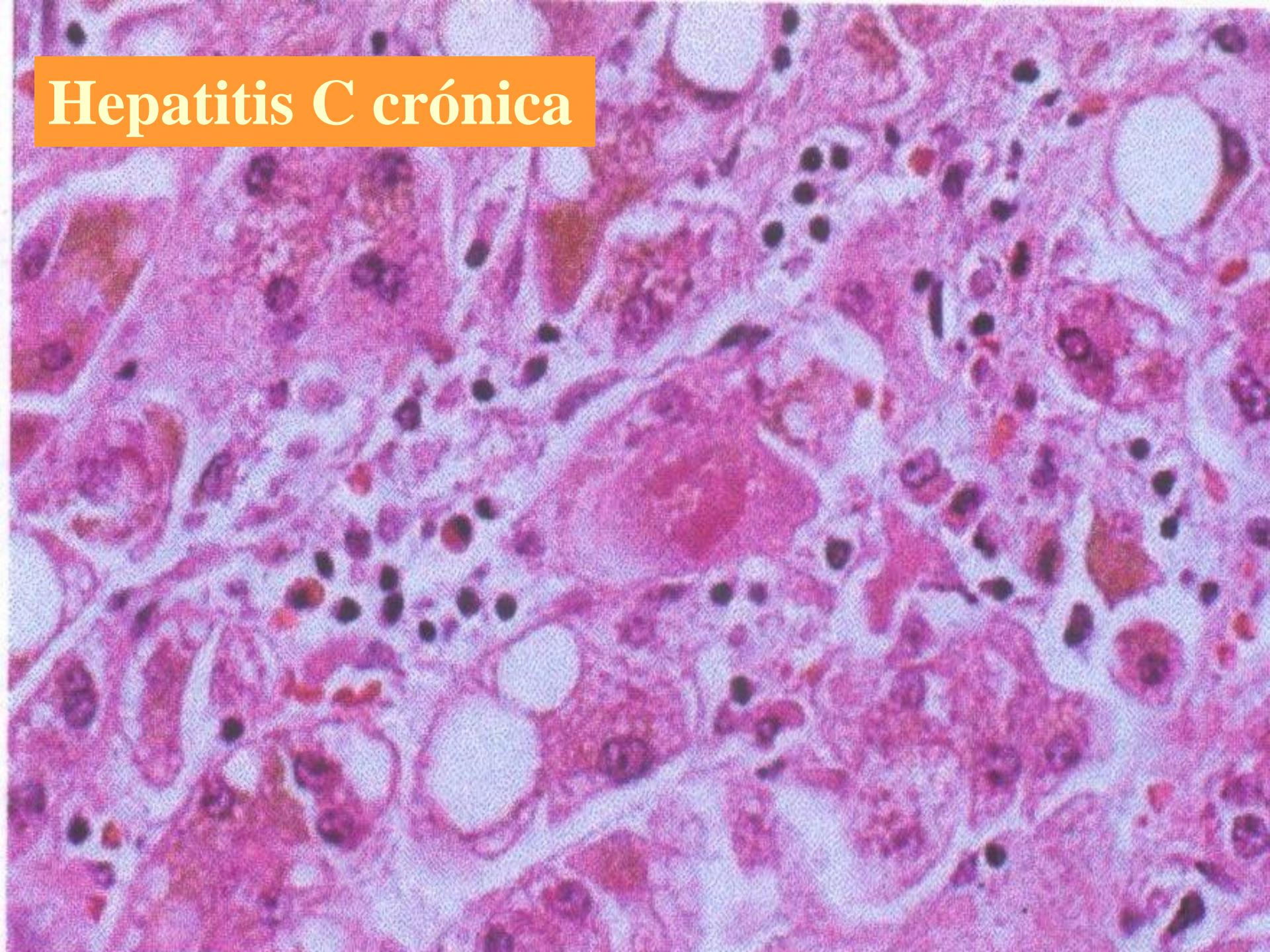


Variabilidad de la envoltura de HCV al cabo de 14 años de evolución

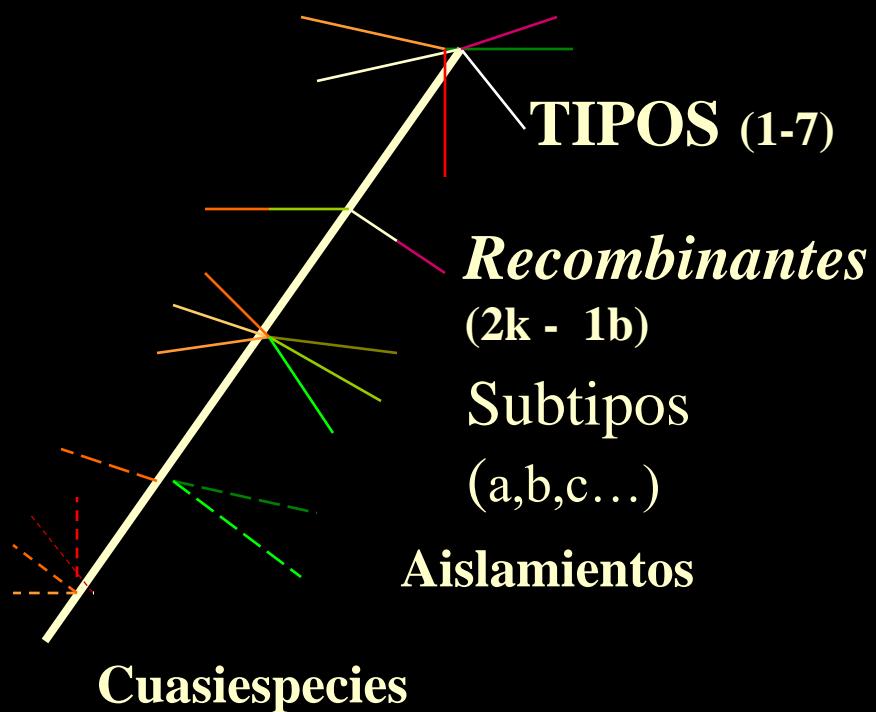


La mayoría de las mutaciones nucleotídicas afectan aminoácidos de la porción más hidrofílica de la envoltura viral (círculos amarillos), afectando su antigenicidad según la predicción de la nueva estructura secundaria por lo cual los anticuerpos específicos generados, no reconocen al

Hepatitis C crónica



Diversidad del HCV y del HBV



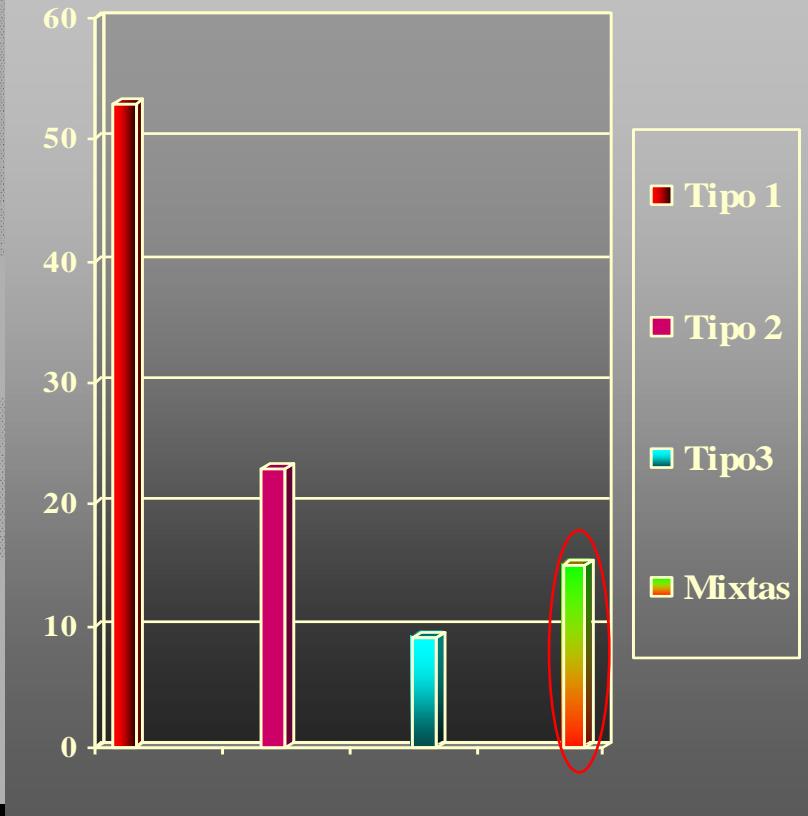
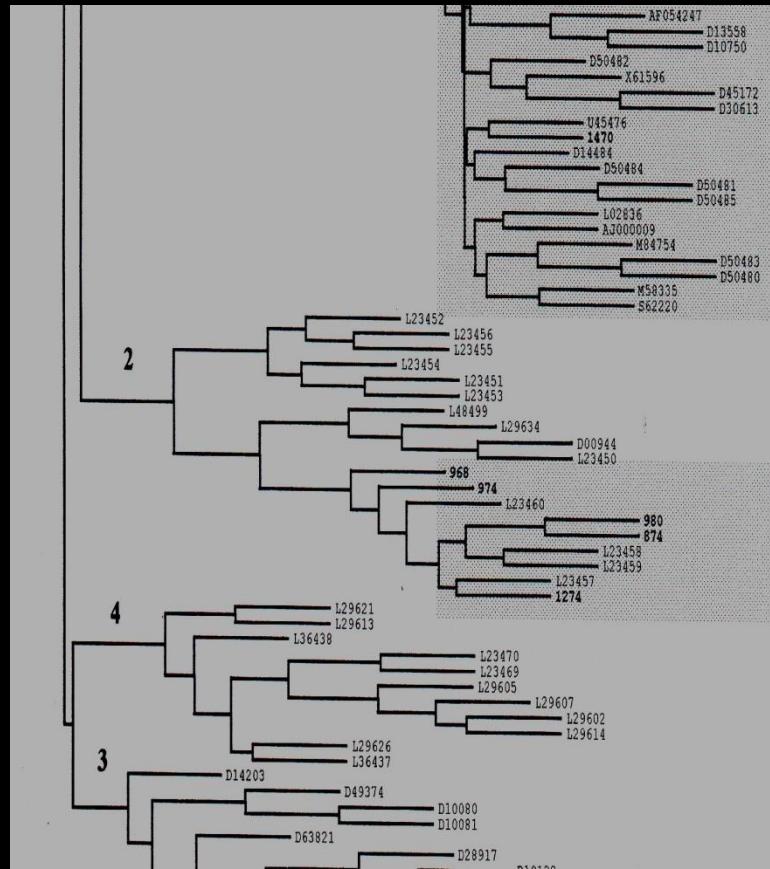
JRO

Cátedra I de Microbiología, Parasitología e Inmunología

Grupos más expuestos al riesgo de infección por el HCV:

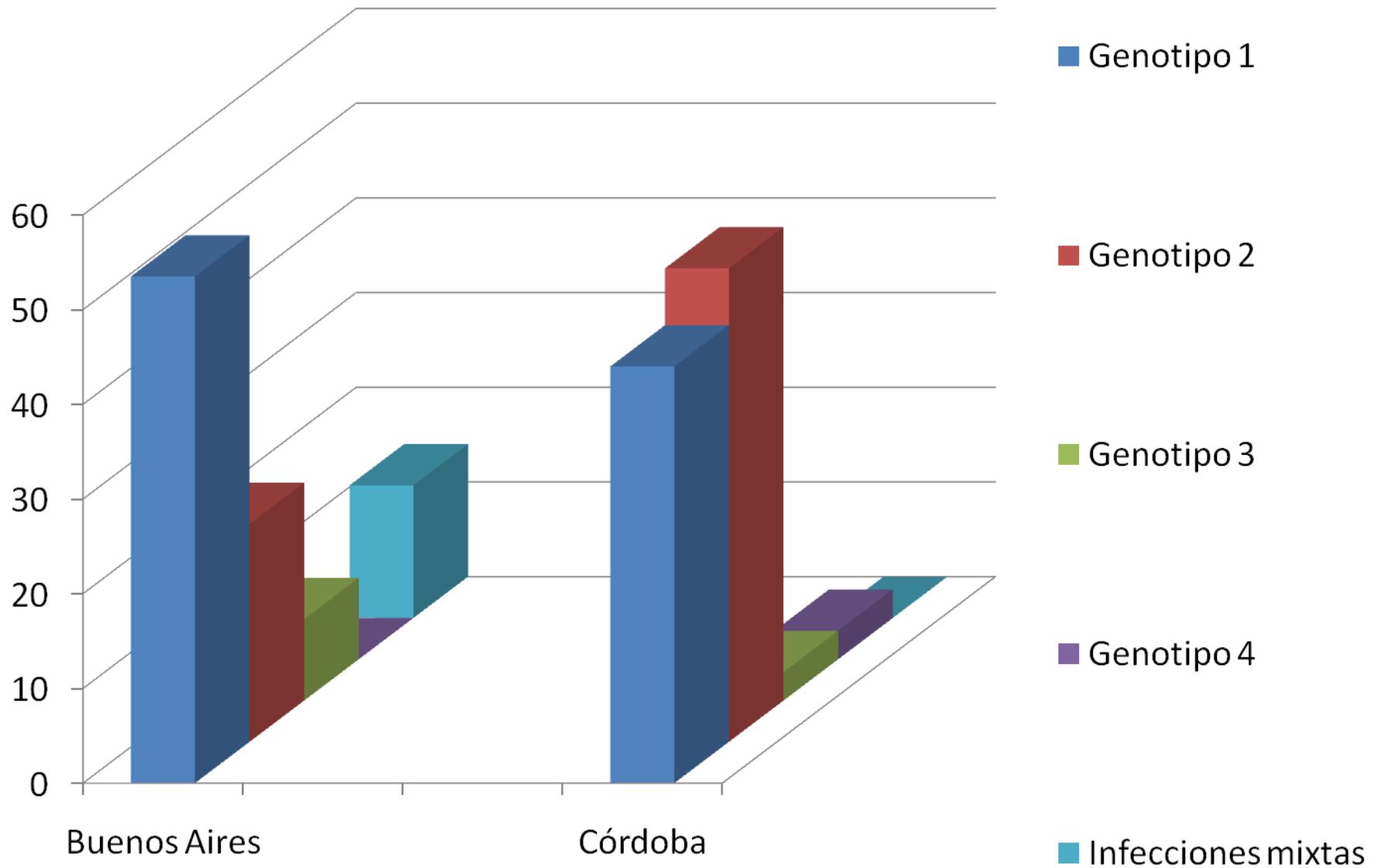
1. Consumidores de drogas inyectables y/o por vía intranasal
2. Receptores de productos sanguíneos infectados, y pacientes sometidos a intervenciones invasivas en centros sanitarios cuyas prácticas de control de la infección son inapropiadas
3. Niños nacidos de madres infectadas por el HCV
4. Personas cuyas parejas sexuales están infectadas por el HCV
5. Personas infectadas por el HIV
6. Reclusos o ex-reclusos
7. Personas que hayan tenido tatuajes o perforaciones ornamentales (*piercings*)

Prevalencia genotípica de HCV en Buenos Aires, Argentina

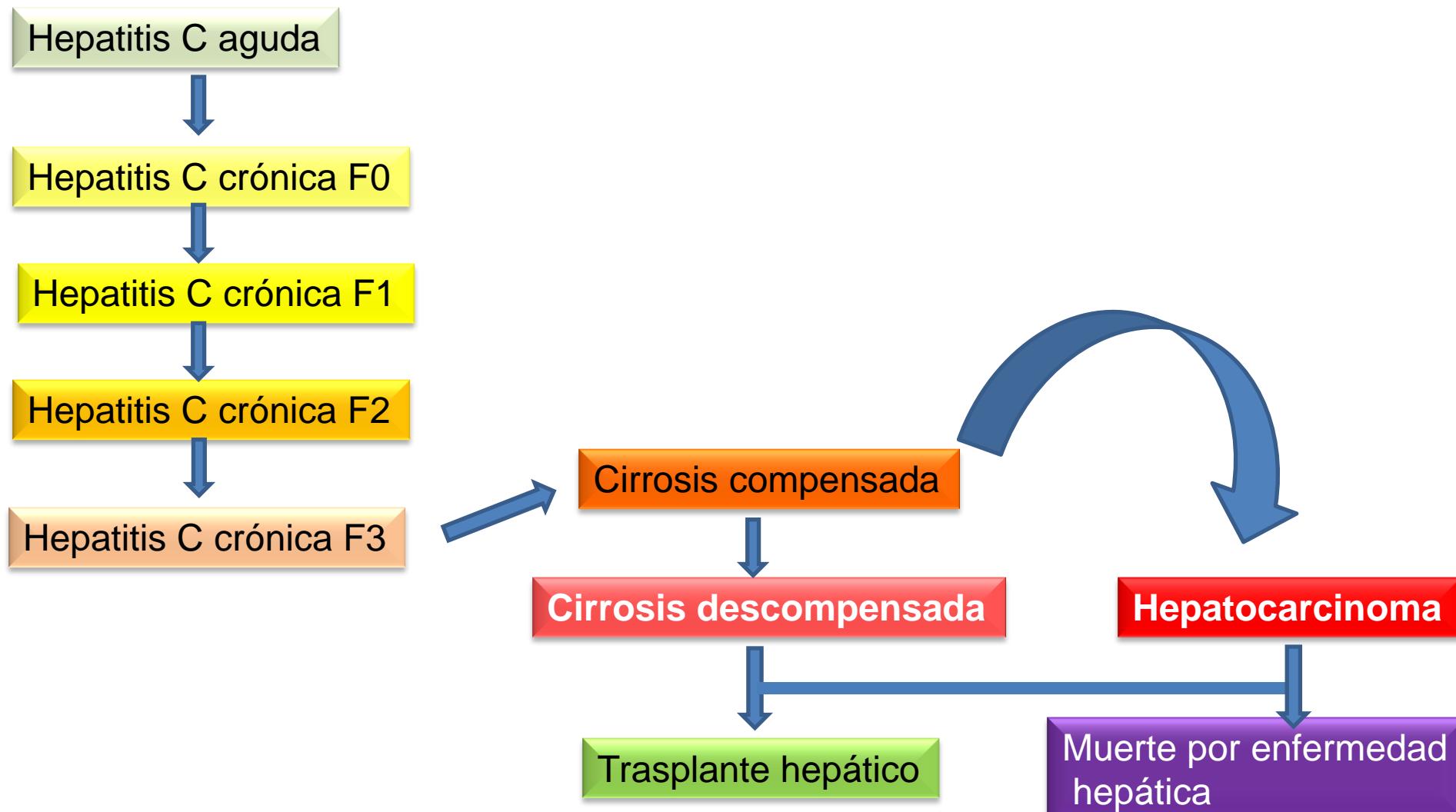


Oubiña y col, J Med Virol 1995; Quarleri y col, J Clin Microbiol 2000; Quarleri y col, J Clin Microbiol 2003).

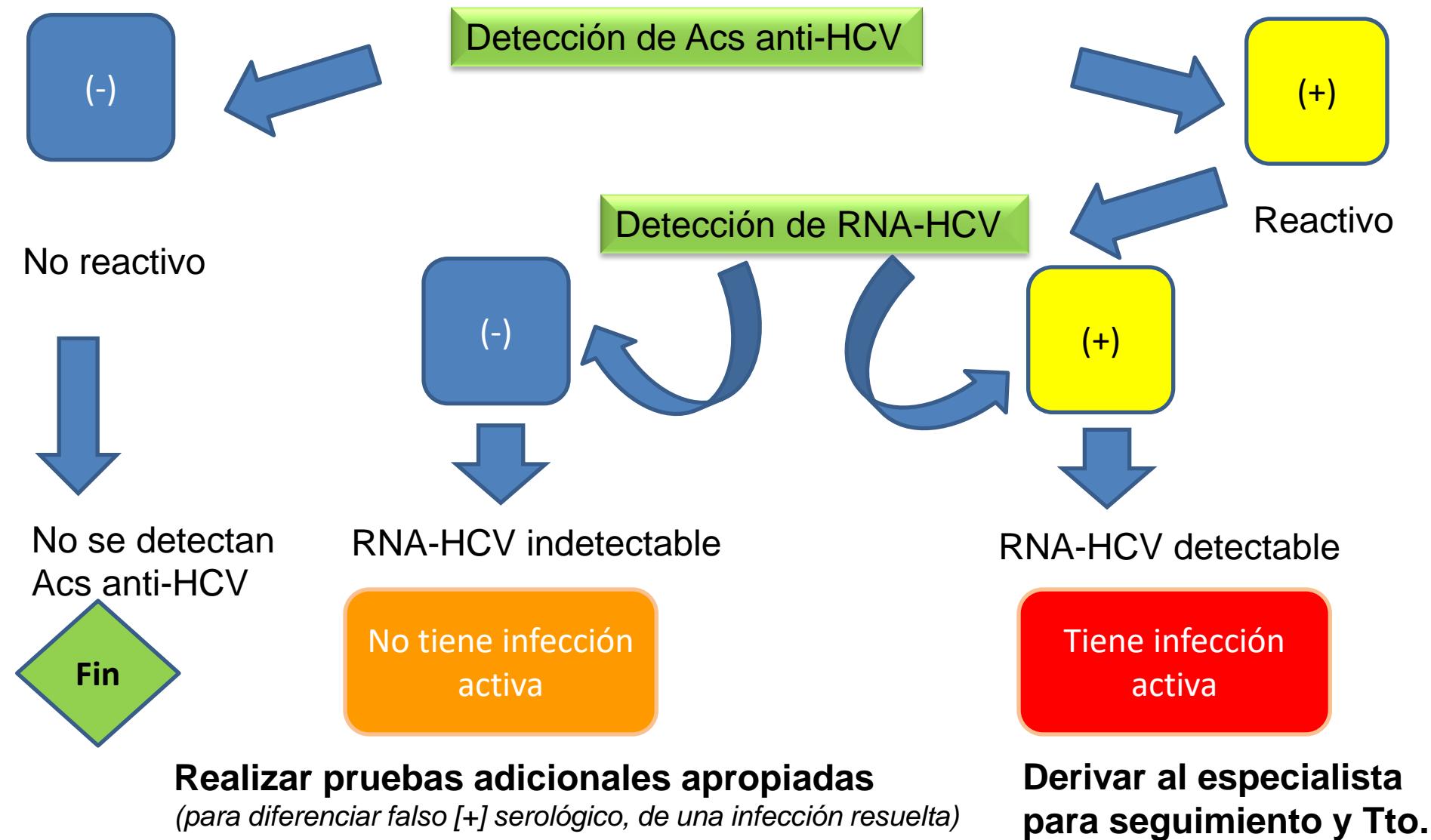
Genotipos 4 y 5: excepcionalmente



Cursos de evolución posibles de la hepatitis C



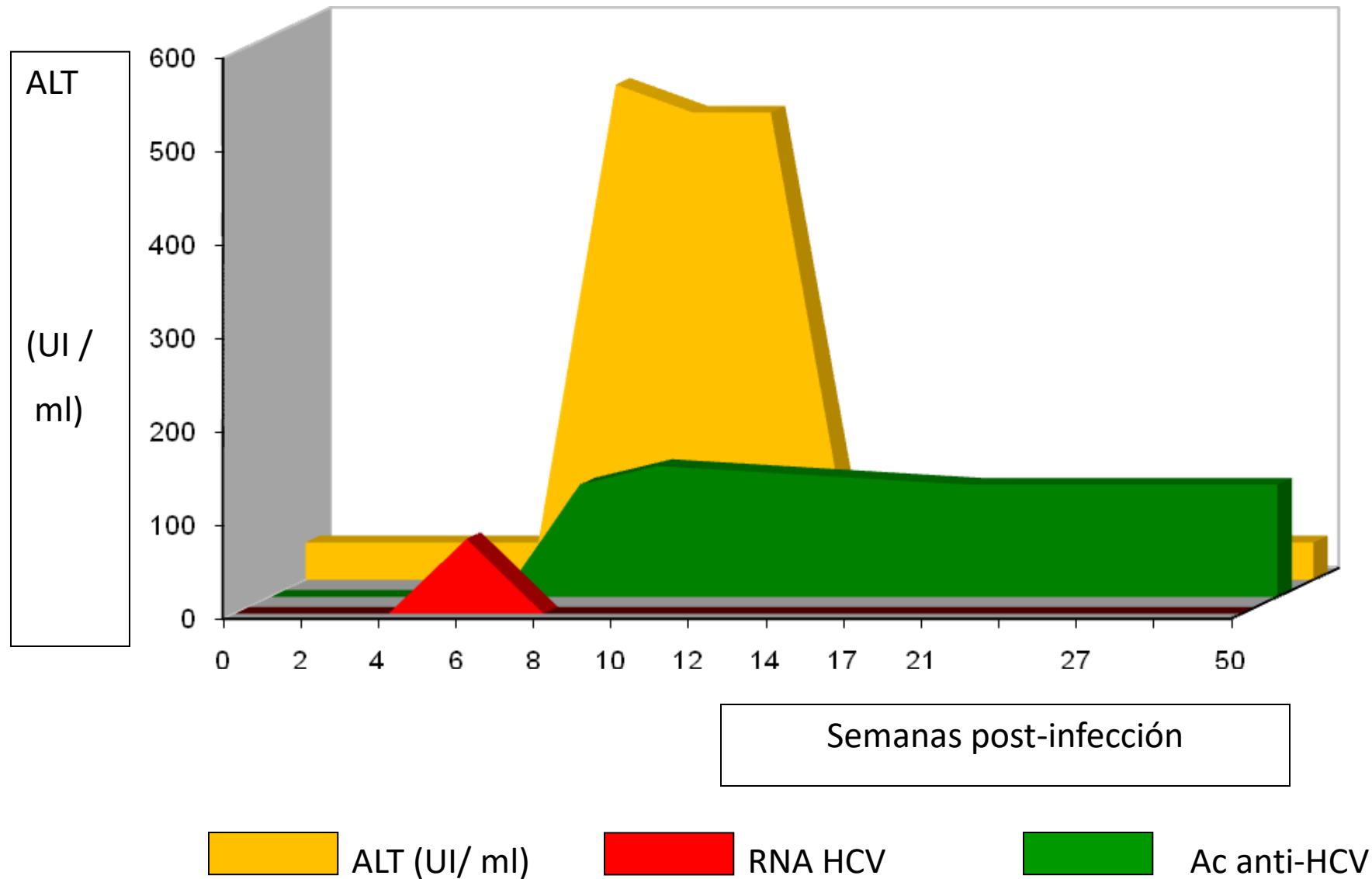
Algoritmo para la interpretación de pruebas diagnósticas de la hepatitis C



Diagnóstico de hepatitis C

Método directo	Detección	Técnica	
	Ag core HCV	ELISA	
	RNA HCV	Cualitativas	TMA (<i>transcription mediated amplification</i>) RT-PCR
		Cuantitativas	RT-PCR en tiempo real <i>Branched-DNA</i> (DNA ramificado) TMA
		Genotipificación	RT-PCR + secuenciación nucleotídica RT-PCR + Hibridación inversa (INNO LiPA) RT-PCR + endonucleasa (RFLP)
Método indirecto	Acs Anti-HCV	ELISA RIBA ó LIA Serotipificación de genotipos	

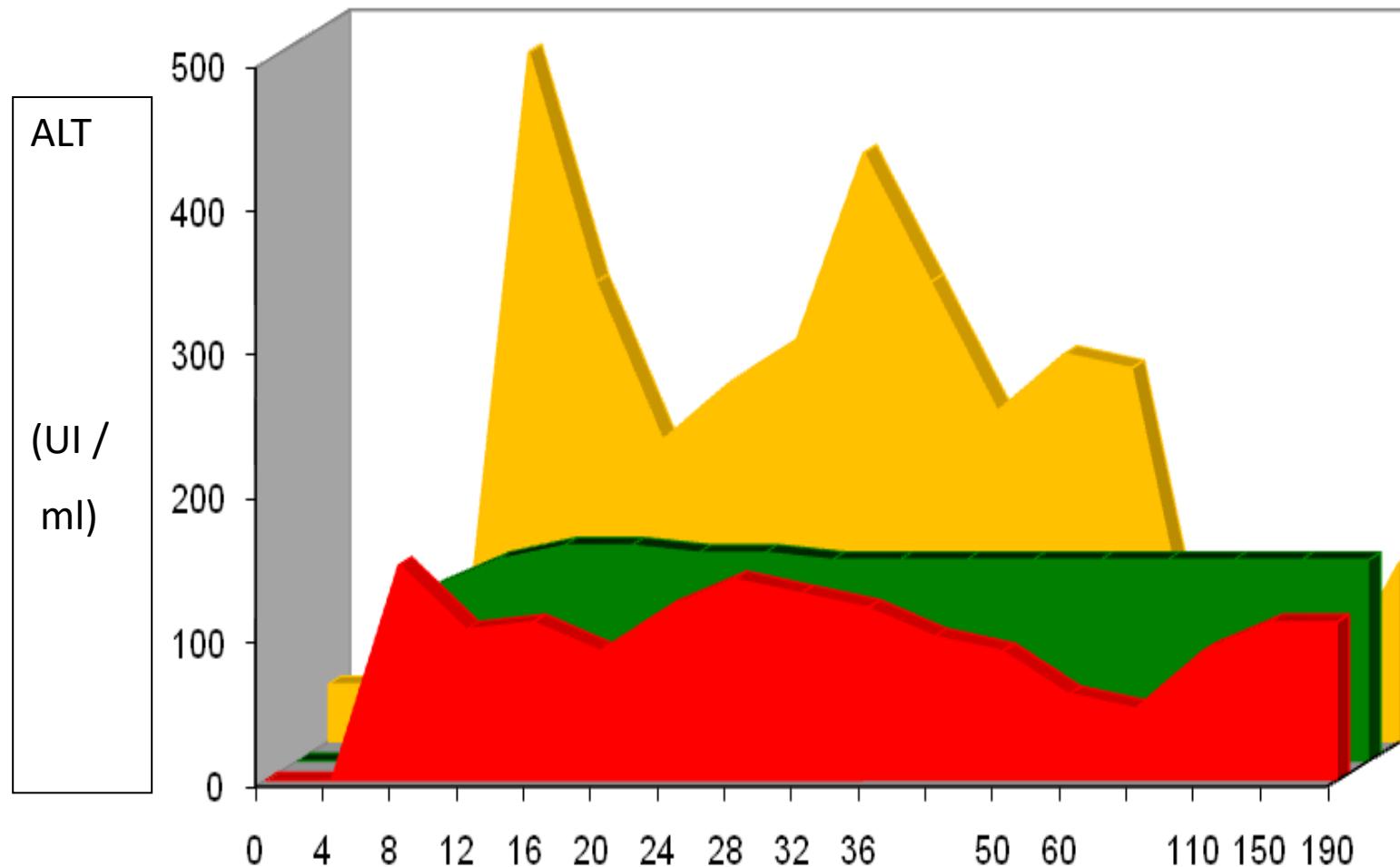
A



Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus.

Hepatitis C virus (HCV) infection is the most common blood-borne infection in the United States, with estimates of 4 million HCV-infected individuals in the United States and 170 million worldwide. Most (70-80%) HCV infections persist and about 30% of individuals with persistent infection develop chronic liver disease, including cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Epidemiological, viral and host factors have been associated with the differences in HCV clearance or persistence, and studies have demonstrated that a strong host immune response against HCV favours viral clearance. Thus, variation in genes involved in the immune response may contribute to the ability to clear the virus. In a recent genome-wide association study, a single nucleotide polymorphism (rs12979860) 3 kilobases upstream of the IL28B gene, which encodes the type III interferon IFN-3, was shown to associate strongly with more than a twofold difference in response to HCV drug treatment. To determine the potential effect of rs12979860 variation on outcome to HCV infection in a natural history setting, we genotyped this variant in HCV cohorts comprised of individuals who spontaneously cleared the virus ($n = 388$) or had persistent infection ($n = 620$). We show that the C/C genotype strongly enhances resolution of HCV infection among individuals of both European and African ancestry. To our knowledge, this is the strongest and most significant genetic effect associated with natural clearance of HCV, and these results implicate a primary role for IL28B in resolution of HCV infection.

B



Semanas post-infección



ALT (UI/ ml)

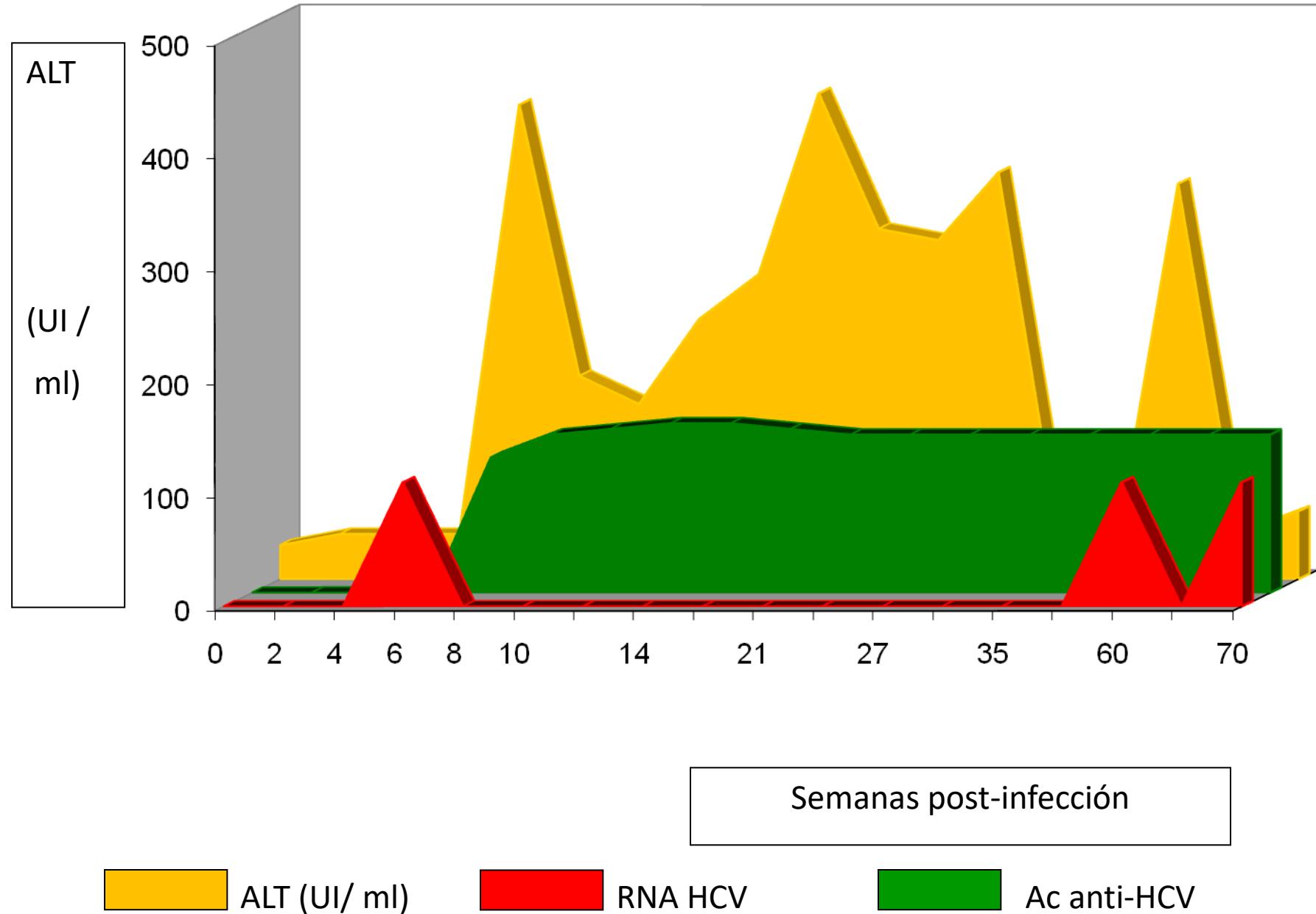


RNA HCV

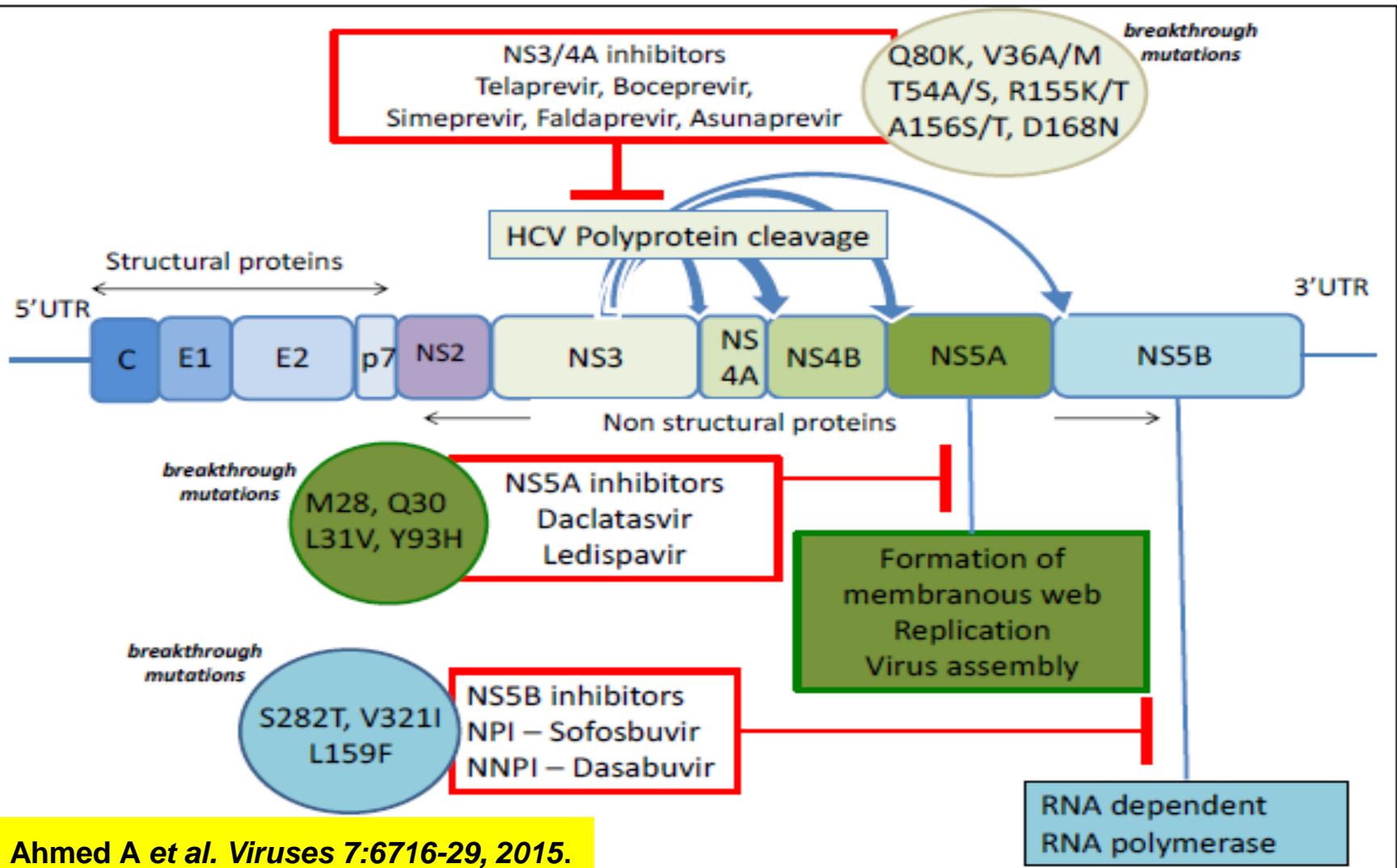


Ac anti-HCV

C



Antivirales de acción directa



¿QUÉ SIGNIFICAN ESTOS TÉRMINOS?

¿Respuesta virológica sostenida?

Ausencia de RNA HCVal cabo de 6 meses de discontinuado el tratamiento.

¿Respuesta virológica rápida?

Ausencia de RNA HCV al cabo de 4 semanas de iniciado el tratamiento.

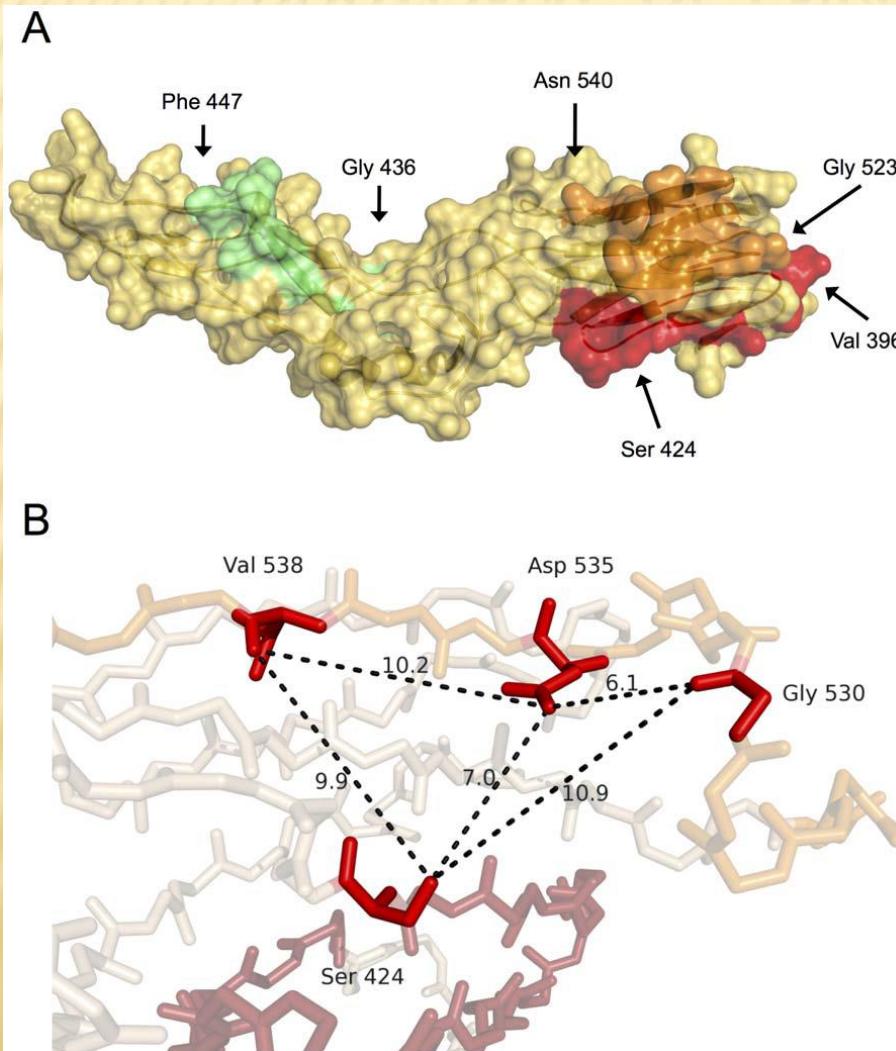
¿Respuesta virológica temprana?

Descenso de al menos 2 logs de RNA HCV al cabo de 12 semanas de iniciado el tratamiento.

Genome-wide association of *IL28B* with response to pegylated interferon- and ribavirin therapy for chronic hepatitis C

The recommended treatment for patients with chronic hepatitis C, pegylated interferon-alpha (PEG-IFN-alpha) plus ribavirin (RBV), does not provide sustained virologic response (SVR) in all patients. We report **a genome-wide association study (GWAS) to null virological response (NVR) in the treatment of patients with hepatitis C virus (HCV) genotype 1 within a Japanese population. We found two SNPs near the gene IL28B on chromosome 19 to be strongly associated with NVR** (rs12980275, $P = 1.93 \times 10(-13)$, and rs8099917, $3.11 \times 10(-15)$). We replicated these associations in an independent cohort (combined P values, $2.84 \times 10(-27)$ ($OR = 17.7$; 95% CI = 10.0-31.3) and $2.68 \times 10(-32)$ ($OR = 27.1$; 95% CI = 14.6-50.3), respectively). Compared to NVR, these SNPs were also associated with SVR (rs12980275, $P = 3.99 \times 10(-24)$, and rs8099917, $P = 1.11 \times 10(-27)$). In further fine mapping of the region, seven SNPs (rs8105790, rs11881222, rs8103142, rs28416813, rs4803219, rs8099917 and rs7248668) located in the IL28B region showed the most significant associations ($P = 5.52 \times 10(-28)$ - $2.68 \times 10(-32)$; $OR = 22.3$ - 27.1). Real-time quantitative PCR assays in peripheral blood mononuclear cells showed **lower IL28B expression levels in individuals carrying the minor alleles ($P = 0.015$)**.

UNA ESPERANZA: LOS ANTICUERPOS CON AMPLIA ACTIVIDAD NEUTRALIZANTE DEFINEN EPÍTOPIES CONSERVADOS EN PROTEÍNAS DE ENVOLTURA DEL HCV



El anticuerpo monoclonal AR3B interactúa con un epítope discontinuo de E2 (en verde, naranja y rojo) que está muy conservado entre los aislamientos de múltiples pacientes.

INTERACCIÓN DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES ANTI-ENV DE HCV CON EL EPÍTOPE II DE E2 DEL HCV

