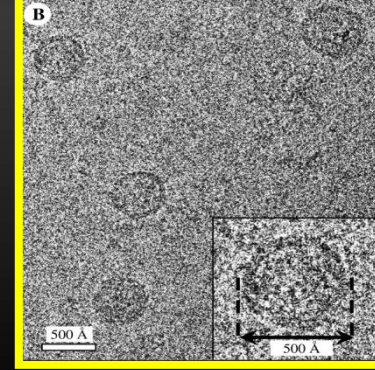




*Hipócrates palpando el
hígado de un paciente*



Virus hepatitis C

Una aproximación a la patogénesis de las infecciones virales persistentes crónicas: hepatitis C

Prof. Dr. José Raúl Oubiña

Cátedra I de Microbiología, Parasitología e Inmunología

Microbiología y Parasitología I



Objetivos

- ✓ Comprender algunas de las bases por las que una infección viral puede devenir en persistente
- ✓ Analizar algunos factores virales y celulares de la infección por virus hepatitis C (HCV) que promueven su persistencia



Contenidos

- Introducción a las infecciones virales persistentes crónicas
- Infección por virus hepatitis C
- Comparación con la infección por virus hepatitis B

Se sugiere la observación previa del Seminario inherente al HBV y posteriormente la del video que – como anexo a este Encuentro– se elaboró para compartir el tema “Infección por virus hepatitis B”



Infecciones persistentes crónicas: modelo hepatitis C

➤ PARTE I

- ¿Por qué algunas infecciones son habitualmente agudas y otras frecuentemente persistentes crónicas?
- ❖ ¿Cuáles son los elementos de la Rta. Inmune y de los virus que se asocian con frecuencia a infecciones persistentes crónicas?
- ❖ ¿Cómo actúan?
- ❖ Algunos ejemplos de importancia médica

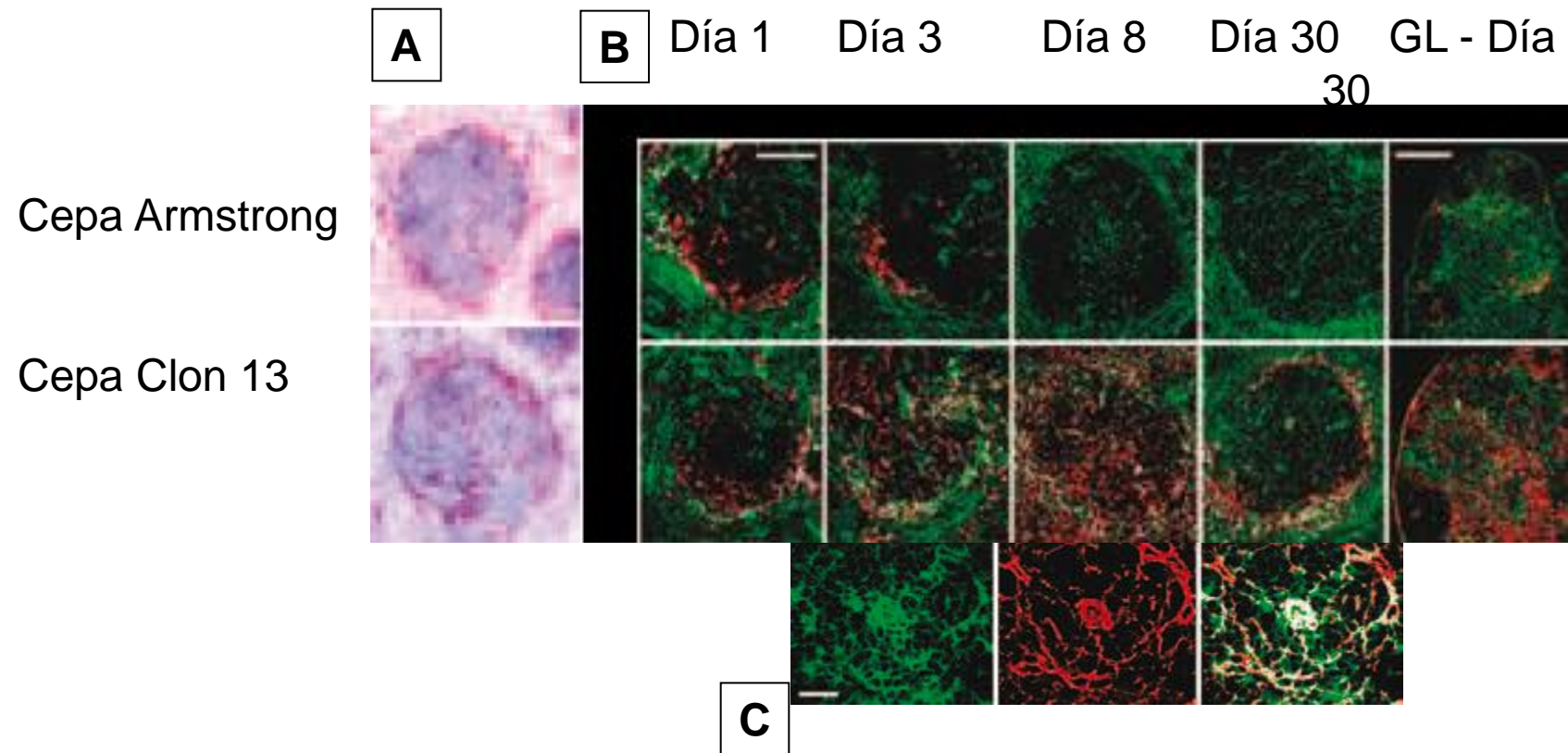
☐ PARTE II: la infección por HCV

☐ PARTE III: comparación con la infección producida por HBV.

☐ Síntesis.



Diferencias en el tropismo de un mismo virus (LCMV) por CDs y reticulares foliculares se asocian a distintos cursos (agudo vs persistente)



Patrón reticular de la infección del bazo de ratones infectados con el virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCMV).

A. Microscopía óptica de cortes histológicos de bazo de ratones infectados 3 días antes con la cepa Armstrong (Arm) o CI-13 de LCMV marcados para detección de antígenos virales, utilizando hematoxilina como tinción de contraste. **B.** Bazo y ganglio linfático periférico (GL, a la derecha) marcados para detección de antígenos del citoesqueleto de las células reticulares fibroblásticas (verde) y para antígenos de LCMV (rojo) a los 1, 3, 8 y 30 días post-infección (p.i.). Las regiones de color blanco indican co-localización. Obsérvese que la infección con la cepa Armstrong se limita a los 8 días, mientras que la producida por la cepa LCMV CI-13 persiste aún a los 30 días p.i. Al día 1 post-infección, ambas cepas se localizan en la zona marginal, exhibiendo un grado similar de infección. A los 3 días p.i. la cepa LCMV CI-13 pudo detectarse en la pulpa blanca y más intensamente en la pulpa roja, alcanzando el máximo al día 8 p.i. y permaneciendo en altos niveles hasta el día 30 p.i. Contrariamente, la infección con la cepa Armstrong permaneció localizada en la zona marginal, siendo controlada al día 8. Los antígenos de la cepa LCMV CI-13 (pero no Armstrong) colocalizaron con las células reticulares fibroblásticas. Aumento: 20x (bazo) y 10x (GL). Barra de escala: 100 μ m (bazo) y 400 μ m (GL). **C.** Microscopía confocal de cortes histológicos de bazo de ratones infectados con LCMV CL-13 marcados para PD-L1 (verde) y laminina (rojo). Las regiones en blanco indican co-localización. La expresión de

Diferencias entre dos cepas del arnavirus productor de la coriomeningitis linfocitaria (LCM)

LCM
cepa Armstrong



Infección aguda

Patología por LT CD8+
Infección de CD: +/-

LCM
cepa Clon 13
(2 a.a. \neq a Arm: 1 en glicoproteína de envoltura
y en 1 en RNA polimerasa viral)



Infección persistente

No hay Patología por LT CD8+
Infección de CD: +++ al interactuar
mejor con receptor
para LCM
 α distroglicano
(cambia el tropismo)

↑ Nivel de IL-10

↑ Expresión de PD -L1 en células
infectadas



Diferencias entre dos cepas del arnavirus productor de la coriomeningitis linfocitaria (LCM)

LCM
cepa Clon 13
(2 a.a. \neq a Arm)



Infección persistente

No hay Patología por LT CD8+
Infección de CD: +++ al interactuar mejor con receptor para LCM α distroglicano (cambia el tropismo)

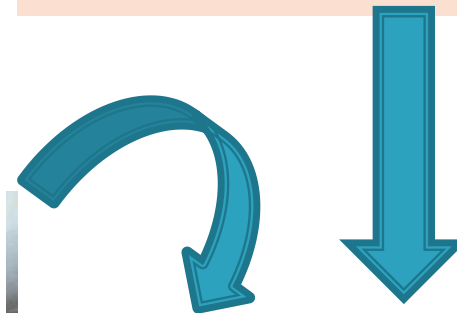
↑ Nivel de IL-10

↑ Expresión de PD-L1 en células infectadas

LCM
cepa Clon 13
(2 a.a. \neq a Arm)



**Ac
monoclonal
anti-IL10r
o anti-PD-L1**



**¡Transforman la
infección persistente
en aguda!**



Infecciones persistentes crónicas: modelo hepatitis C

➤ PARTE I

- ✓ ¿Por qué algunas infecciones son habitualmente agudas y otras frecuentemente persistentes crónicas?
- ¿Cuáles son los elementos de la Rta. Inmune y de los virus que se asocian con frecuencia a infecciones persistentes crónicas?
- ❖ ¿Cómo actúan?
- ❖ Algunos ejemplos de importancia médica

☐ PARTE II: la infección por HCV

☐ PARTE III: comparación con la infección producida por HBV.

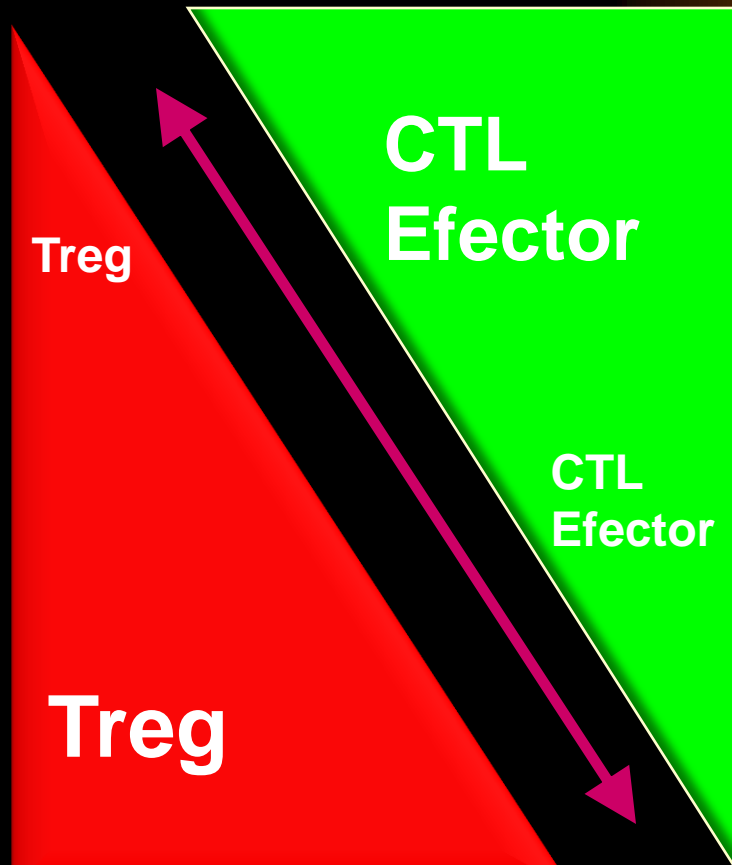
☐ Síntesis.



Un balance muy delicado ...



ELIMINACIÓN VIRAL
DAÑO CELULAR

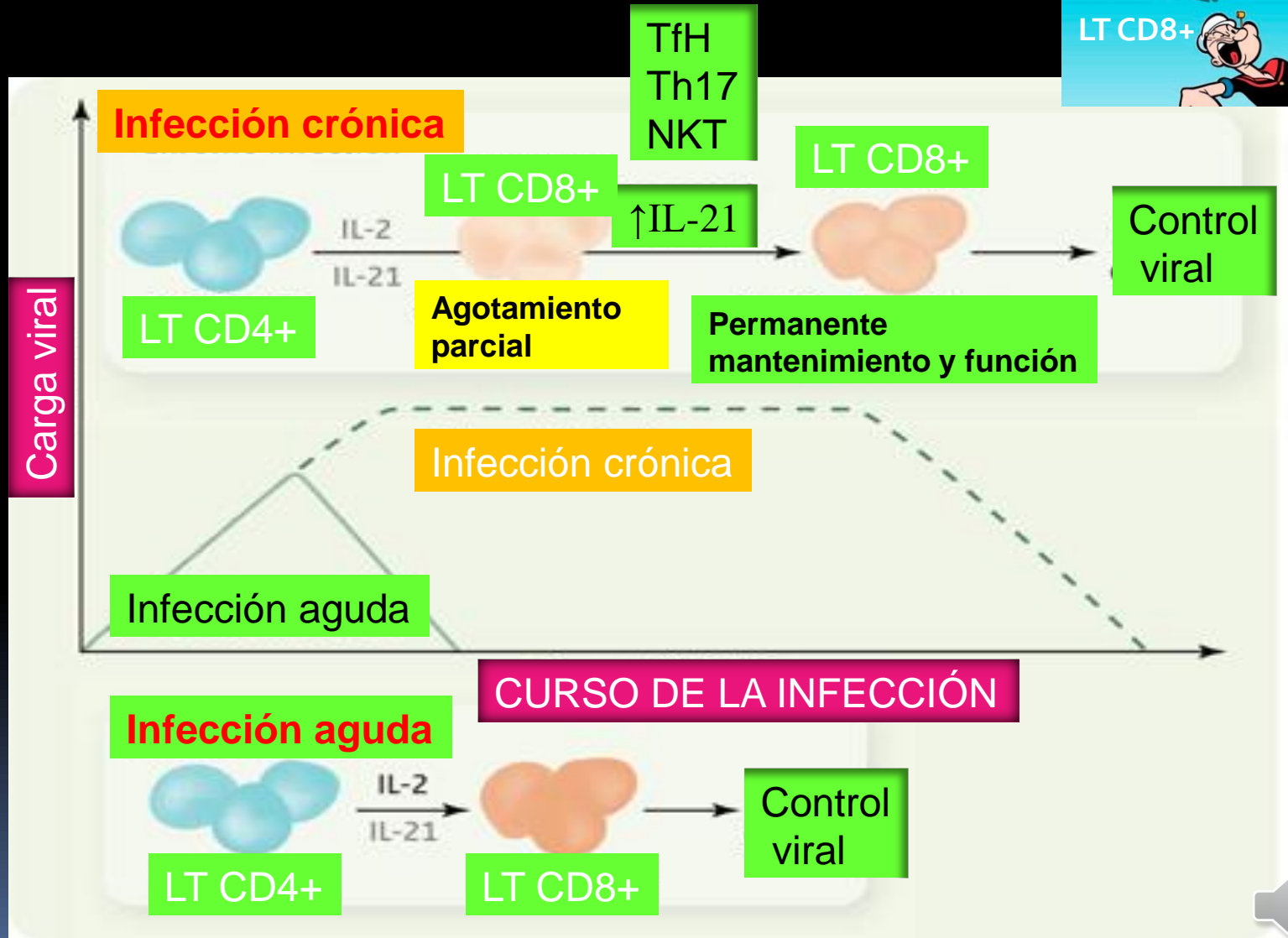


PERSISTENCIA VIRAL

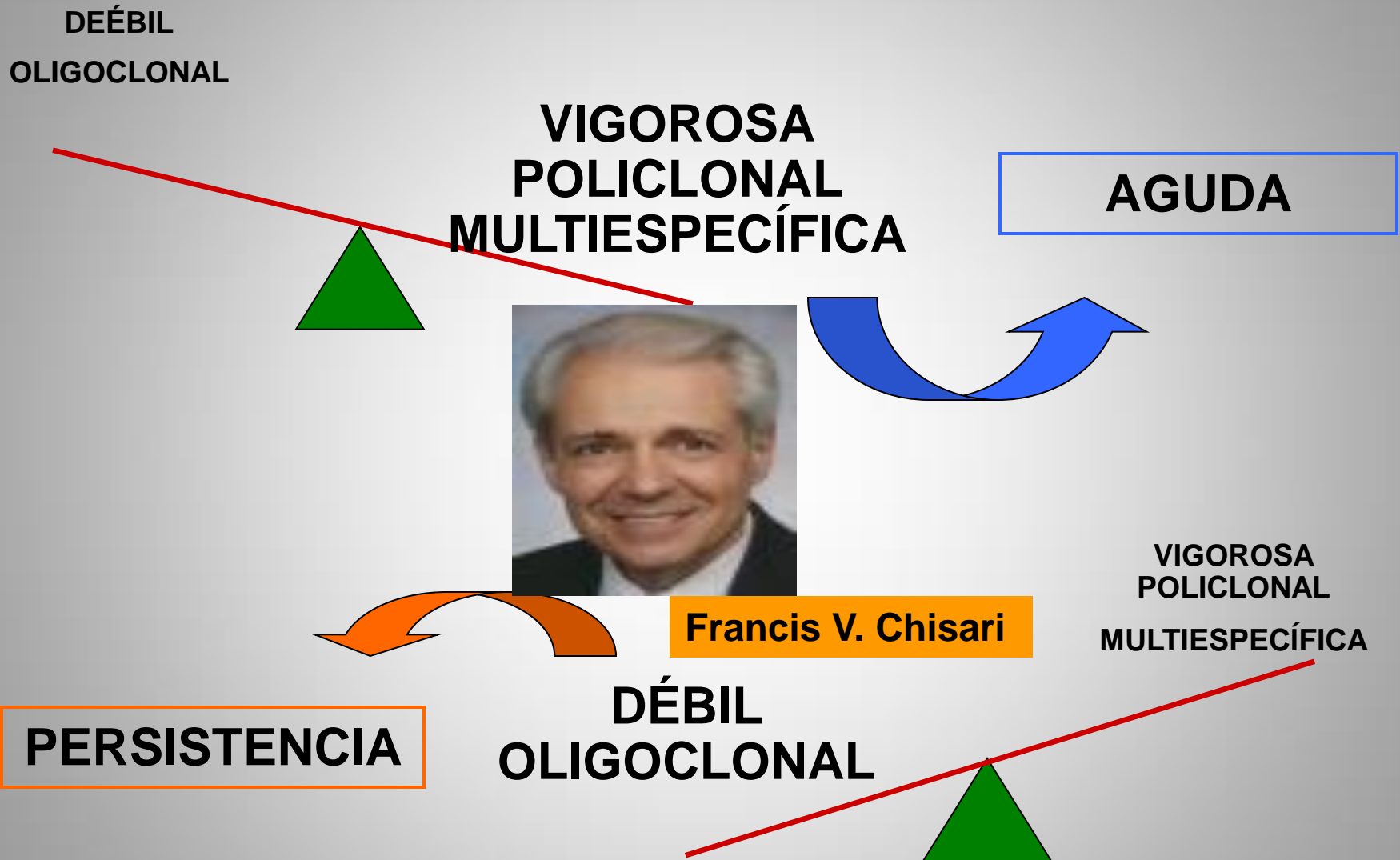
PROTECCIÓN CONTRA EL DAÑO CELULAR



Importancia de la IL-21 en el control de las infecciones crónicas

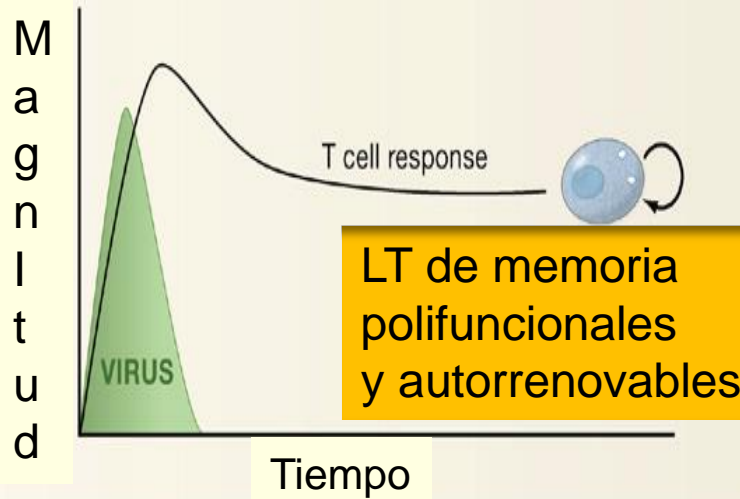


RESPUESTA INMUNE ANTIVIRAL

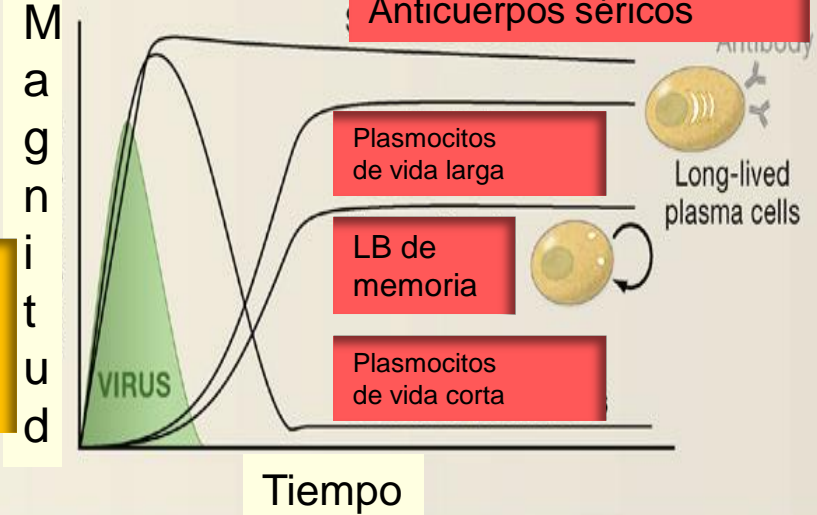


Respuesta T

Inf. aguda

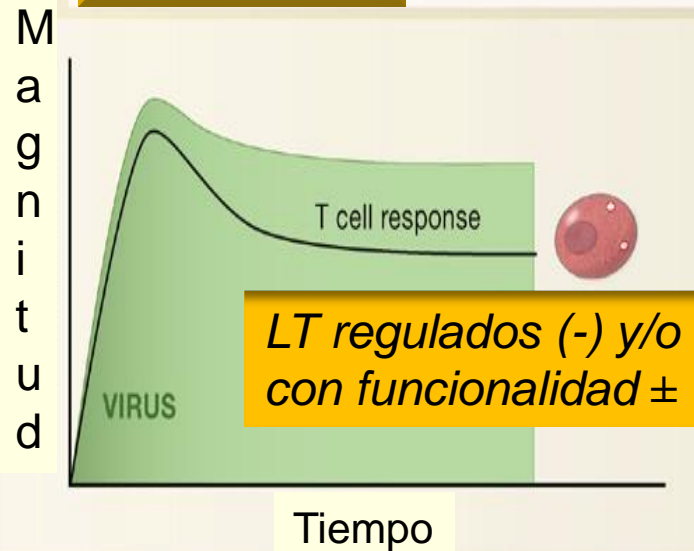


Respuesta B

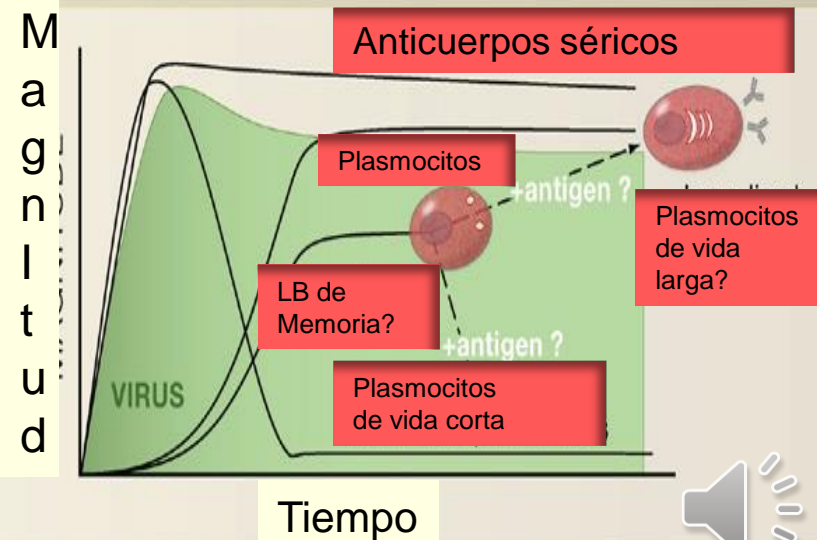


Respuesta T

Inf. crónica



Respuesta B



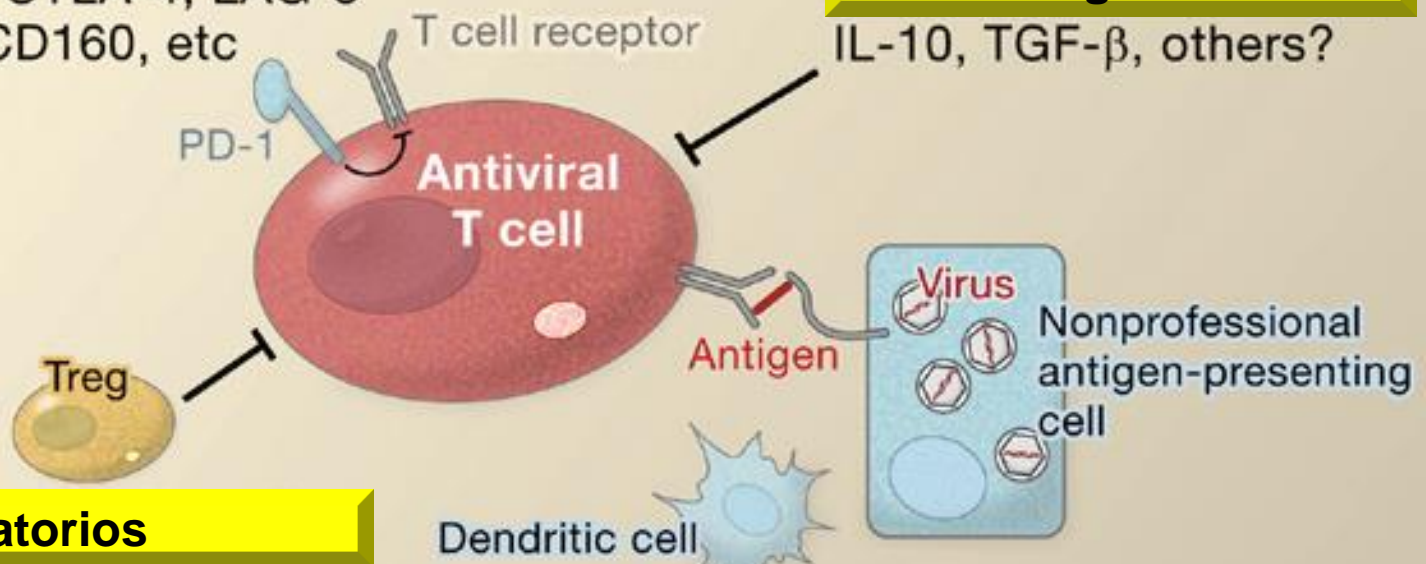
Vías inmunorregulatorias de inhibición de la respuesta T durante la infección crónica

Receptores inhibitorios

PD-1, CTLA-4, LAG-3
2B4, CD160, etc

Citoquinas inmunorregulatorias

IL-10, TGF- β , others?



LT regulatorios

Natural Treg
Adaptive Treg
CD8 Treg?
Myeloid suppressors?

Células presentadoras de antígenos alteradas

Dendritic cell loss or dysfunction
Nonprofessional antigen-presenting cell

¡LBregs regulan Tregs!

Virgin & Ahmed, Cell, 2009



Infecciones persistentes crónicas: modelo hepatitis C

➤ **PARTE I**

- ✓ ¿Por qué algunas infecciones son habitualmente agudas y otras frecuentemente persistentes crónicas?
- ✓ ¿Cuáles son los elementos de la Rta. Inmune y de los virus que se asocian con frecuencia a infecciones persistentes crónicas?
- ¿Cómo actúan?
- Algunos ejemplos de importancia médica

☐ **PARTE II: la infección por HCV**

☐ **PARTE III: comparación con la infección producida por HBV.**

☐ **Síntesis.**



Patogénesis de las infecciones virales: síntesis (I)

Algunos ejemplos de factores asociados a la persistencia viral crónica



Factores virales

Cambios en el tropismo por CD

Variación Ag (evasión al sistema inmune)

Ataque al sistema inmune

Regulación de la apoptosis



Factores del hospedador

Bases genéticas de la Rta. Inmune

Inmunodeficiencia humoral y/o celular

Agotamiento T



Infecciones persistentes crónicas: modelo hepatitis C

✓ PARTE I

- ✓ ¿Por qué algunas infecciones son habitualmente agudas y otras frecuentemente persistentes crónicas?
- ✓ ¿Cuáles son los elementos de la Rta. Inmune y de los virus que se asocian con frecuencia a infecciones persistentes crónicas?
- ✓ ¿Cómo actúan?
- ✓ Algunos ejemplos de importancia médica

➤ **PARTE II: la infección por HCV**

❑ **PARTE III: comparación con la infección producida por HBV.**

❑ **Síntesis.**

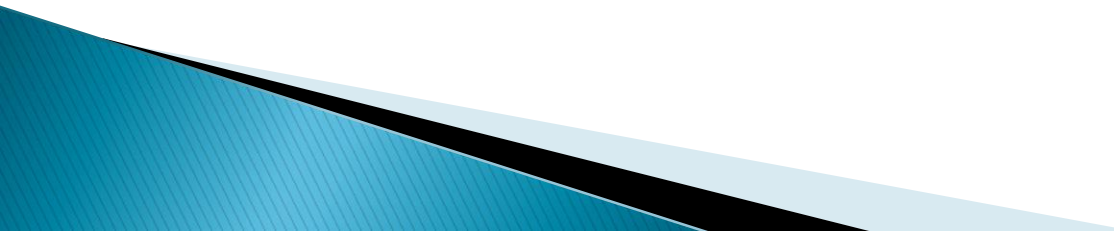


HEPATITIS C: SOY CLONADO, LUEGO EXISTO

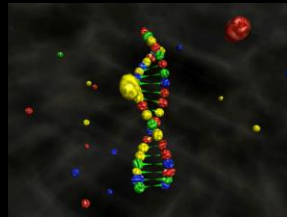
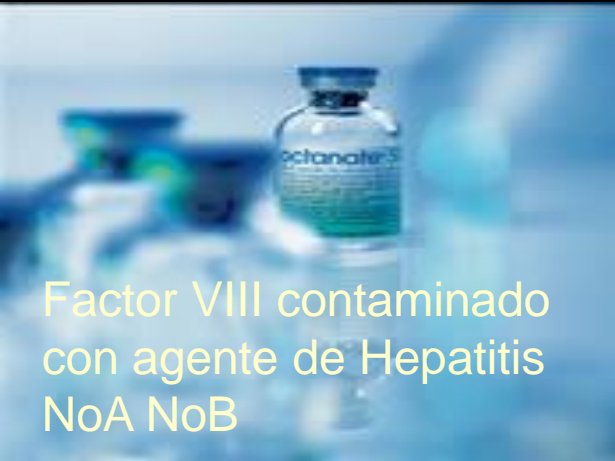
Por medio de la biología molecular se pudo detectar la existencia de este virus, que ya había sido muy bien identificado por la investigación clínica.



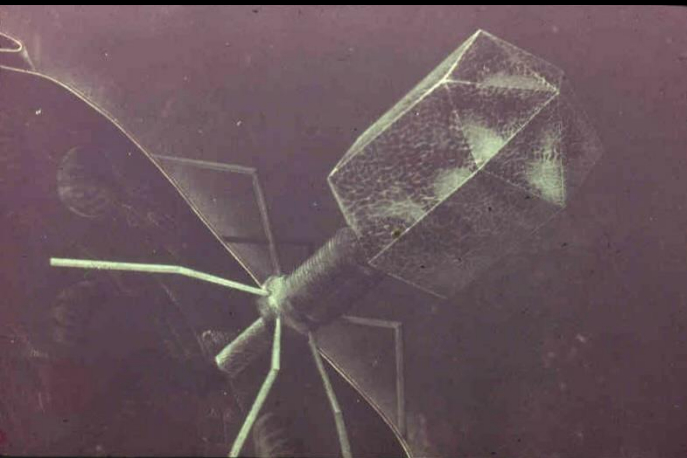
Hepatitis C

- Estructura y función
 - ❑ Replicación viral y sus implicancias en la epidemiología molecular, la patogénesis, el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento
 - ❑ Inmunopatogénesis molecular de la hepatitis C a nivel hepático y su relación con el diagnóstico
 - ❑ Inmunopatogénesis molecular de las manifestaciones extra-hepáticas
- 

¿Cómo se descubrió el HCV?



DNAc
(de RNA y DNA)



Clonado en
vector λ gt11



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





M. Houghton



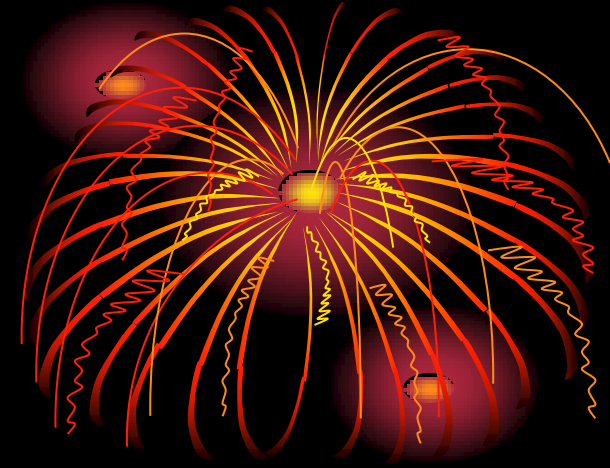
Q-L Choo



G. Kuo



D. Bradley



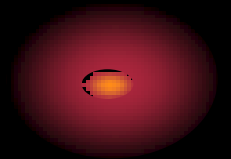
¡Por primera vez en la historia se descubre un virus al margen de su morfología y constitución antigénica!

¡Es el virus de la Hepatitis C!



Choo, Q.-L. *et al.* *Science* **244**, 359–362 (1989).

Morfología del HCV



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

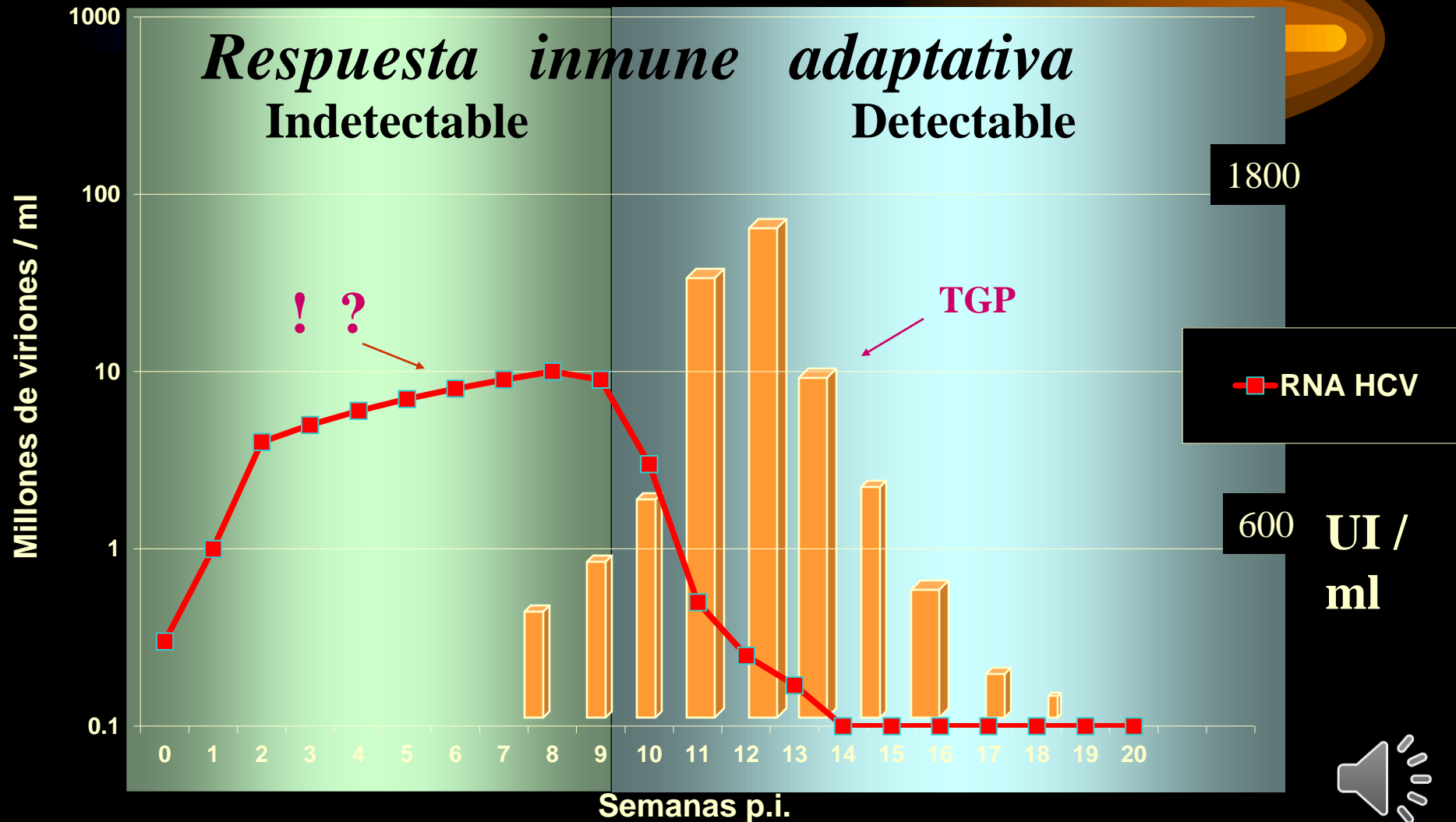
*Kaito M. y col.. J Gen
Virol 75: 1755- 1760,
1994.*



50 nm



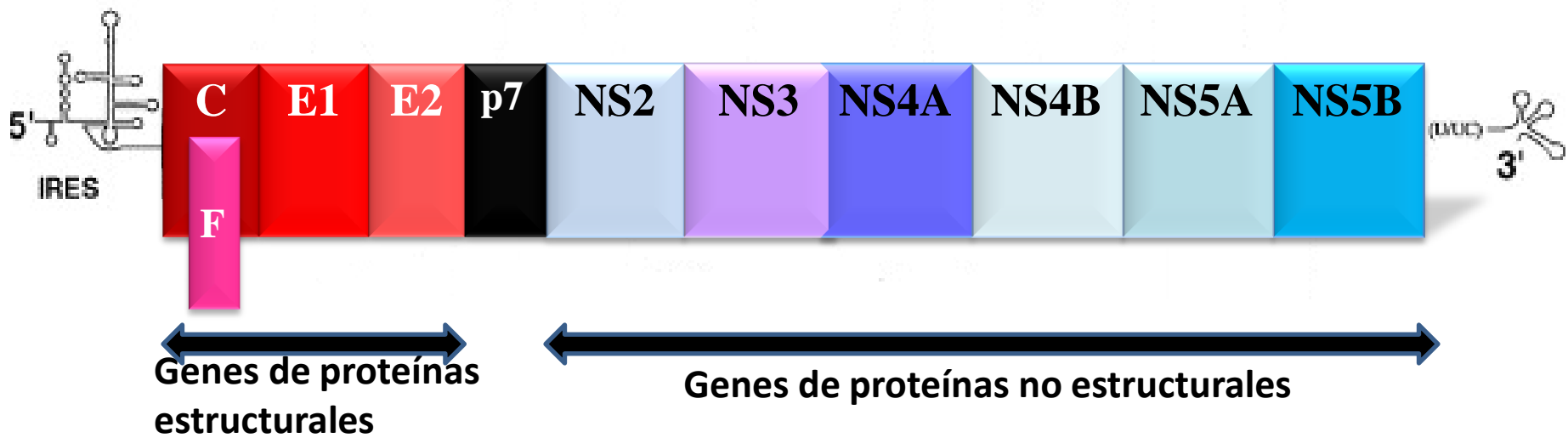
RNA sérico del HCV y lesión hepática en la infección autolimitada



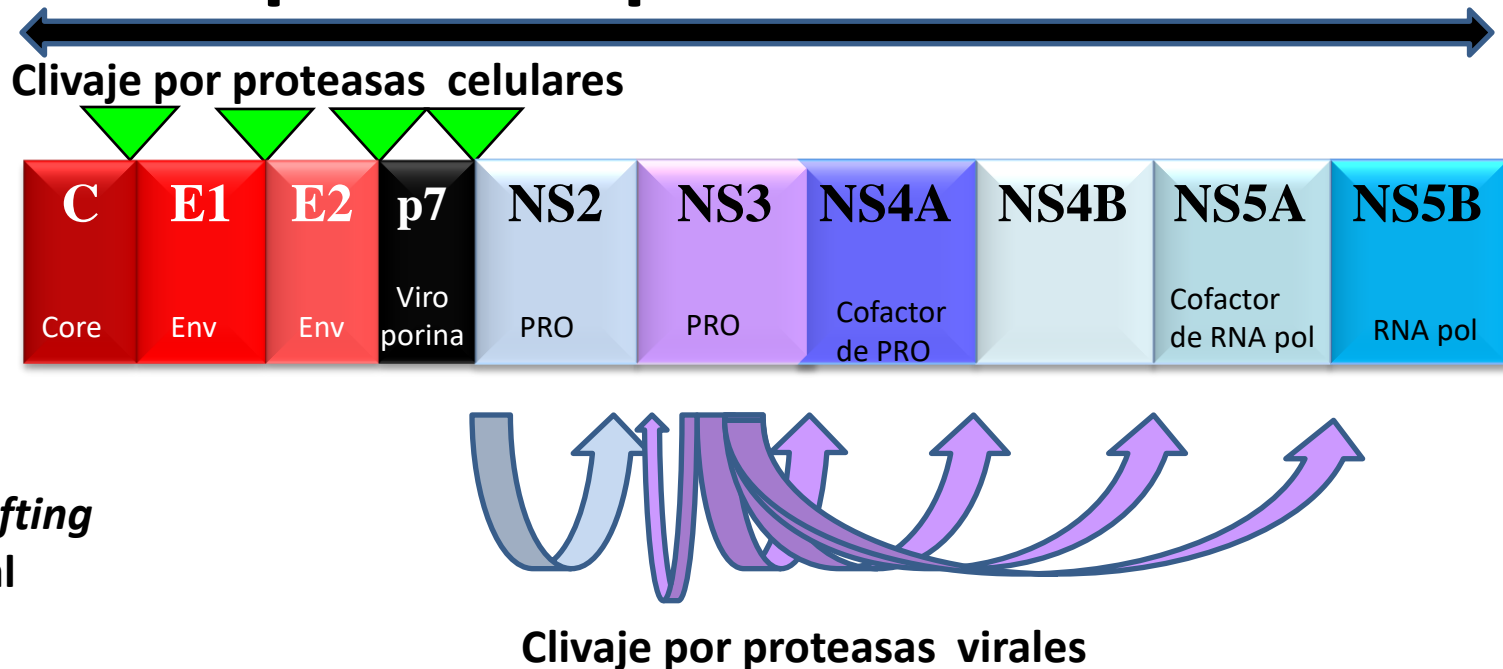
Dinámica viral

	<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 x 10 ¹²	10 ¹¹	10 ¹⁰	1,1 - 12,7 x 10 ¹¹
<i>Células infectadas Vida 1/2</i>	11 - 30 días	10 - 100 días	1,6 días	2,4 - 4,9 días

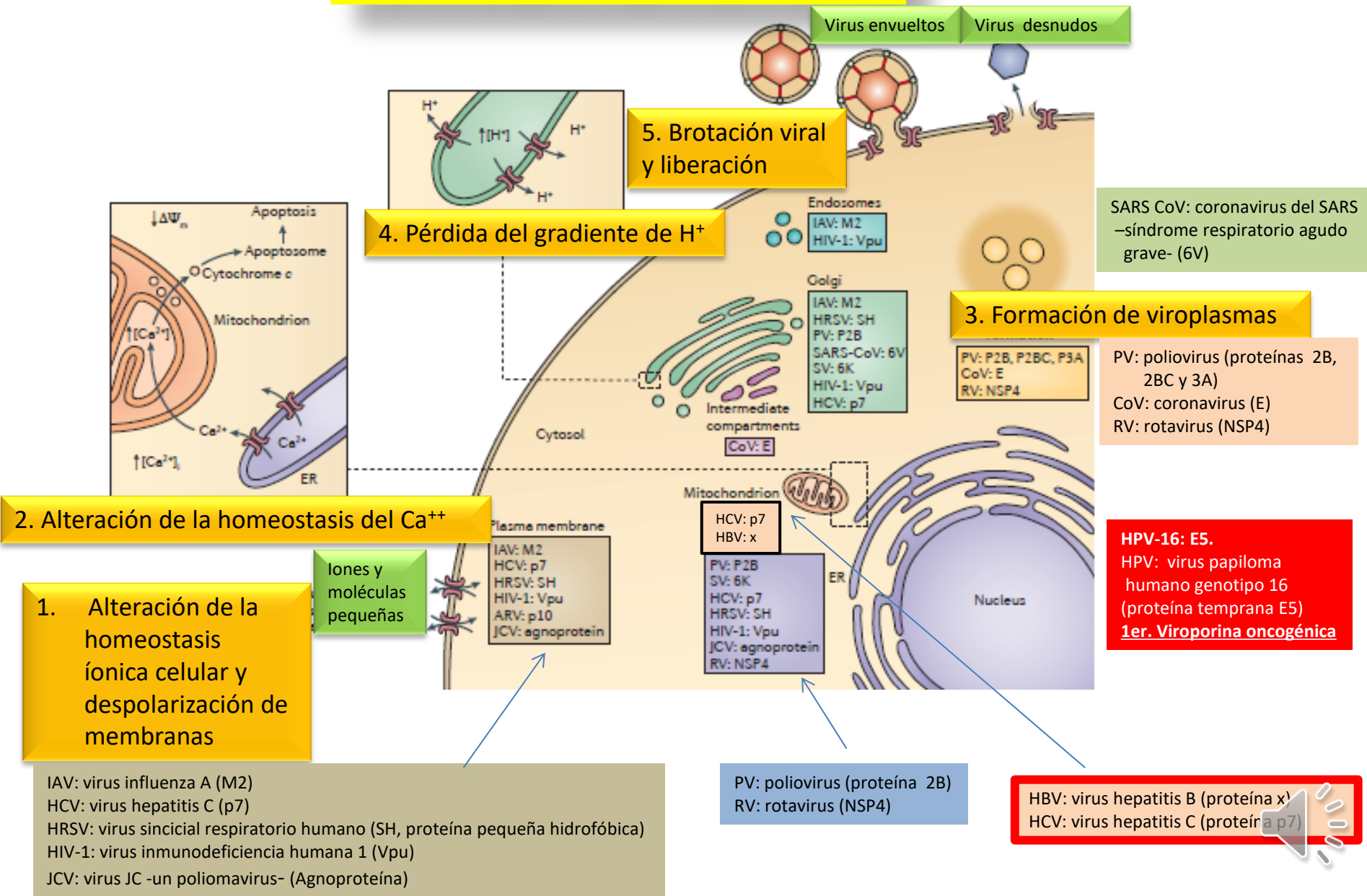




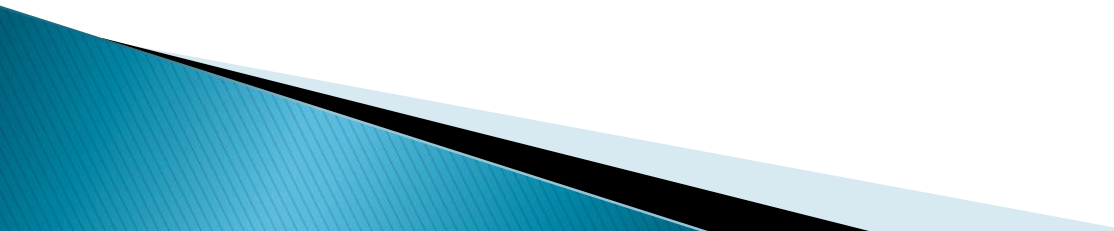
Poliproteína precursora del HCV



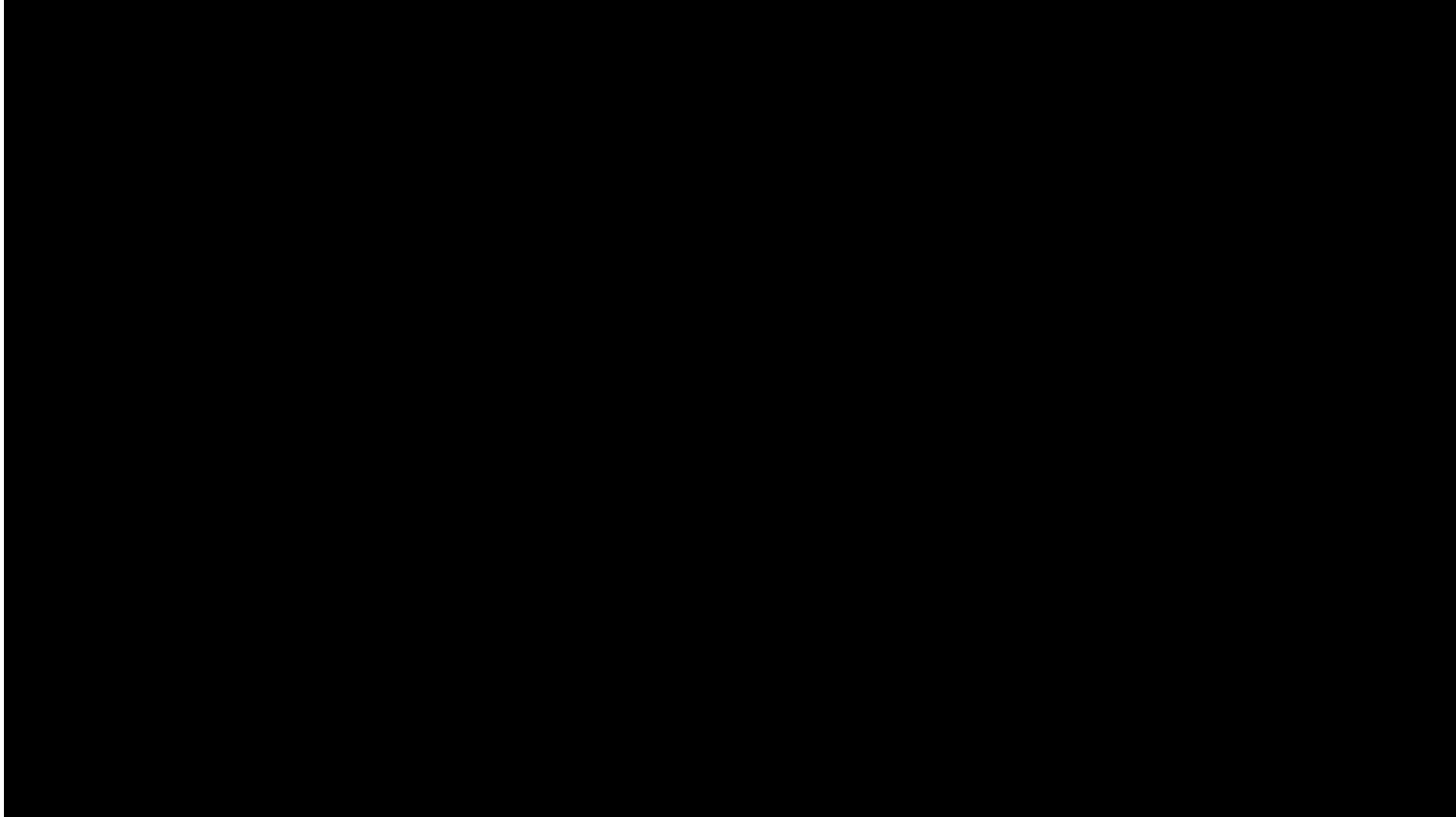
VIROPORINAS

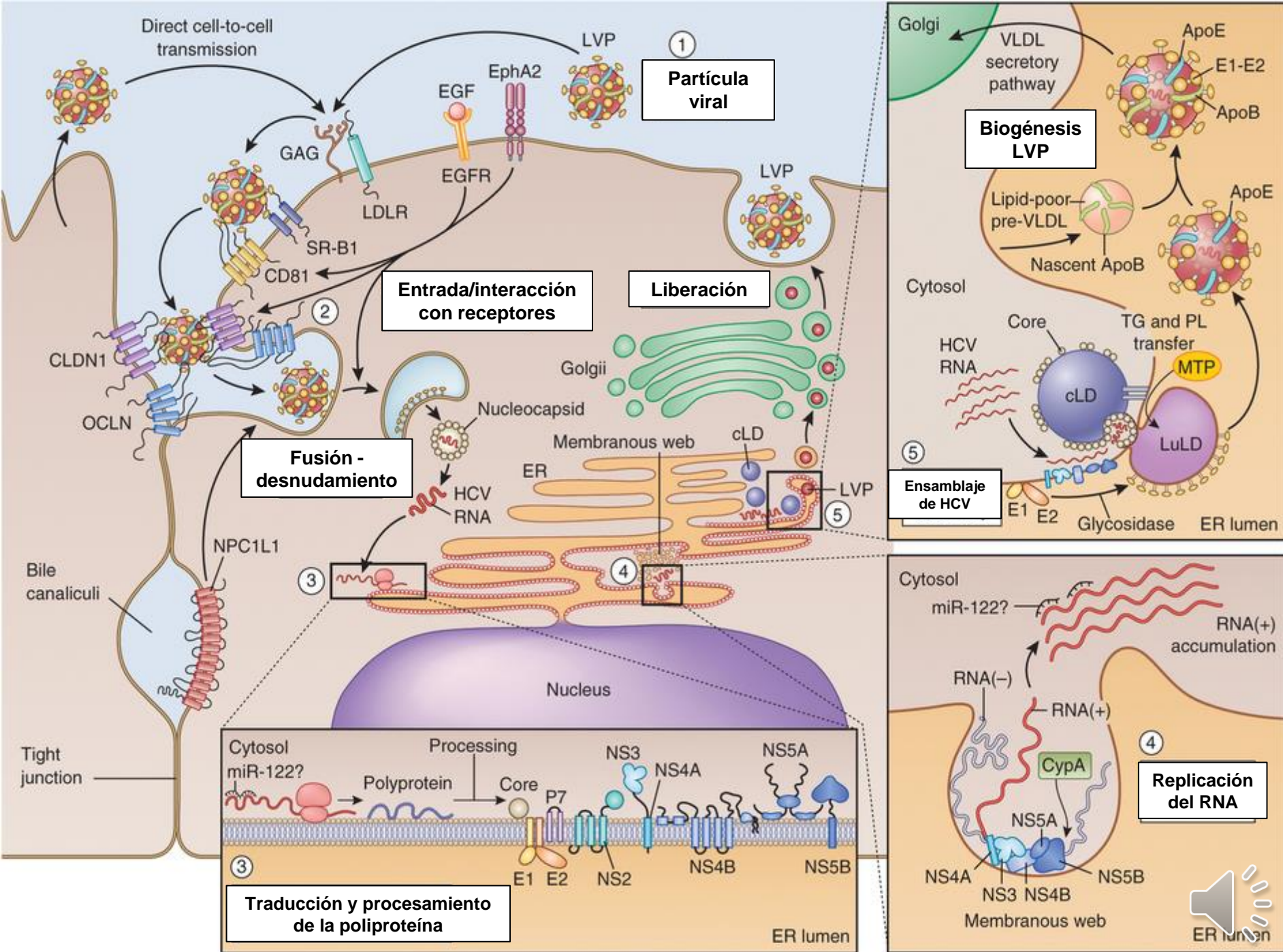


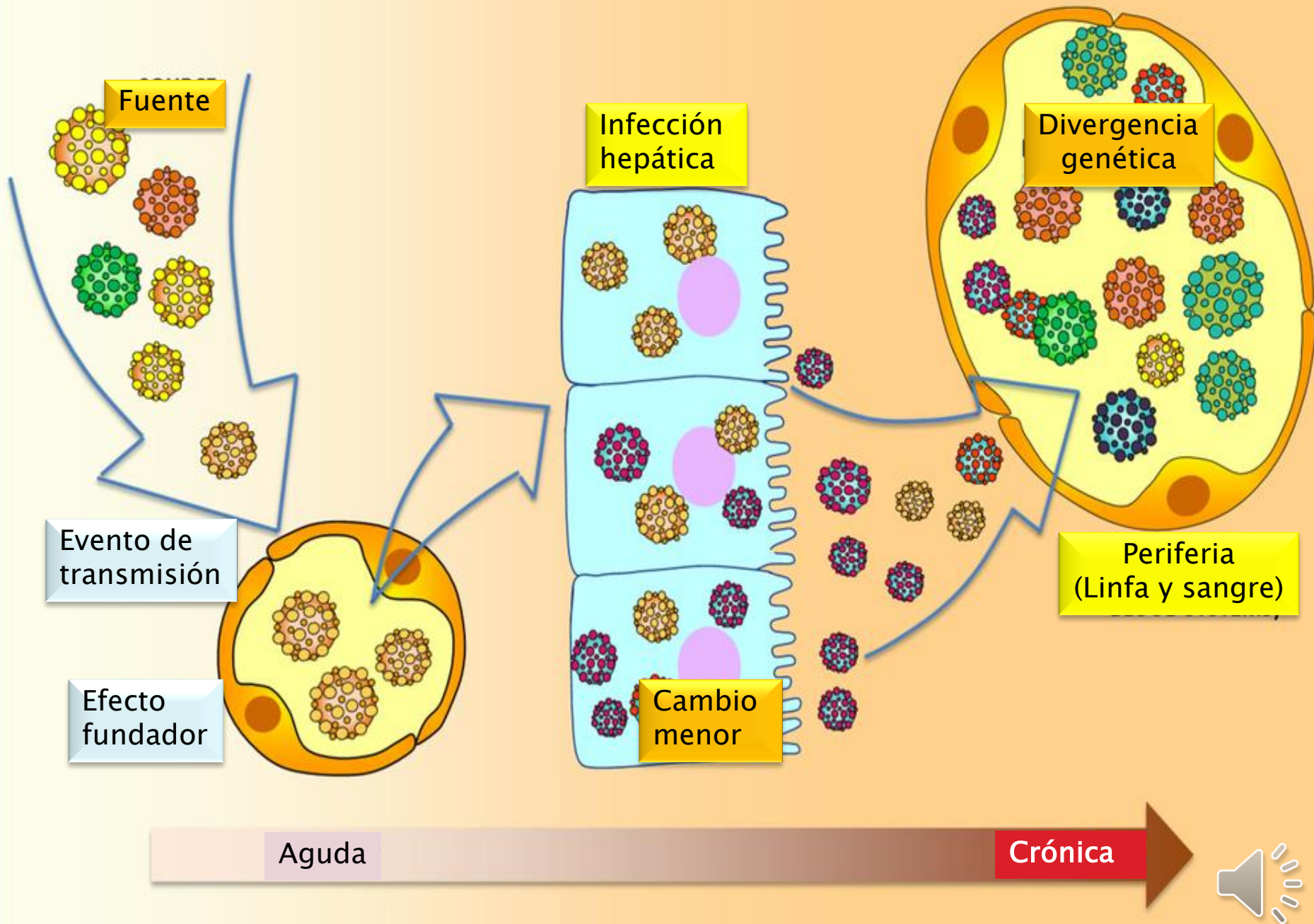
Hepatitis C

- ✓ Estructura y función
 - Replicación viral y sus implicancias en la epidemiología molecular, la patogénesis, el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento
 - Inmunopatogénesis molecular de la hepatitis C a nivel hepático y su relación con el diagnóstico
 - Inmunopatogénesis molecular de las manifestaciones extra-hepáticas
- 

Replicación del HCV: video







HCV
en el
hepatocito



¡No pasa desapercibido!



Ciclo de replicación del HCV

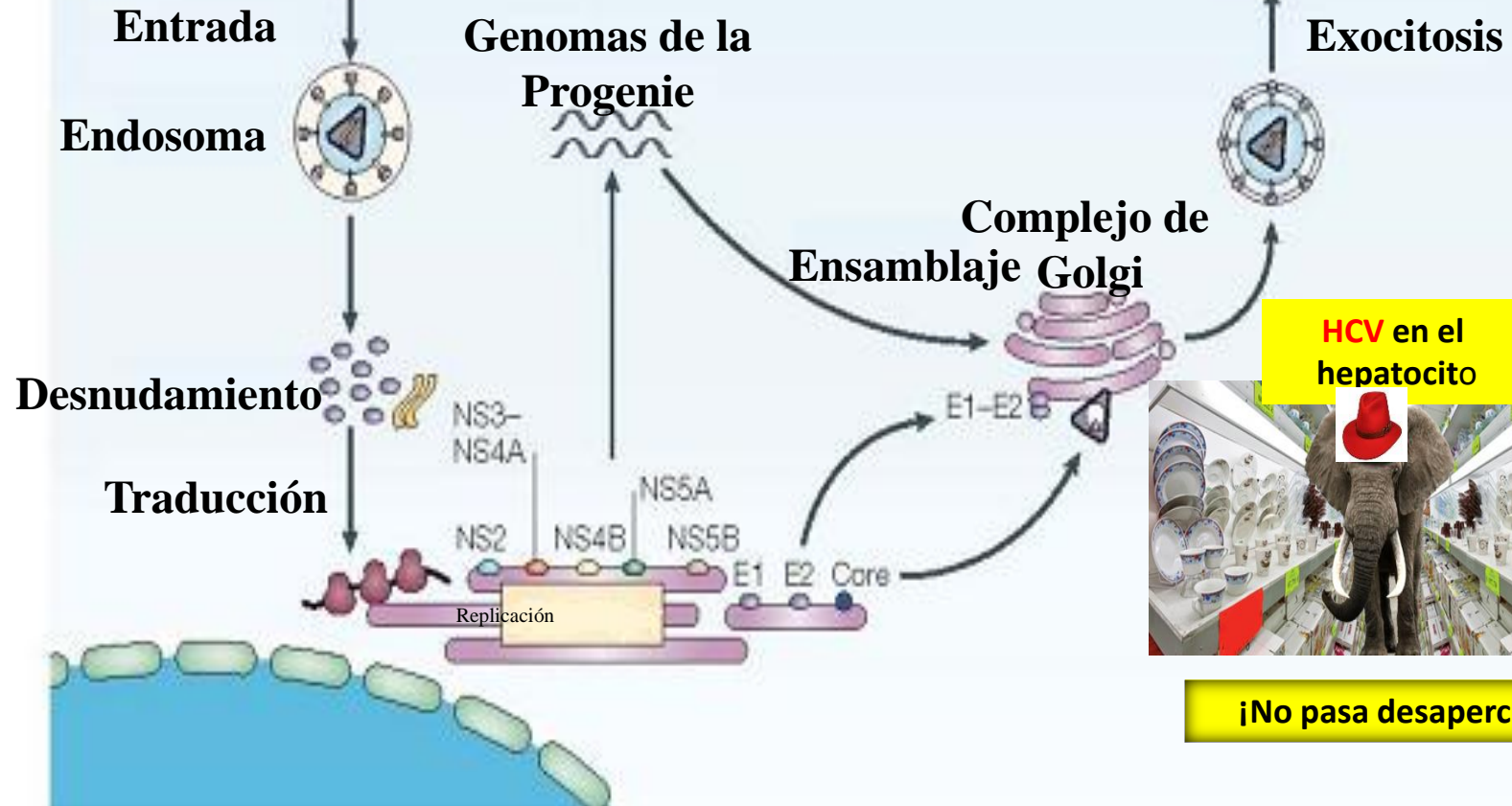
HCV

más

Lipoproteínas

Receptores

y correceptores



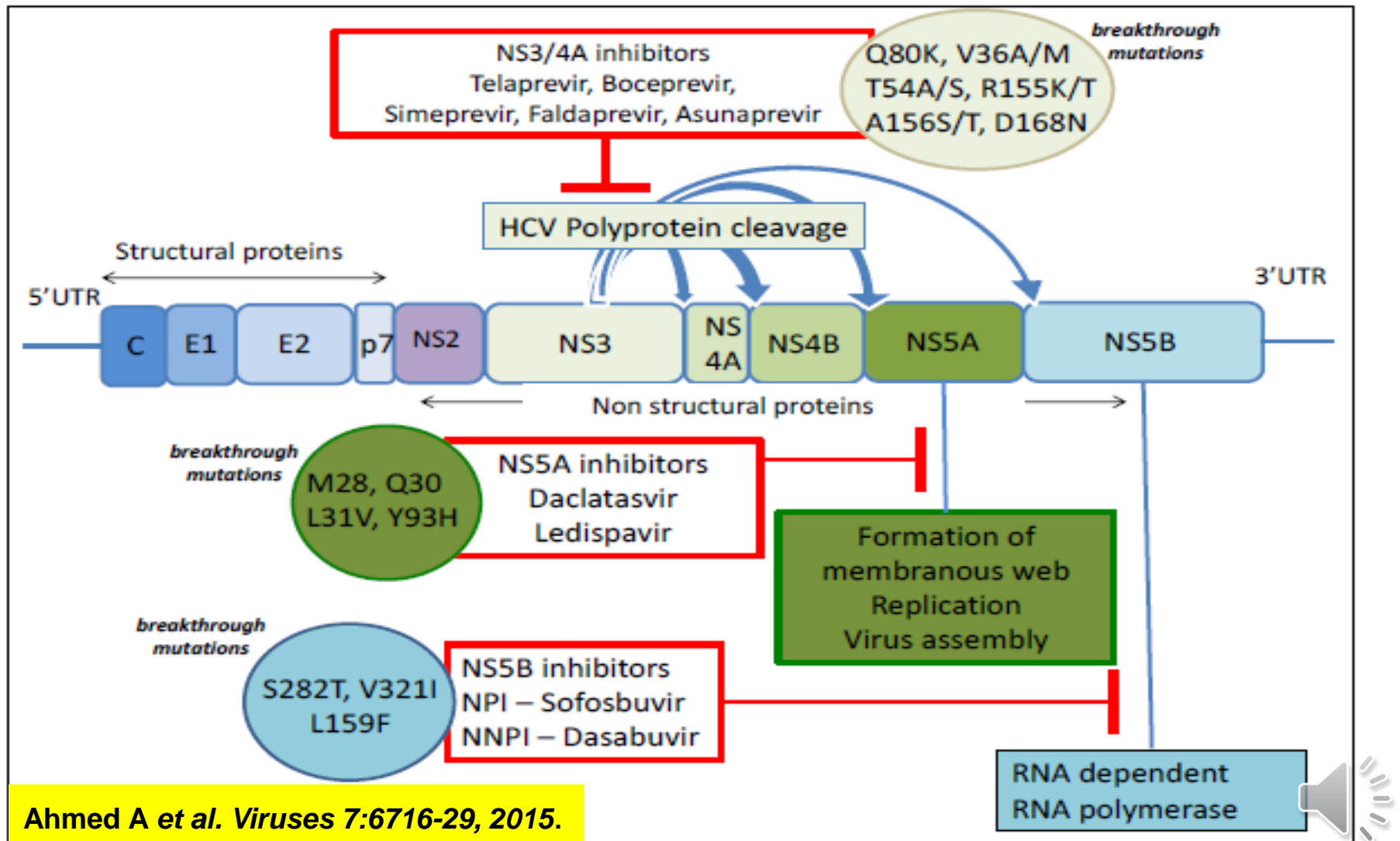
HCV en el
hepatocito



¡No pasa desapercibido!

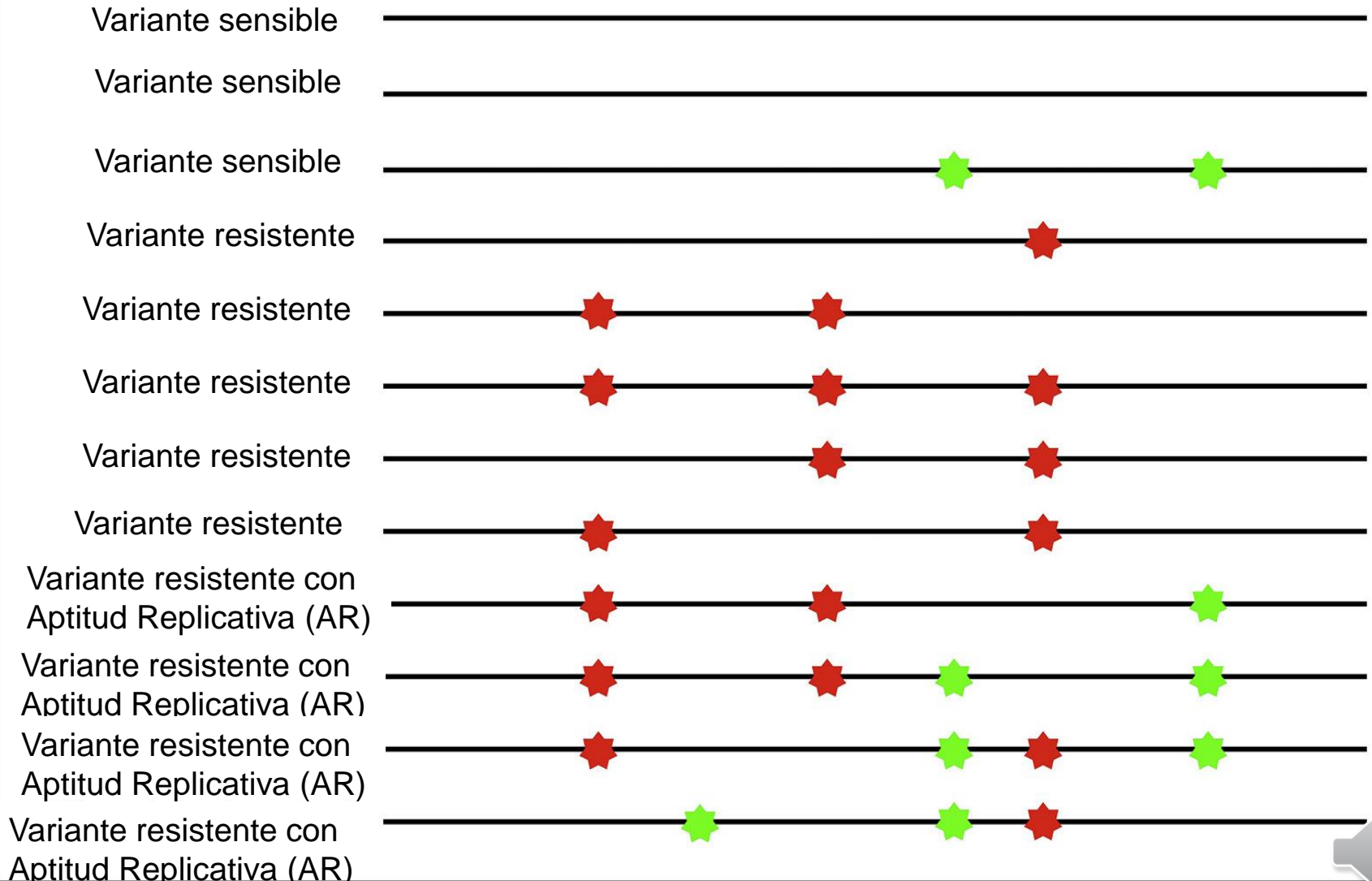


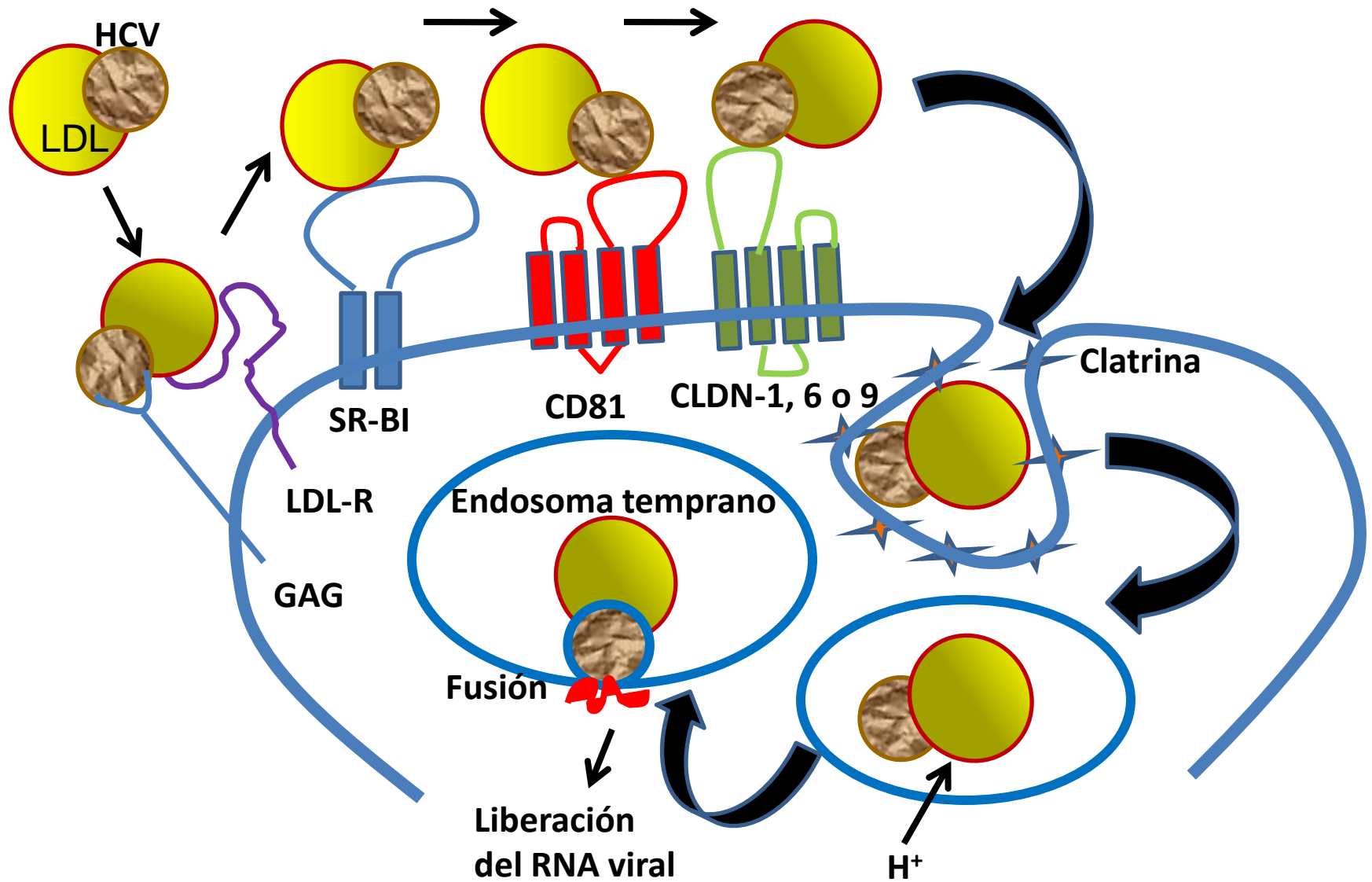
La replicación viral ofrece blancos para la terapéutica (DAADs)

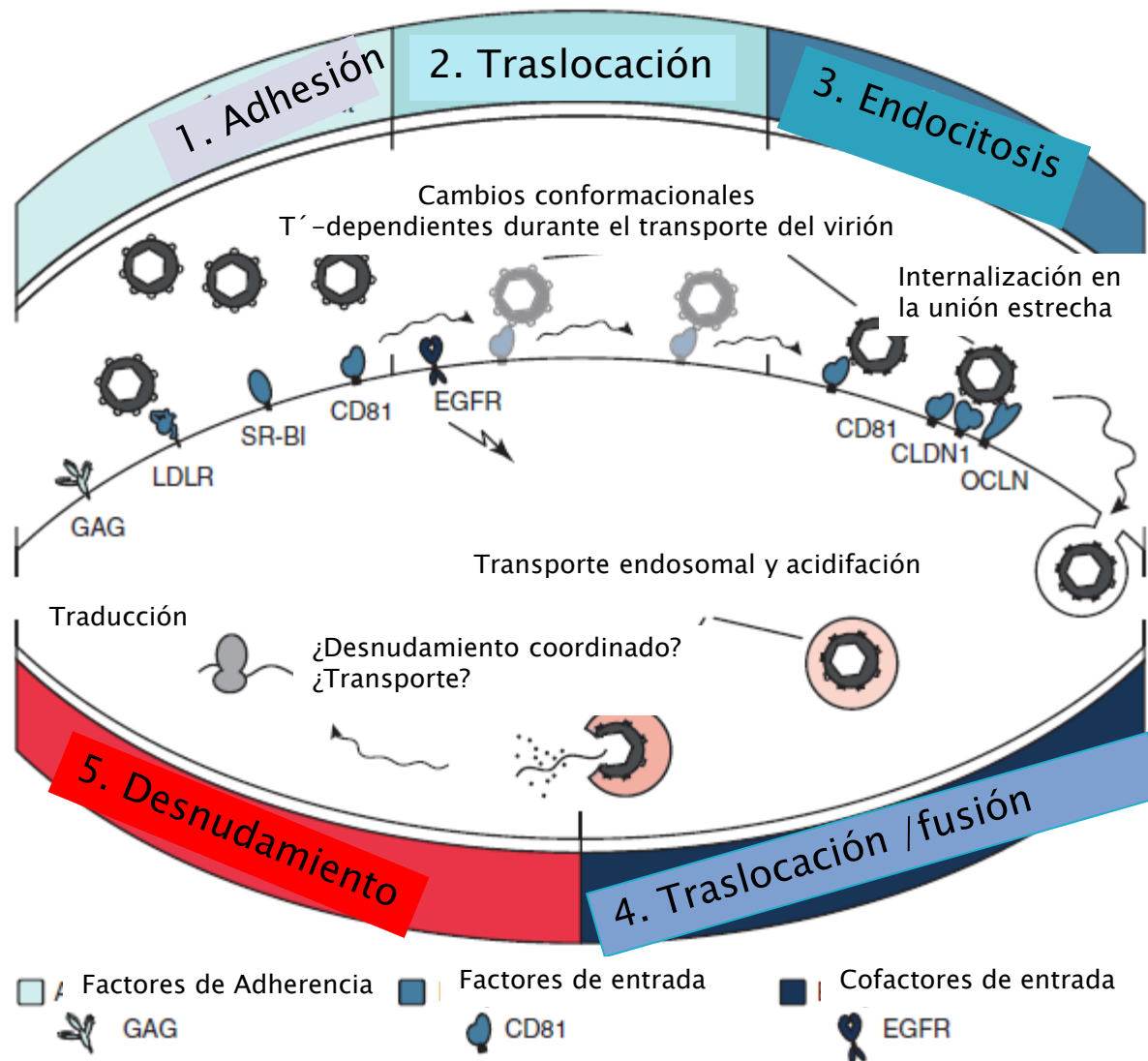


- ★ Sustituciones asociadas a Resistencia (RAS)
- ★ Sustituciones asociadas a la aptitud replicativa (*fitness*)

Cuasiespecies del HCV

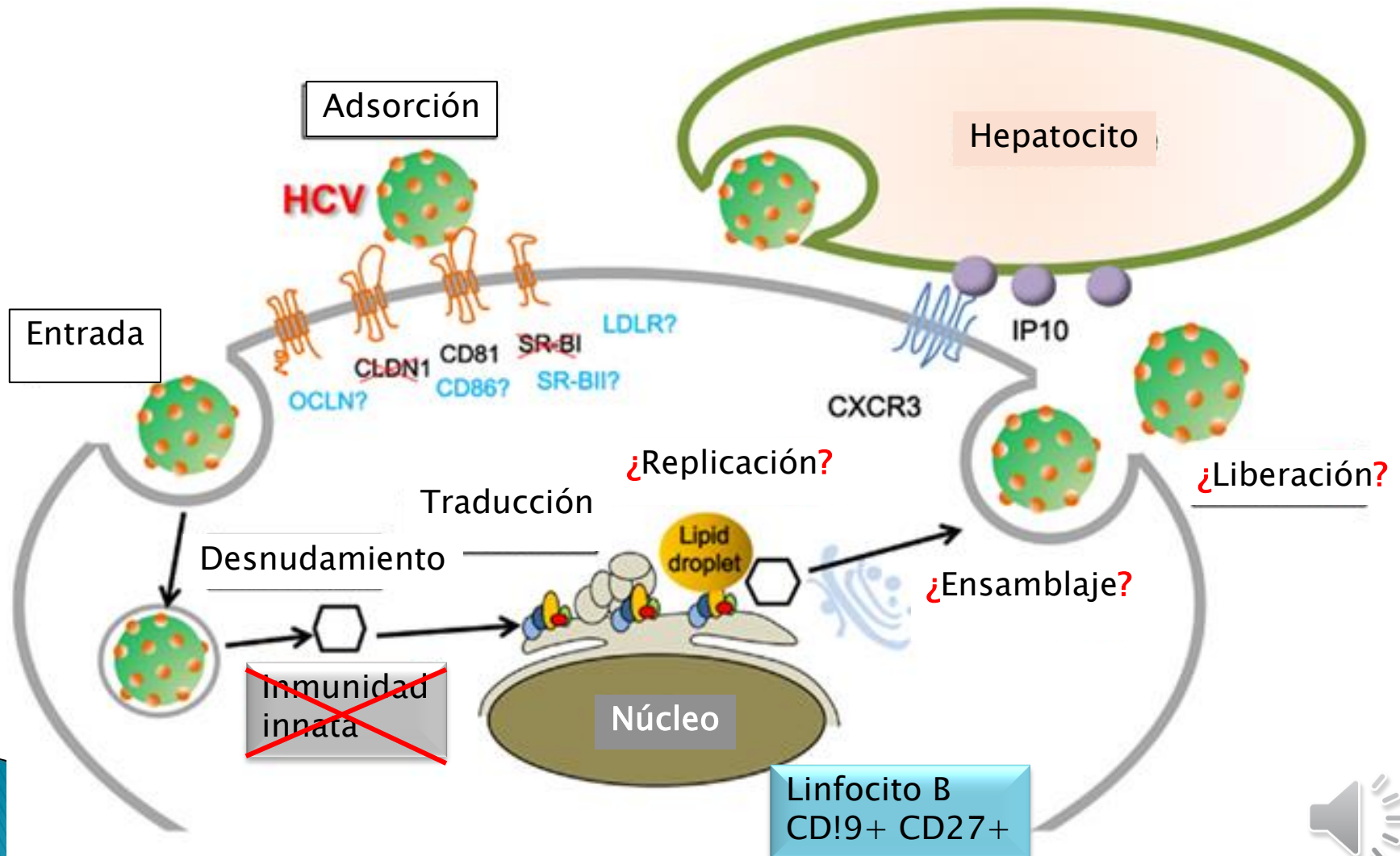




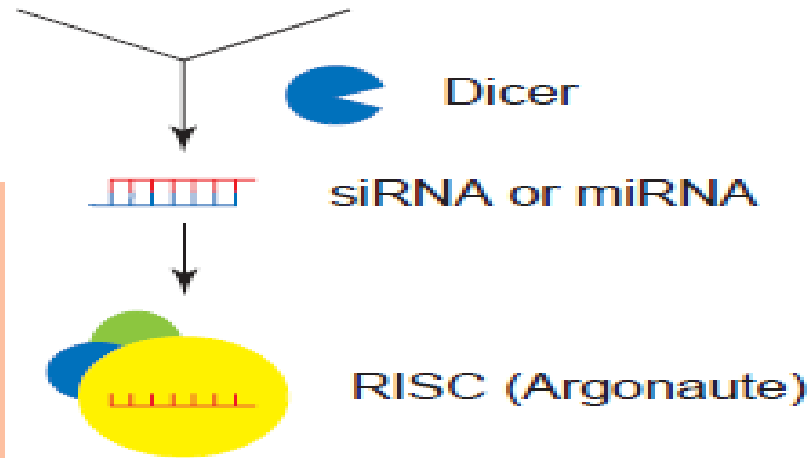
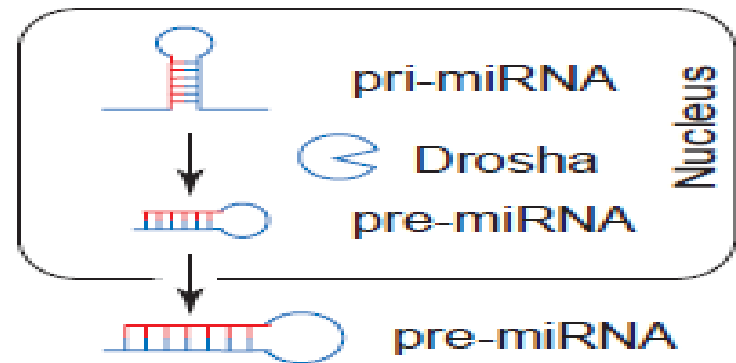
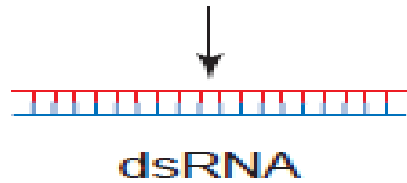


Tropismo celular: hepatocitos, linfocitos B, linfocitos T, macrófagos
Utilización de diferentes receptores celulares y adecuación de E1/E2 viral

CD5 es un receptor para HCV en los LT



Virus



miR122 (celular)
promueve la
replicación del
HCV: ¡BLANCO
TERAPÉUTICO!

Reconocimiento de la secuencia blanco

*Perfecta
complementariedad*

*Imperfecta
complementariedad*

Clivaje del RNA blanco

Inhibición traduccional

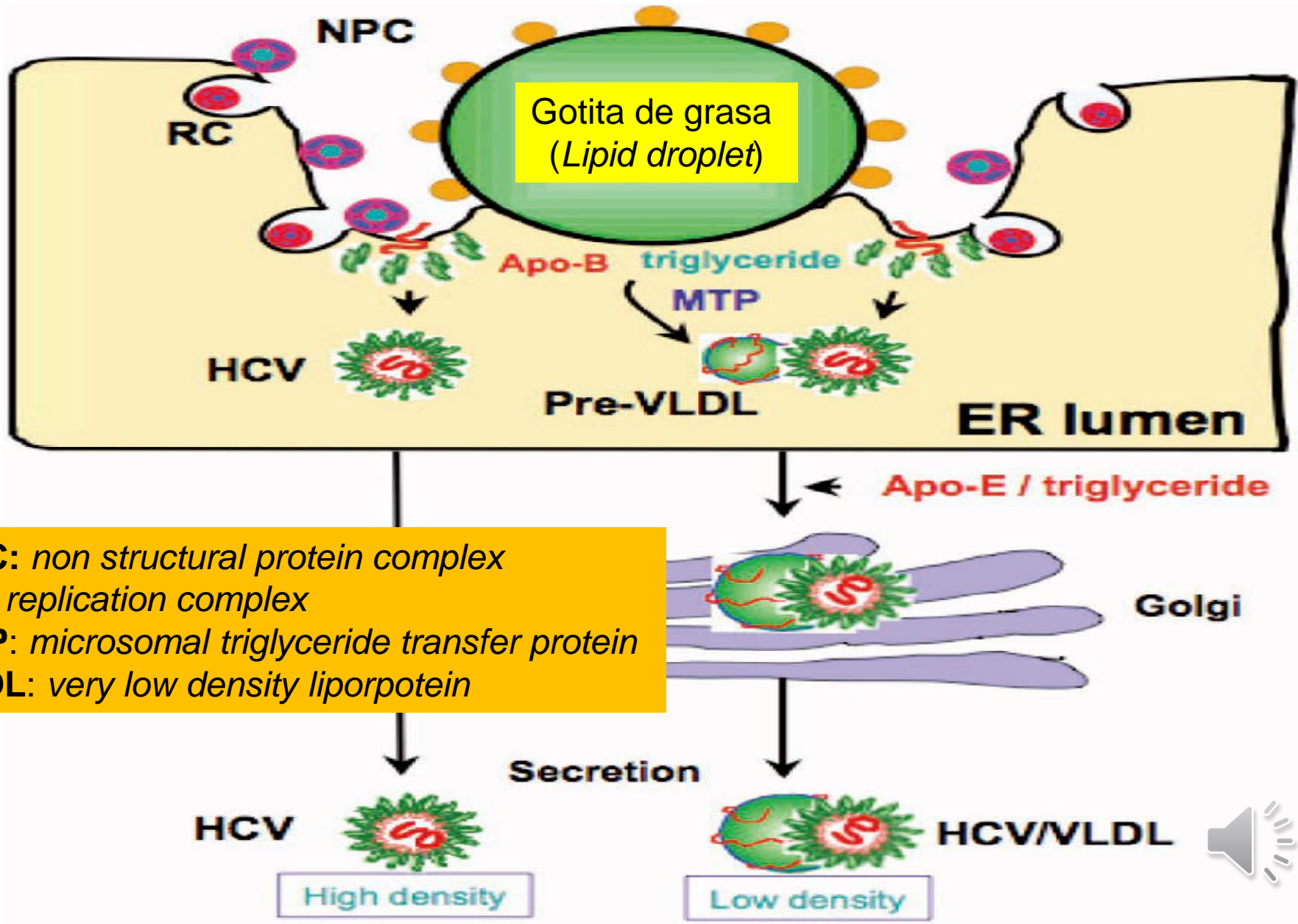
¿Cómo actúan los miRNAs?



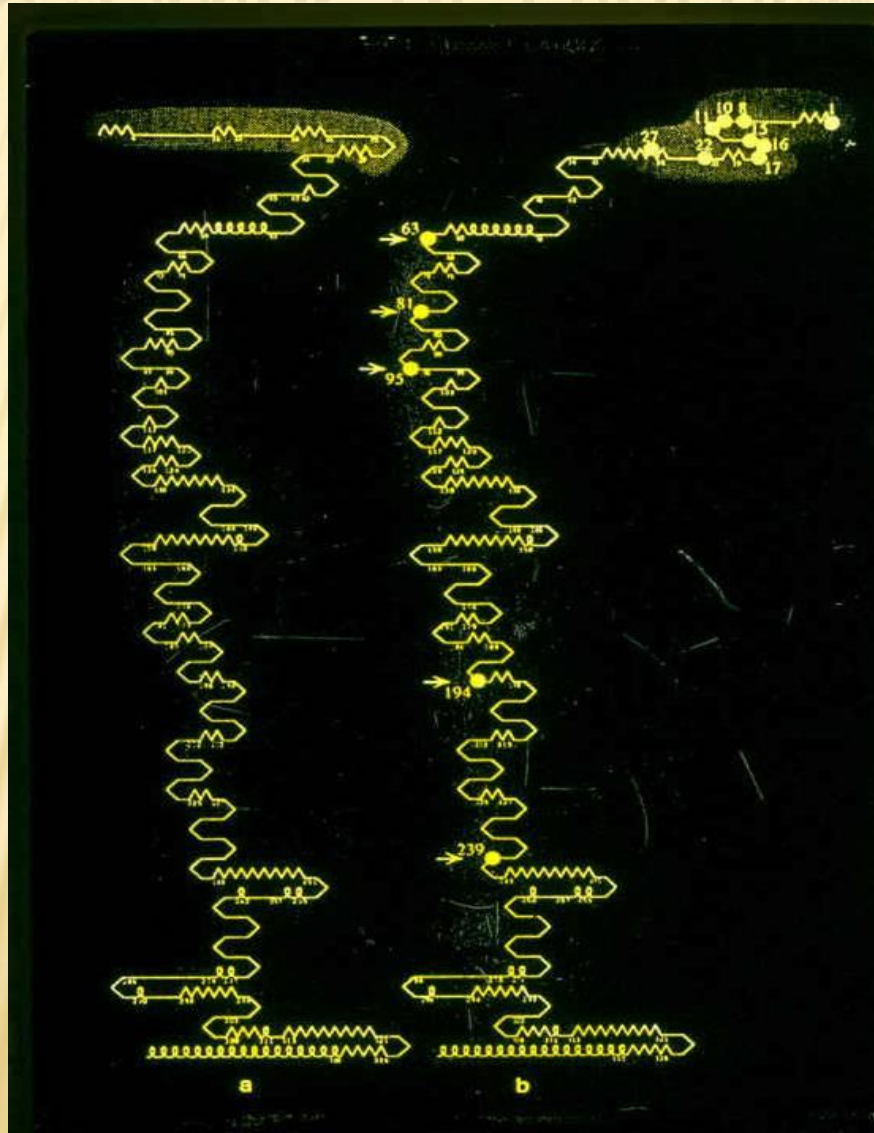
El HCV aumenta las gotitas de grasa:

Fuente: Ogawa et al, Proc Jpn Acad Sci 85,: 217, 2009

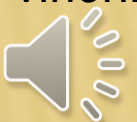
1. Aumentando la lipidogénesis (\uparrow factor transcripcional SREBP por core)
2. \downarrow actividad de MTP (por Core y NS5A)



VARIABILIDAD DE LA ENVOLTURA DE HCV AL CABO DE 8,2 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 virión.



¿Cómo escapar de la Respuesta inmune?

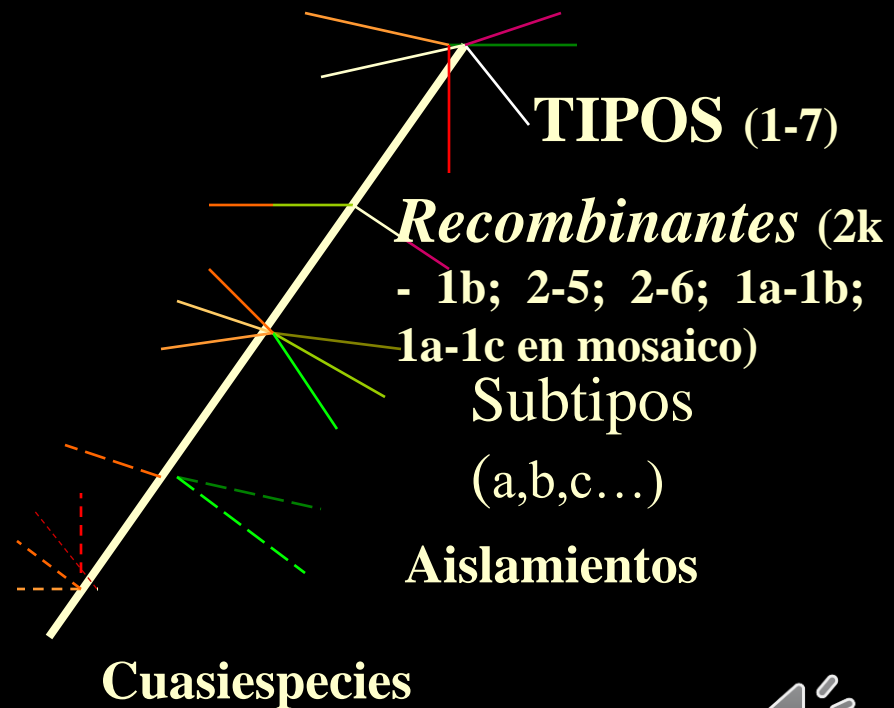


- *Modificación de epítopes T y/o B:*
Mutantes de Escape
para evitar CTLs y
anticuerpos
neutralizantes

¿Causa o consecuencia de la persistencia viral?



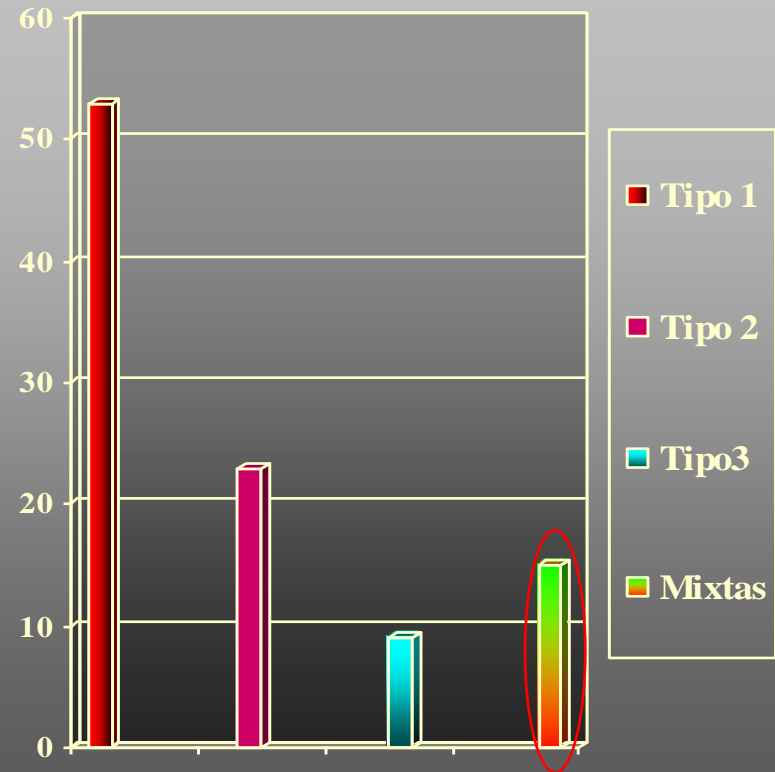
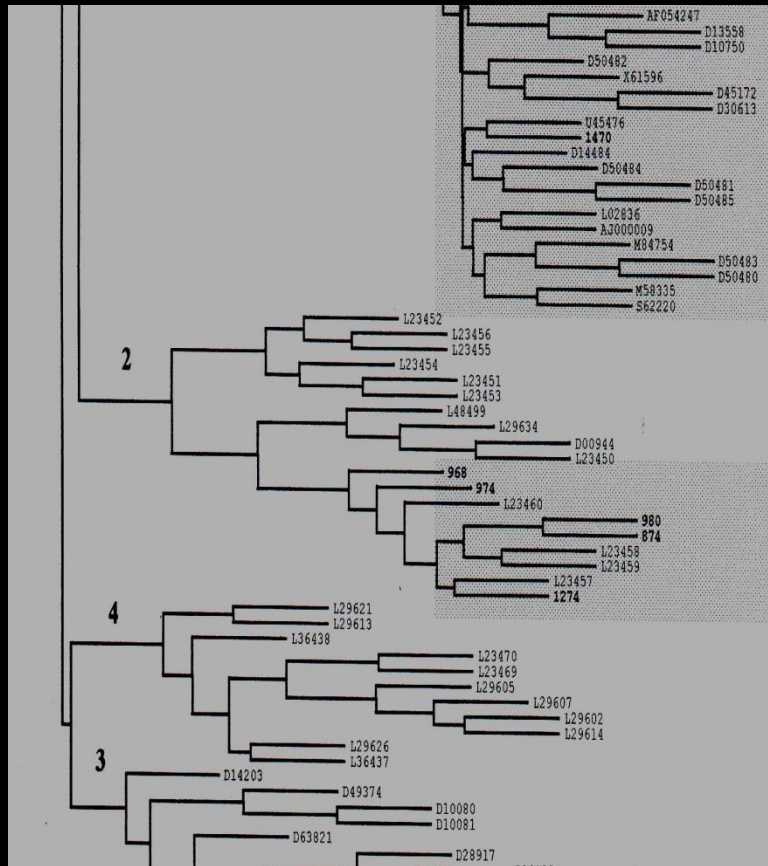
Diversidad del HCV



Variabilidad y diversidad



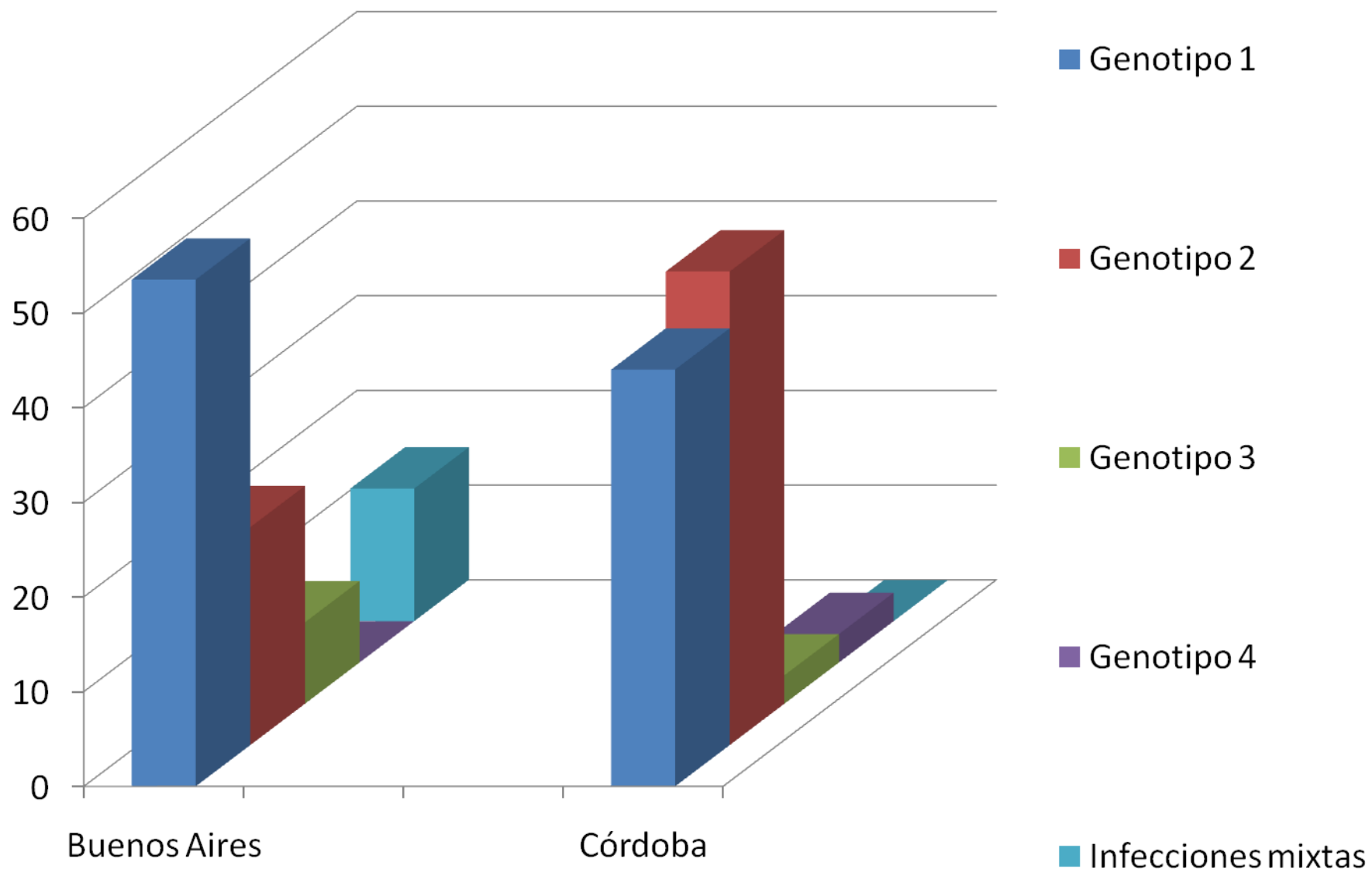
Prevalencia genotípica de HCV en Buenos Aires, Argentina



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





Variabilidad del HCV

- *Cambios menores:* y

ARN polimerasa

(VHC): $1 \text{ c}/10^3 - 10^4$
nt/sitio/año (genómico)

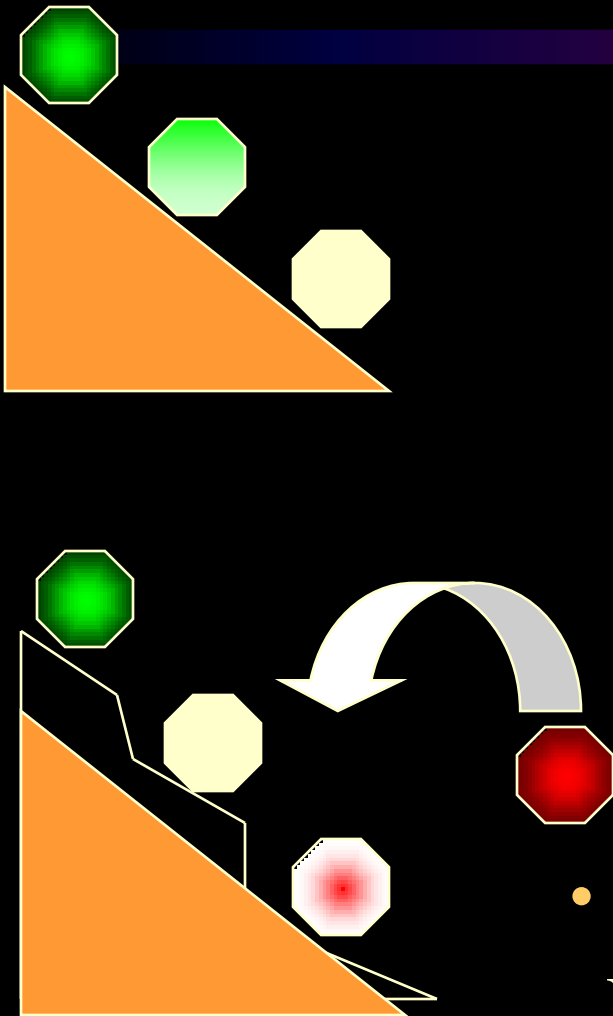
Presión de selección
de la Rta. Inmune (Ag)

CUASIESPECIES

CAMBIOS MAYORES

Rta. Inmune

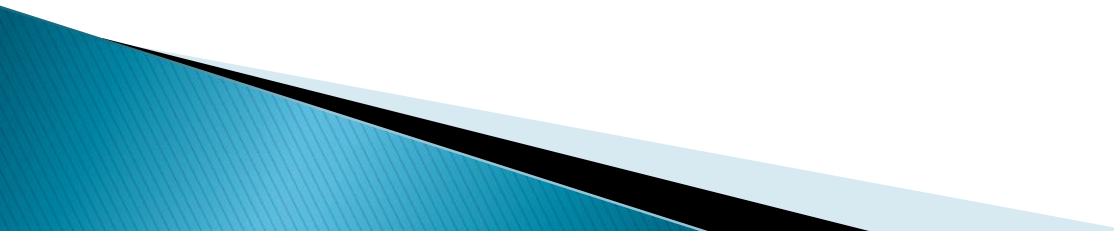
Recombinación



Variabilidad y diversidad



Hepatitis C

- ✓ Estructura y función
 - ✓ Replicación viral y sus implicancias en la epidemiología molecular, la patogénesis, el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento
 - Inmunopatogénesis molecular de la hepatitis C a nivel hepático y su relación con el diagnóstico
 - Inmunopatogénesis molecular de las manifestaciones extra-hepáticas
- 

Infección por HCV



Hígado normal

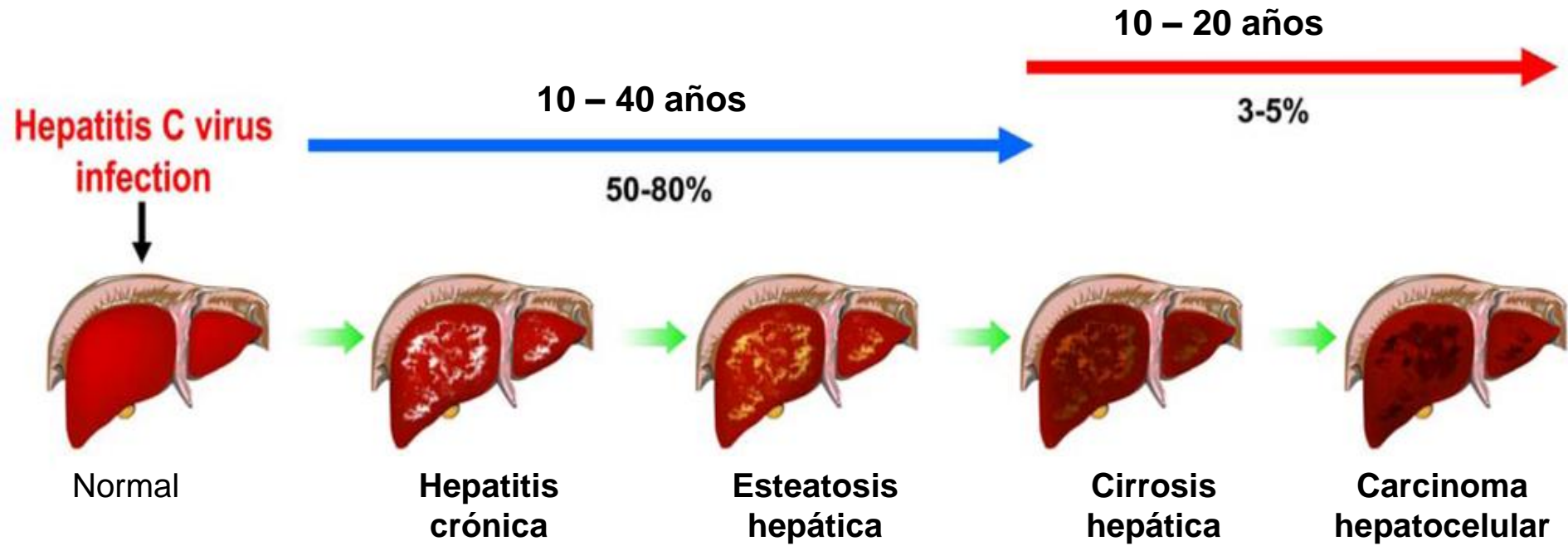
¿Por qué puede evolucionar a la cronicidad?



50 nm



Historia natural de la infección por HCV



¿Por qué?



Patogénesis de la infección por HCV

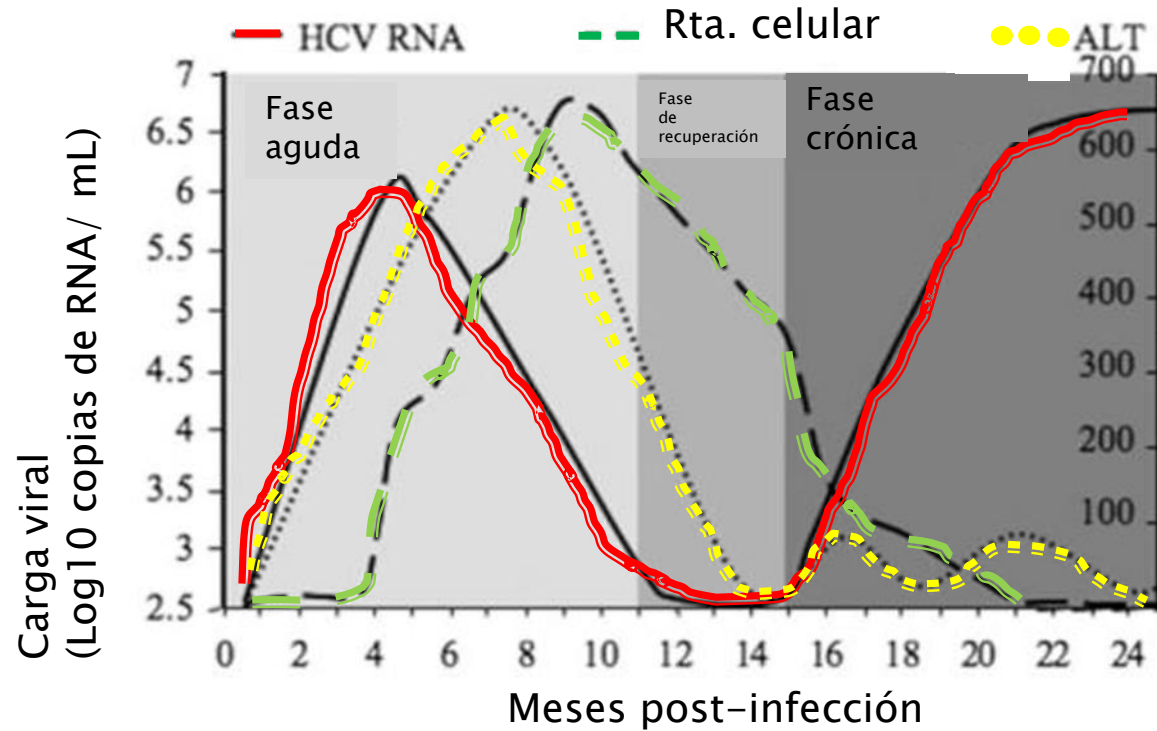
Hepática:

- ✓ Hepatitis aguda
- ✓ Hepatitis crónica
- ✓ Esteatosis
- ✓ Insulino-resistencia
- ✓ Diabetes *mellitus* tipo II
- ✓ Cirrosis
- ✓ Hepatocarcinoma celular (HCC)

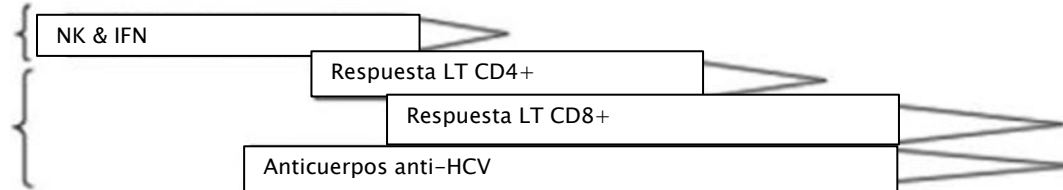
Extra-hepática

- Crioglobulinemia mixta
- Vasculitis
- Poliarteritis nodosa
- Glomerulonefritis
- Artritis
- Linfomas
- Compromiso del SNC: depresión, ansiedad, fatiga crónica
- Liquen plano
- Otras dermatopatías





Inmunidad
innata
 Inmunidad
adaptativa



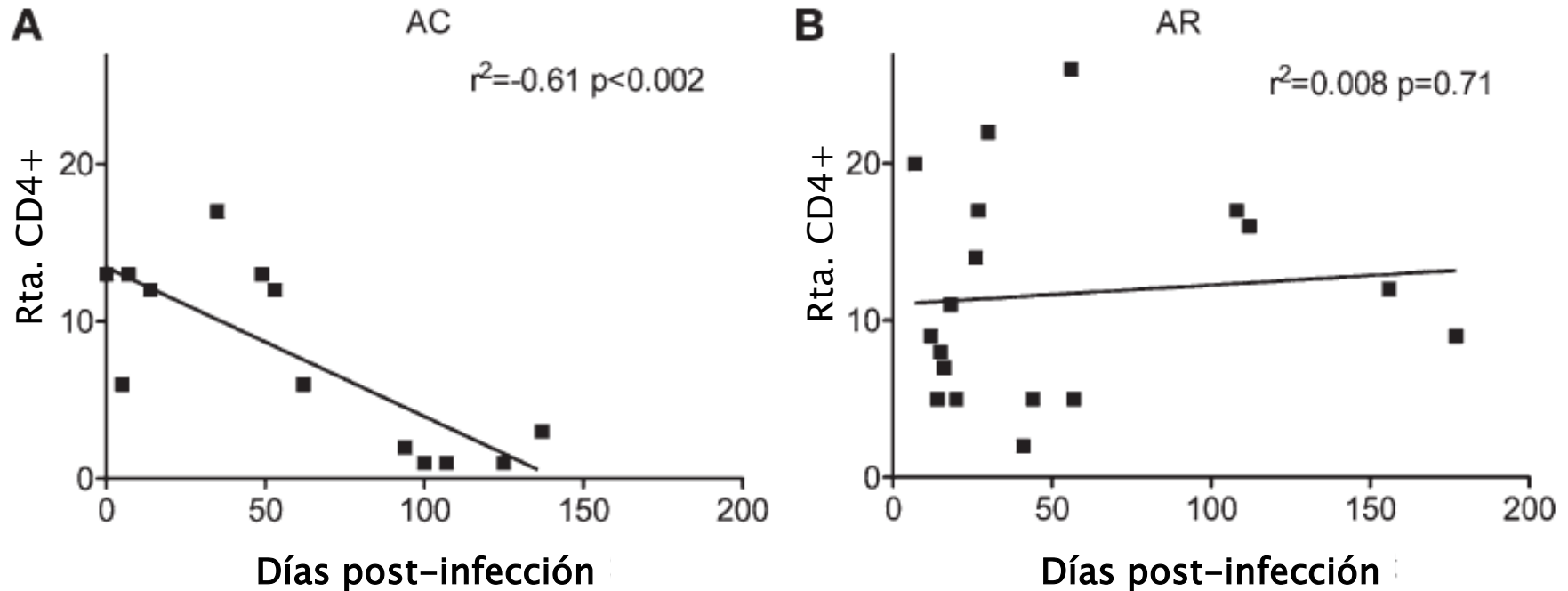
Supresión por proteínas virales
 Inducción de Treg
 Expresión de PD-1
 Mutaciones virales
 Exceso de Ag virales

Inmunidad

Tolerancia a
Ag virales

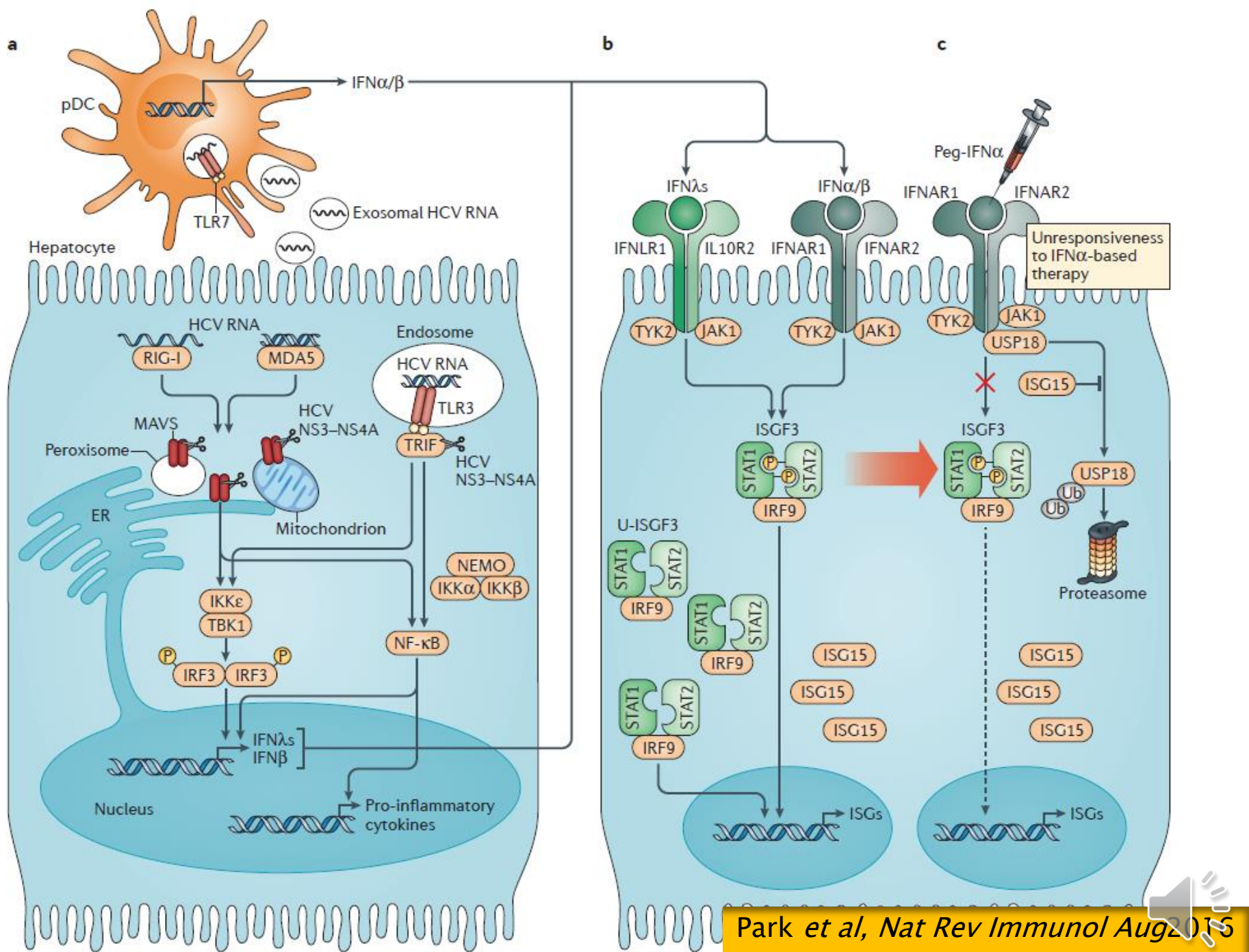


La importancia de la respuesta de LT CD4+ en la infección por HCV



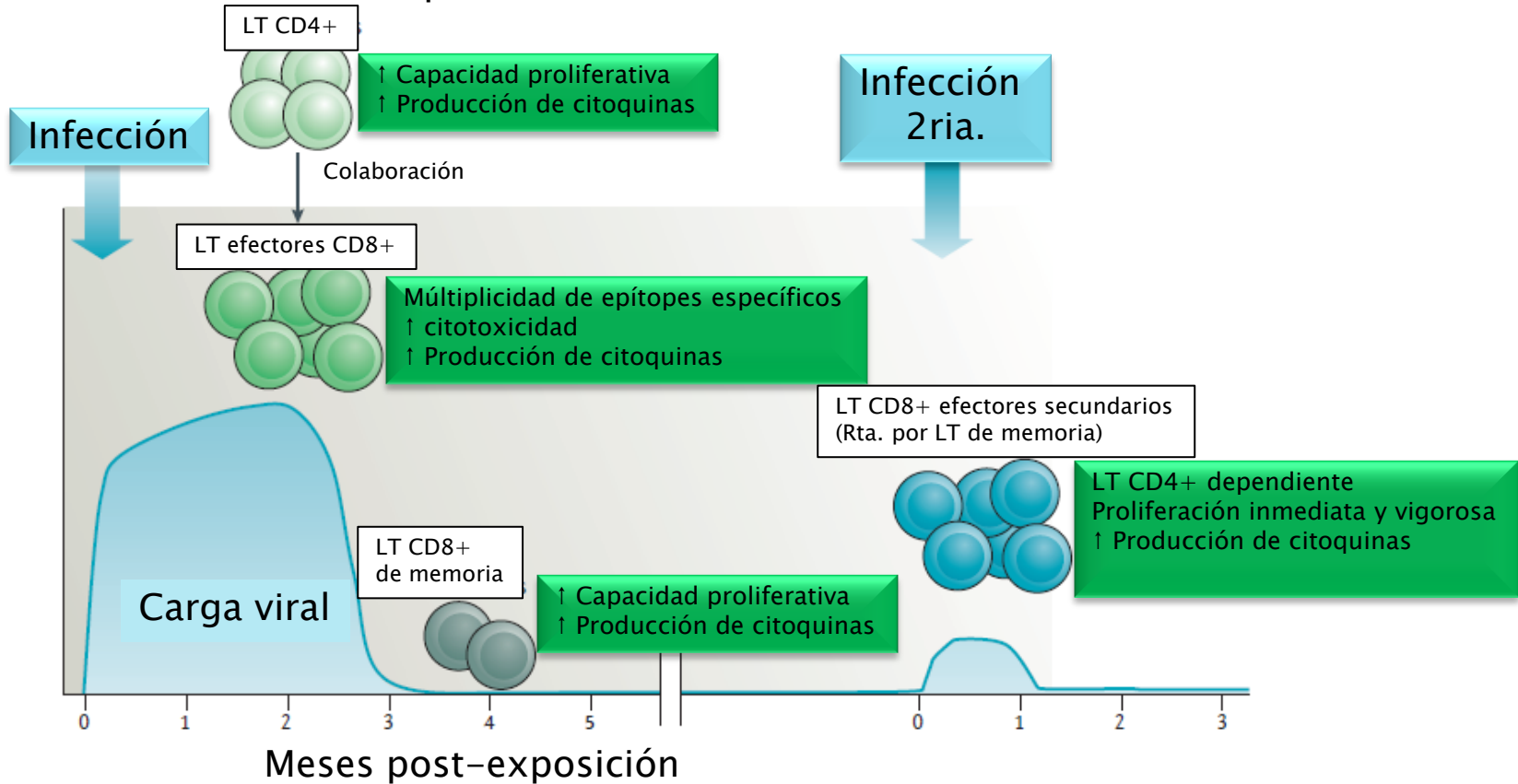
AC: infección aguda que evoluciona a la cronicidad

AR: infección aguda que se autolimita



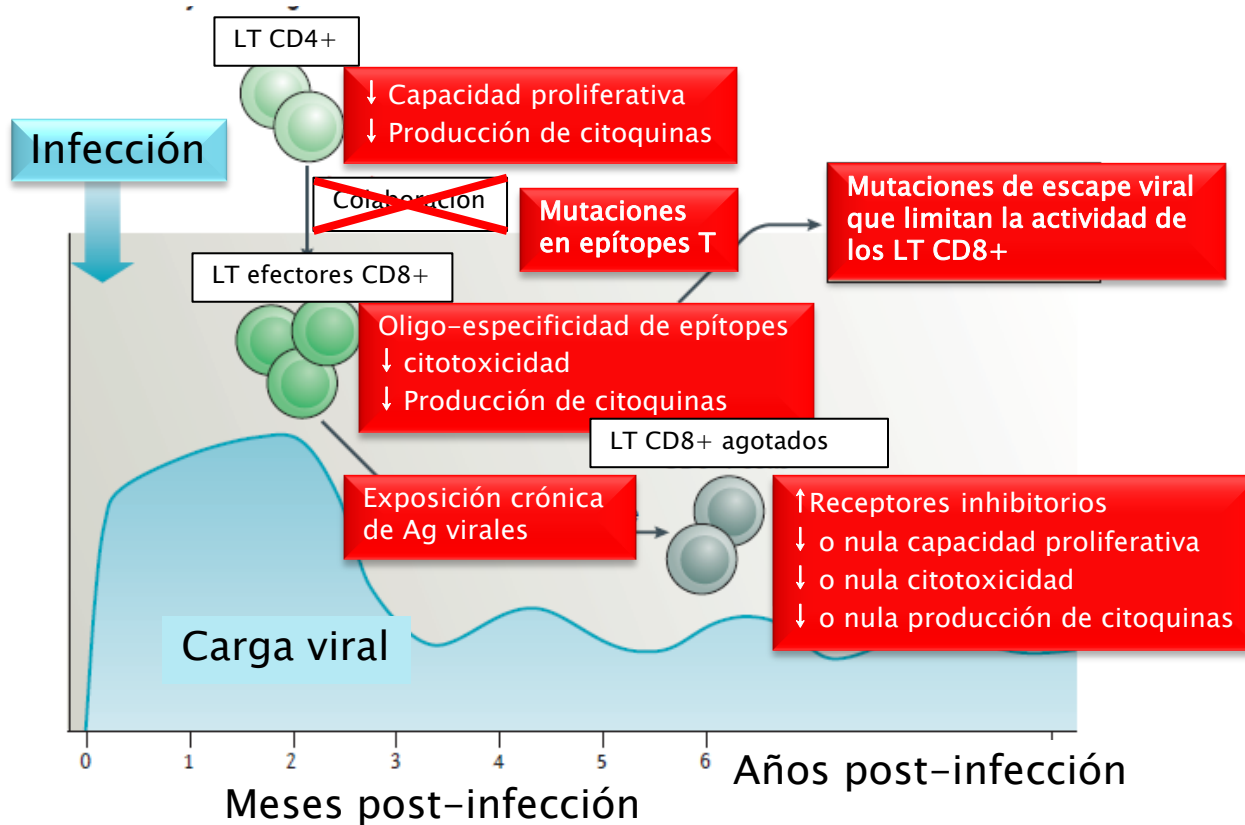
Hepatitis C aguda autolimitada

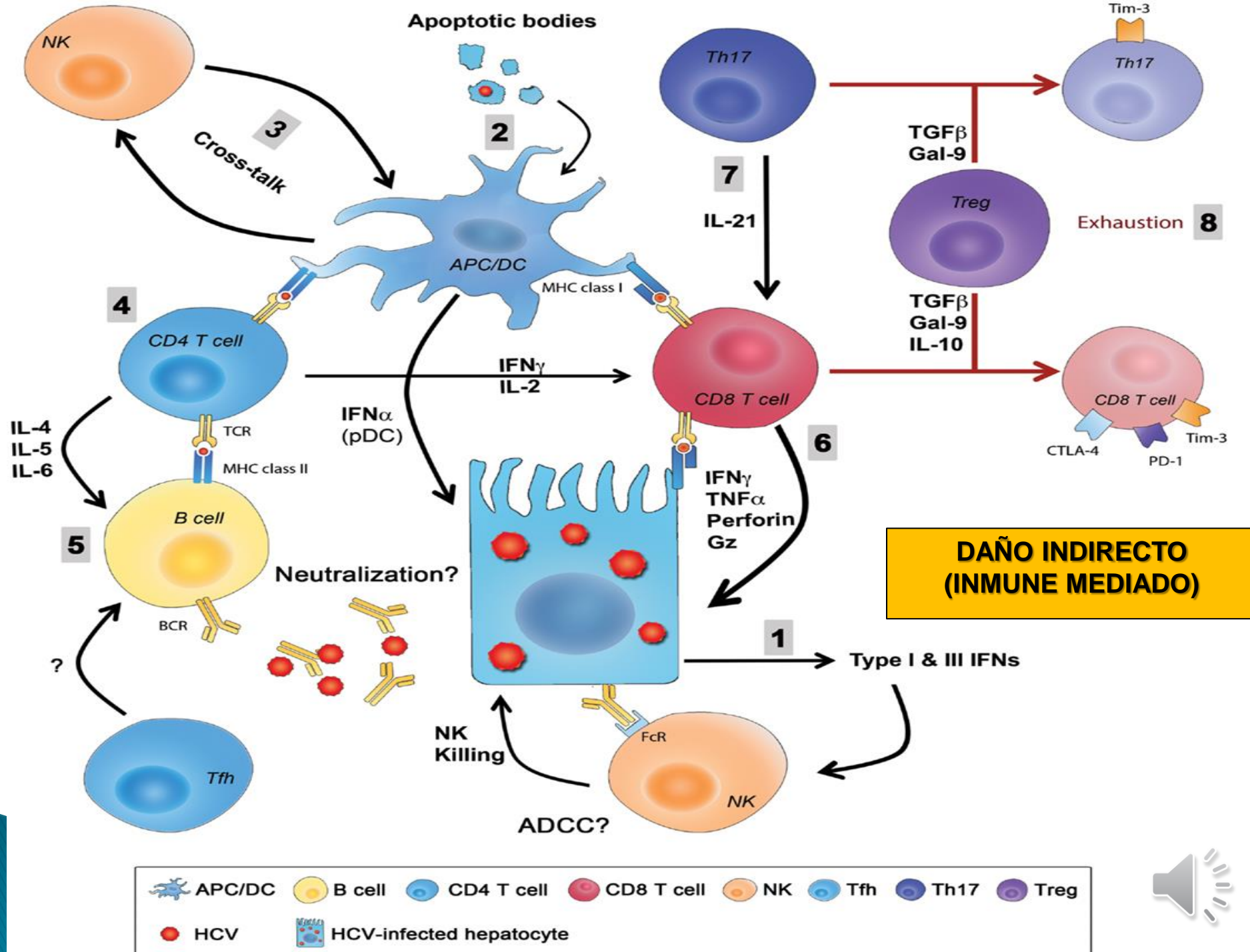
Infección autolimitada por HCV



Hepatitis C crónica

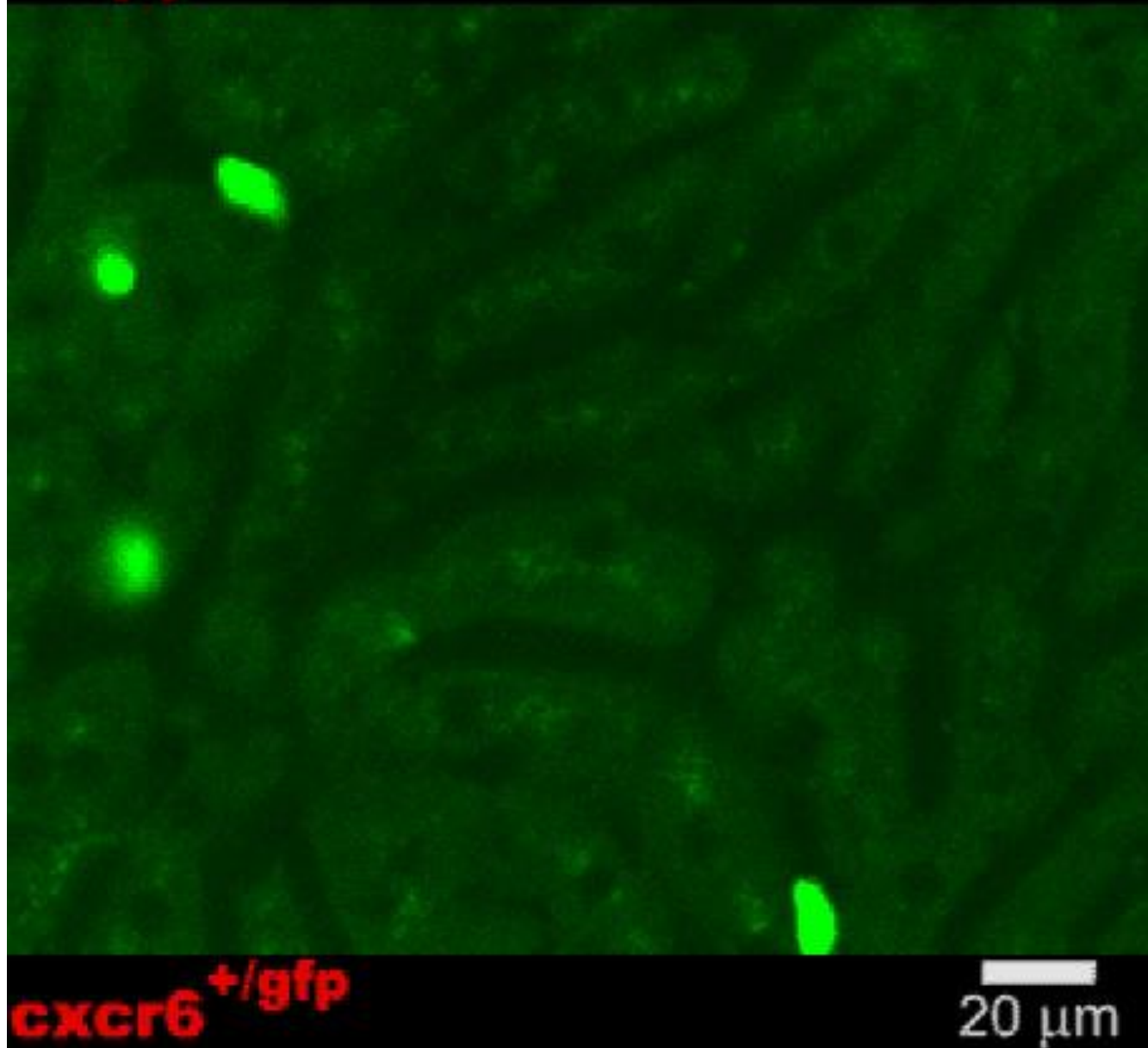
Infección por HCV que evoluciona a la cronicidad



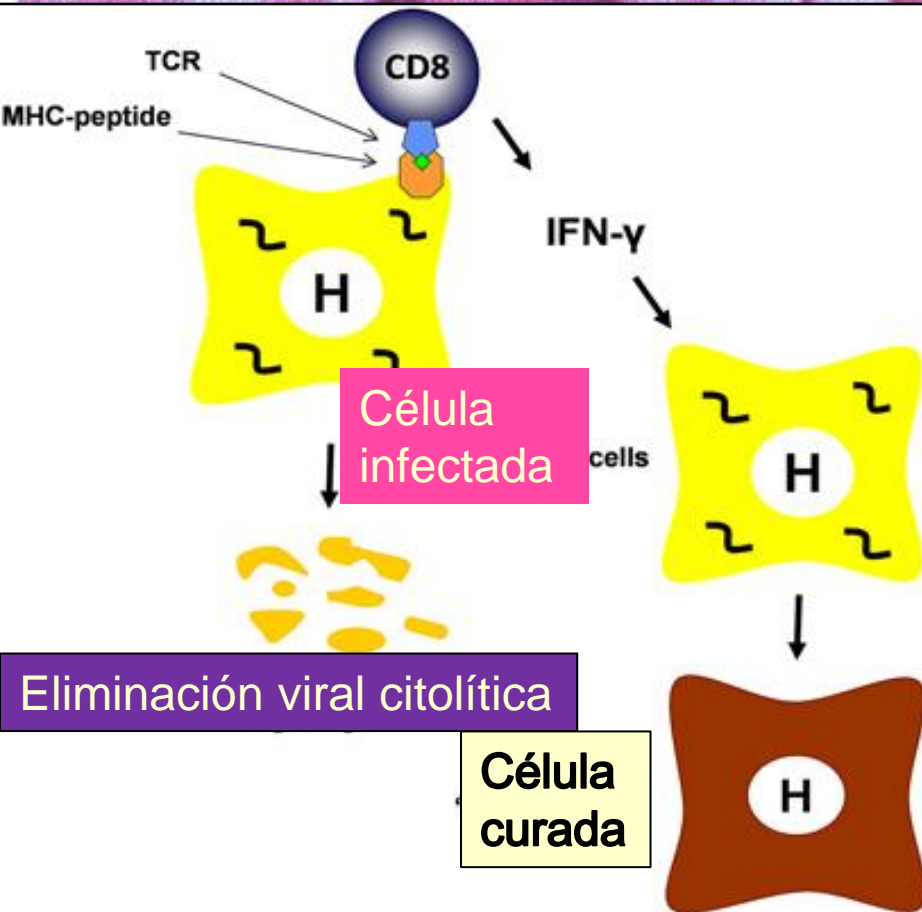


Supplemental Movie 1 0 min

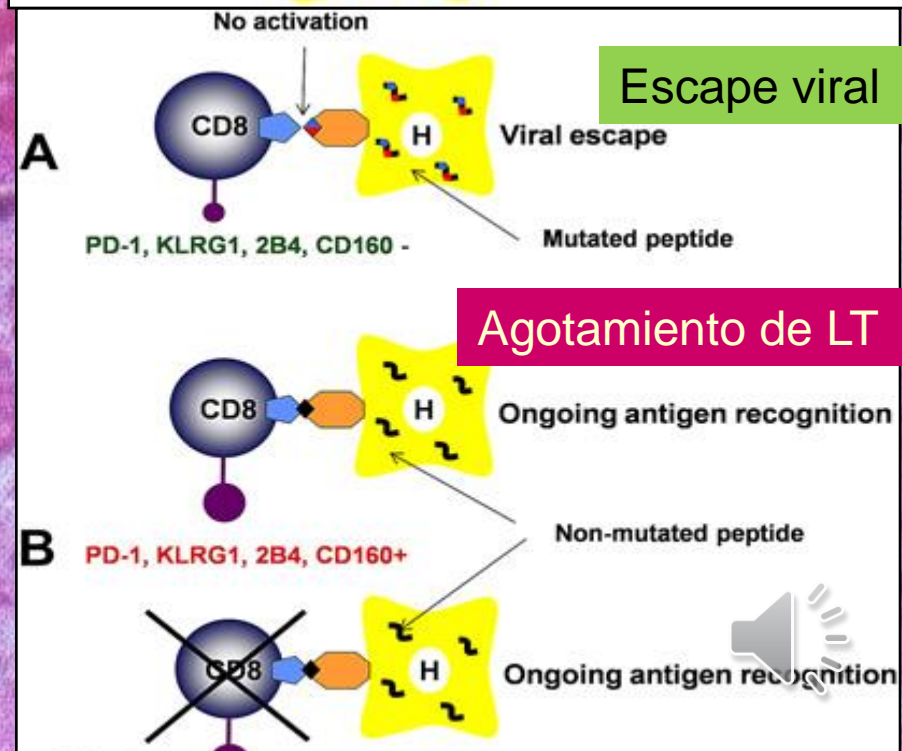
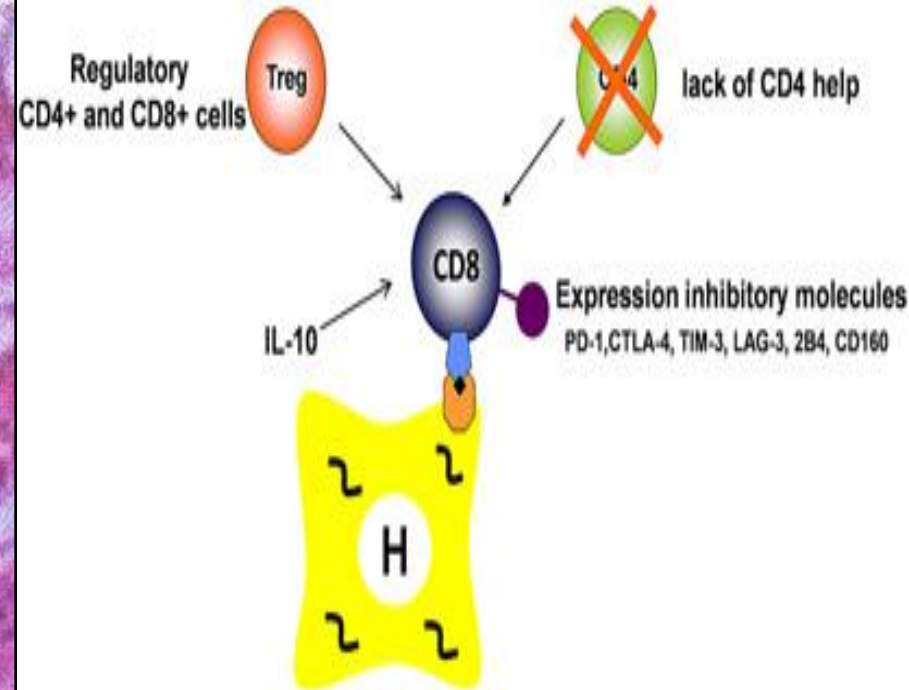
Video:
Vigilancia
de las
células
NKT



Hepatitis C crónica

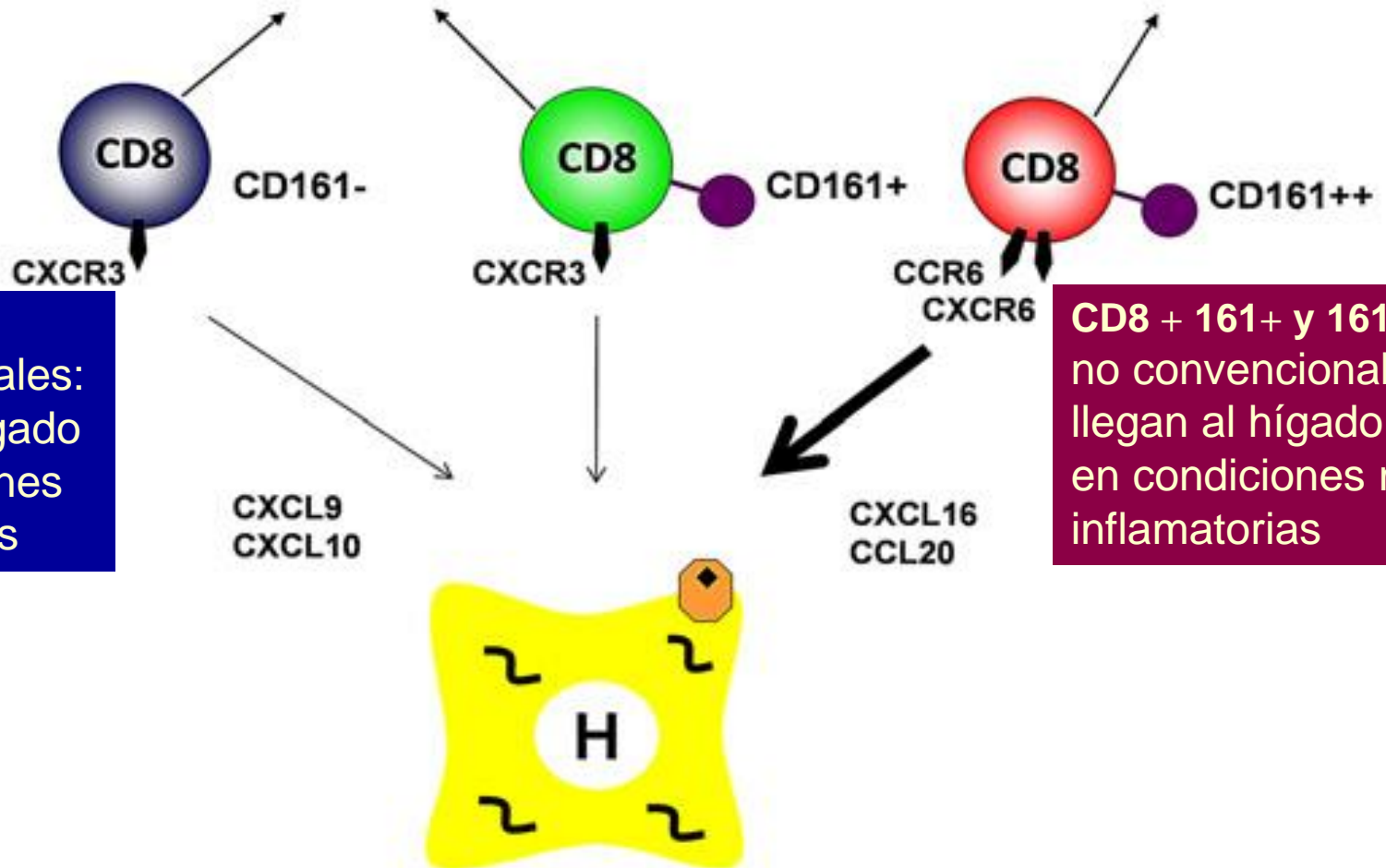


Eliminación viral no citolítica



IFN γ , TNF α , cytotoxicity

IFN γ , TNF α , IL17, IL22

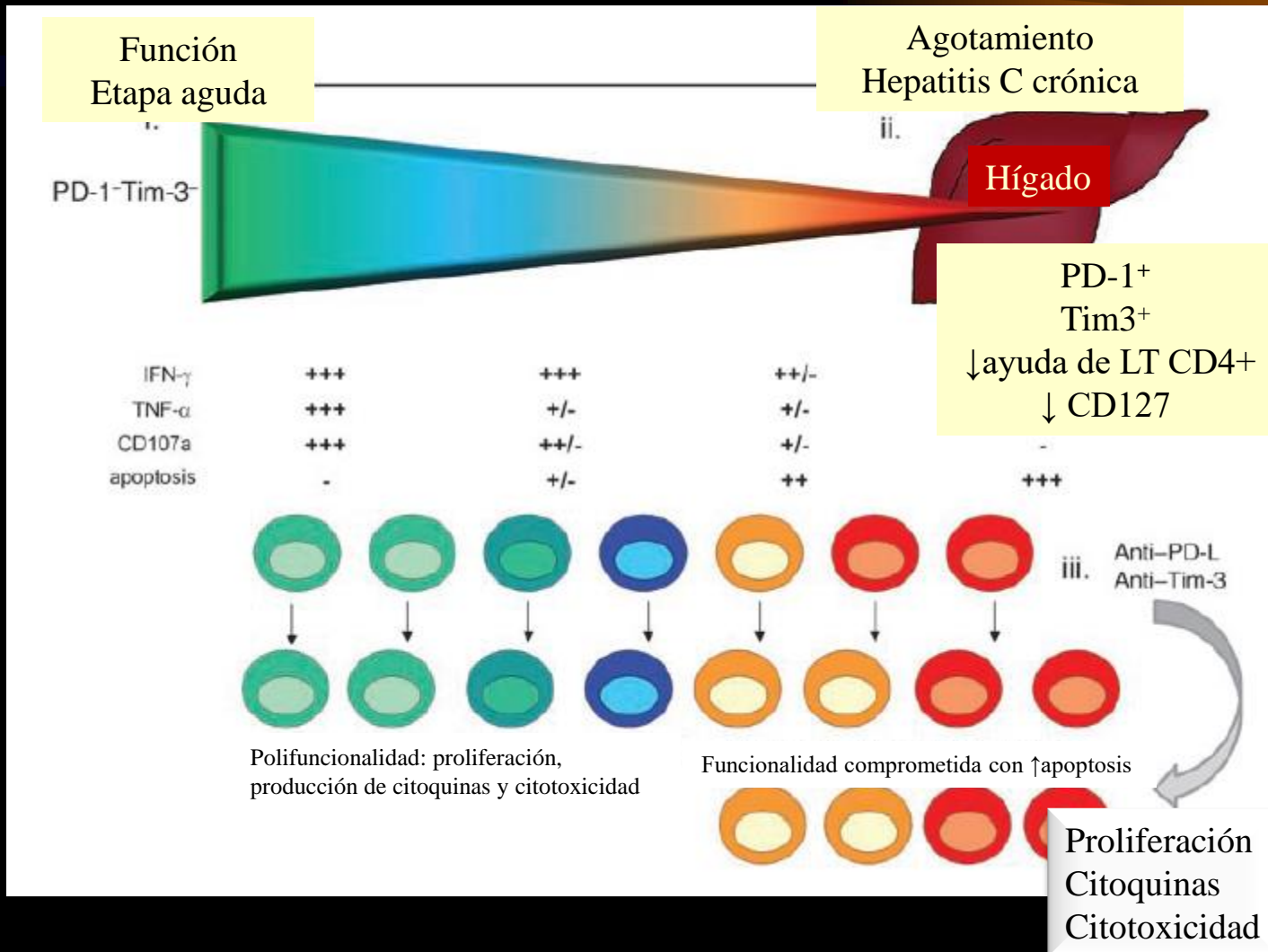


CD8 + 161-
convencionales:
llegan al hígado
en condiciones
inflamatorias

CD8 + 161+ y 161++
no convencionales:
llegan al hígado
en condiciones no
inflamatorias



Funcionalidad de los CTL con el devenir de la infección crónica por HCV



SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Hepatitis C Virus Infection of Cultured Human Hepatoma Cells Causes Apoptosis and Pyroptosis in Both Infected and Bystander Cells

Received: 22 July 2016

Accepted: 24 October 2016

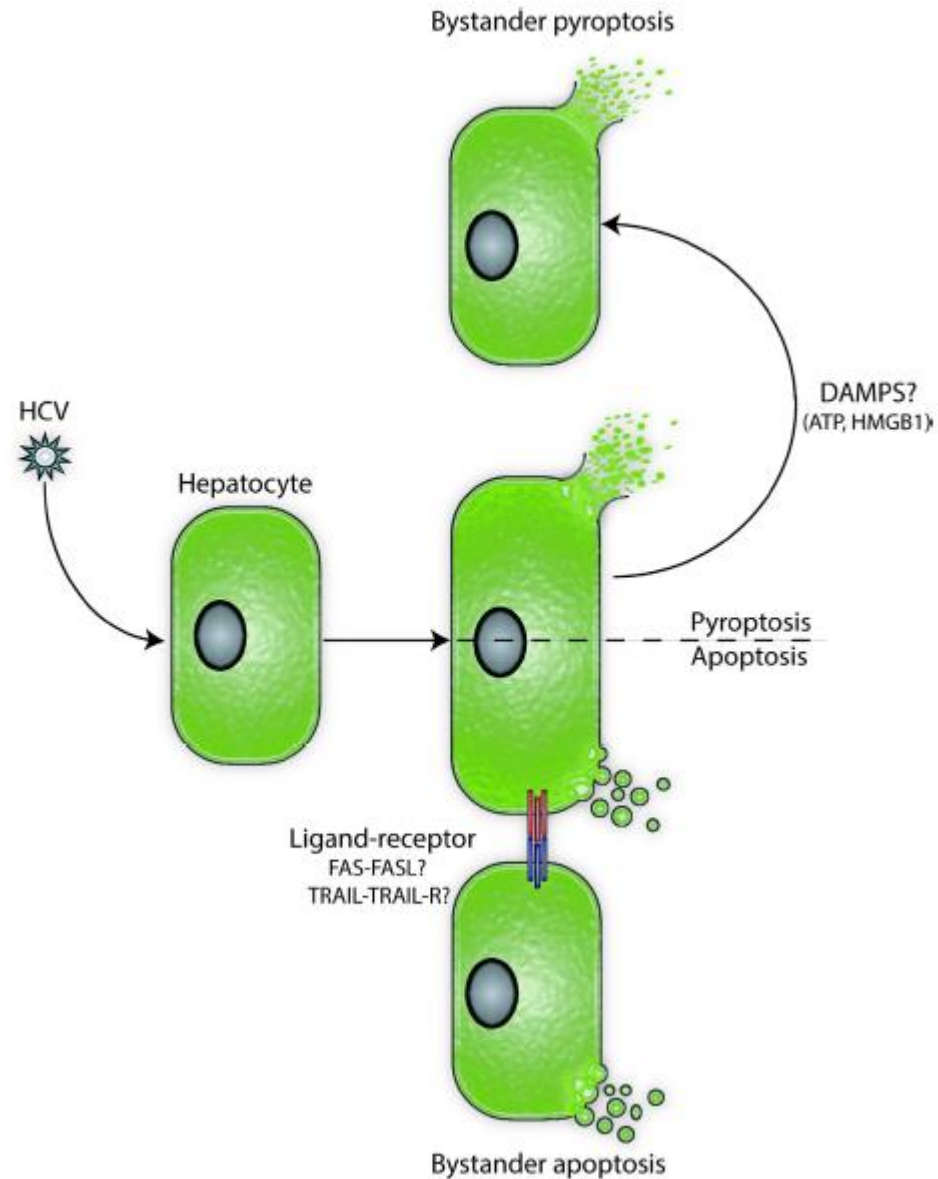
Published: 15 December 2016

H. M. Kofahi, N. G. A. Taylor, K. Hirasawa, M. D. Grant & R. S. Russell

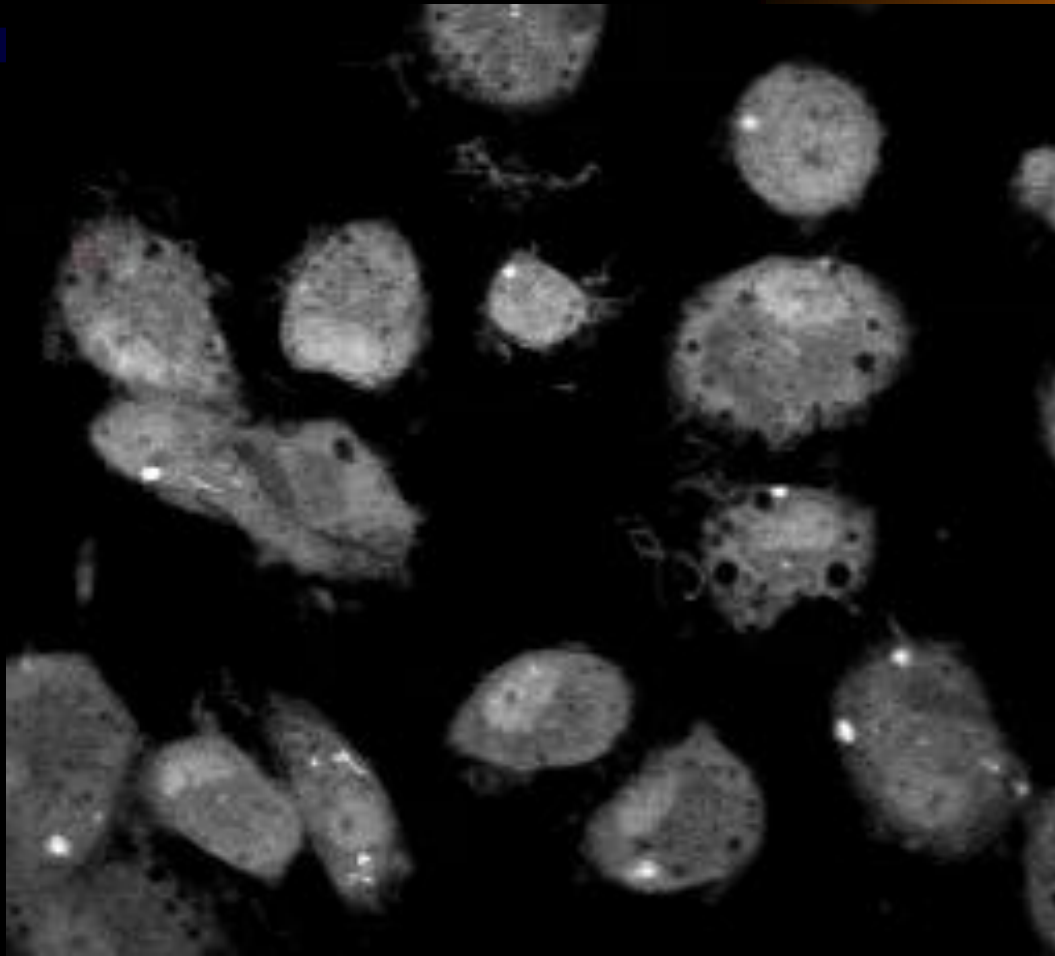
Individuals infected with hepatitis C virus (HCV) are at high risk of developing progressive liver disease, including cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). How HCV infection causes liver destruction has been of significant interest for many years, and apoptosis has been proposed as one operative mechanism. In this study, we employed a tissue culture-adapted strain of HCV (JFH1_T) to test effects of HCV infection on induction of programmed cell death (PCD) in Huh-7.5 cells. We found that HCV infection reduced the proliferation rate and induced caspase-3-mediated apoptosis in the infected cell population. However, in addition to apoptosis, we also observed infected cells undergoing caspase-1-mediated pyroptosis, which was induced by NLRP3 inflammasome activation. By co-culturing HCV-infected Huh-7.5 cells with an HCV-non-permissive cell line, we also demonstrated induction of both apoptosis and pyroptosis in uninfected cells. Bystander apoptosis, but not bystander pyroptosis, required cell-cell contact between infected and bystander cells. In summary, these findings provide new information on mechanisms of cell death in response to HCV infection. The observation that both apoptosis and pyroptosis can be induced in bystander cells extends our understanding of HCV-induced pathogenesis in the liver.



Hepatitis C crónica



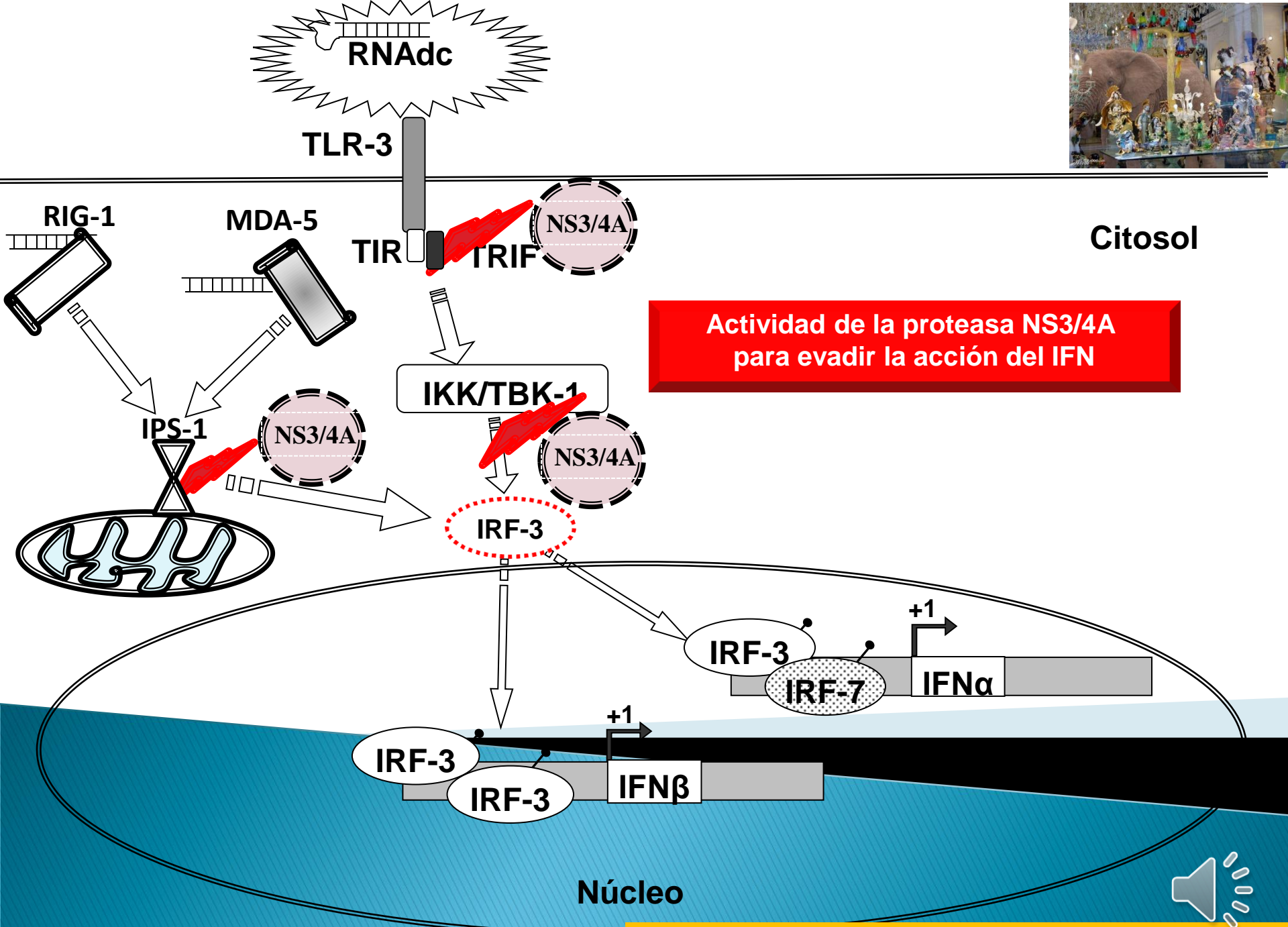
Piroptosis in vivo



Patogénesis de la Hepatitis C crónica: síntesis

- LT CD8⁺ (pocos son específicos)
- LT CD8⁺ (testigos; dañinos)
- Anergia funcional y agotamiento de LT CD8⁺
- IL-10 (Cél. de Kupffer, CD y LT CD4⁺ (Th1 y Th2) , CD8⁺, Tr1,)
- Tregs (CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺) (también en HBV)
vía: contacto
- PD-1 / PDL-1

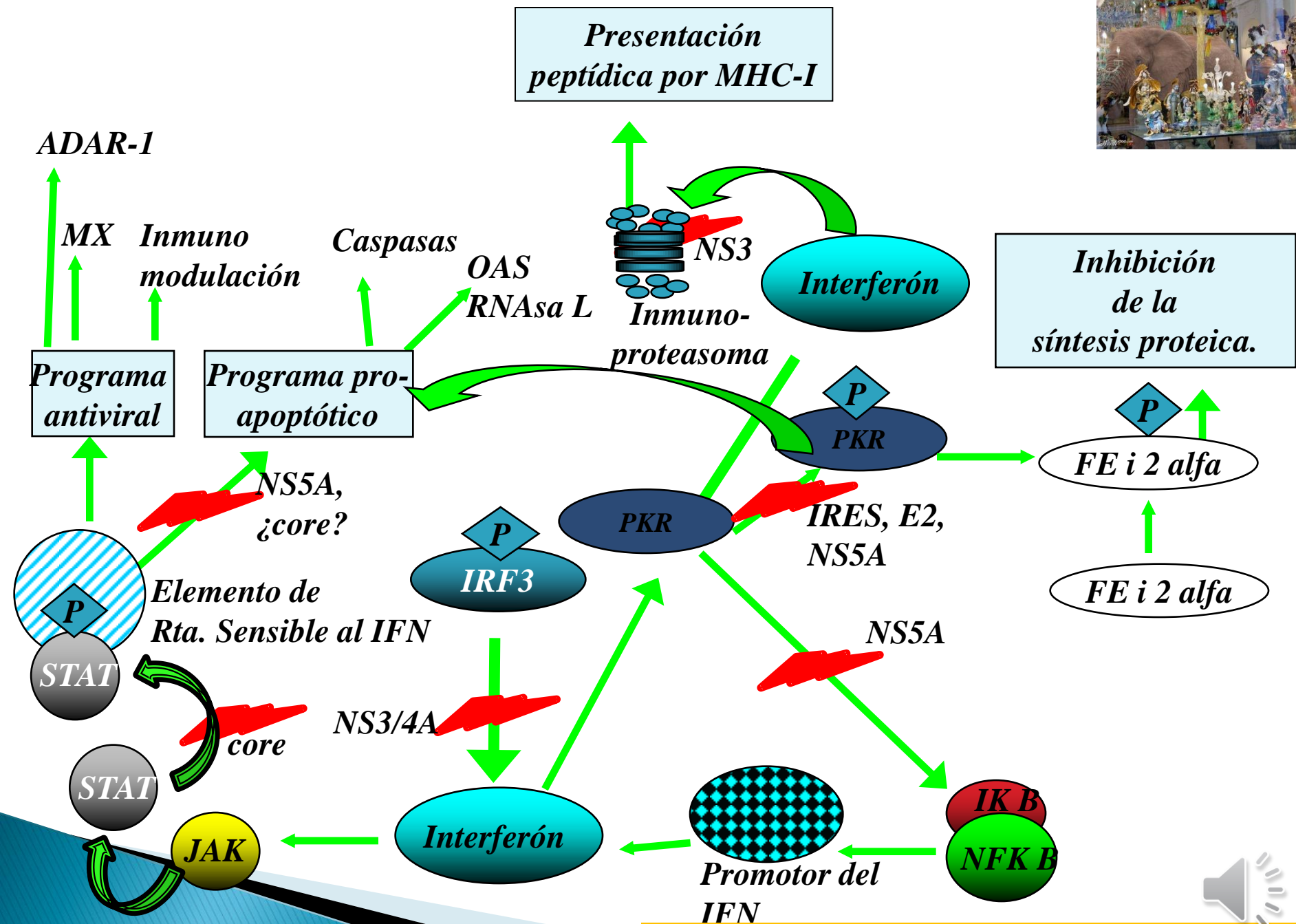


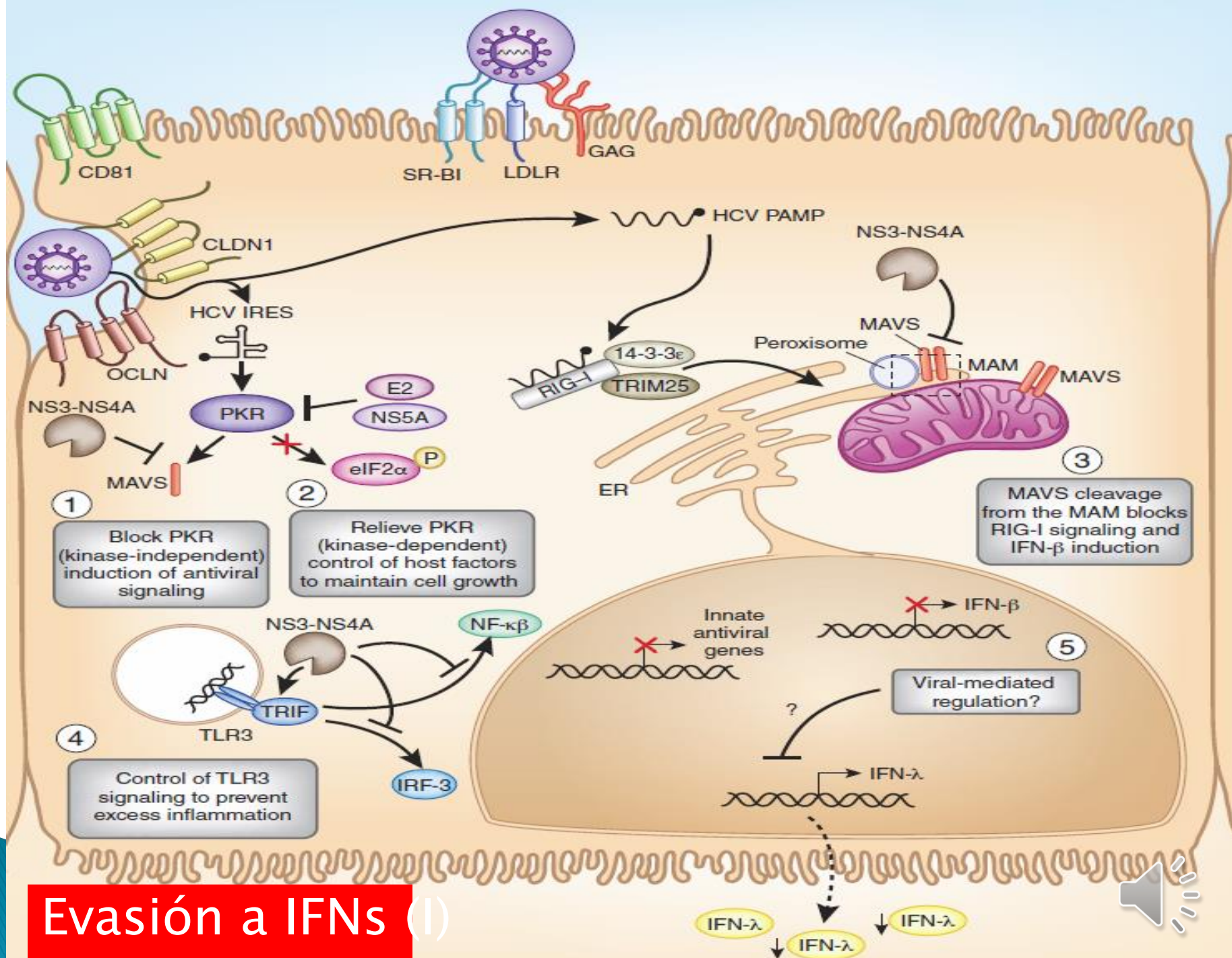


Actividad de la proteasa NS3/4A para evadir la acción del IFN

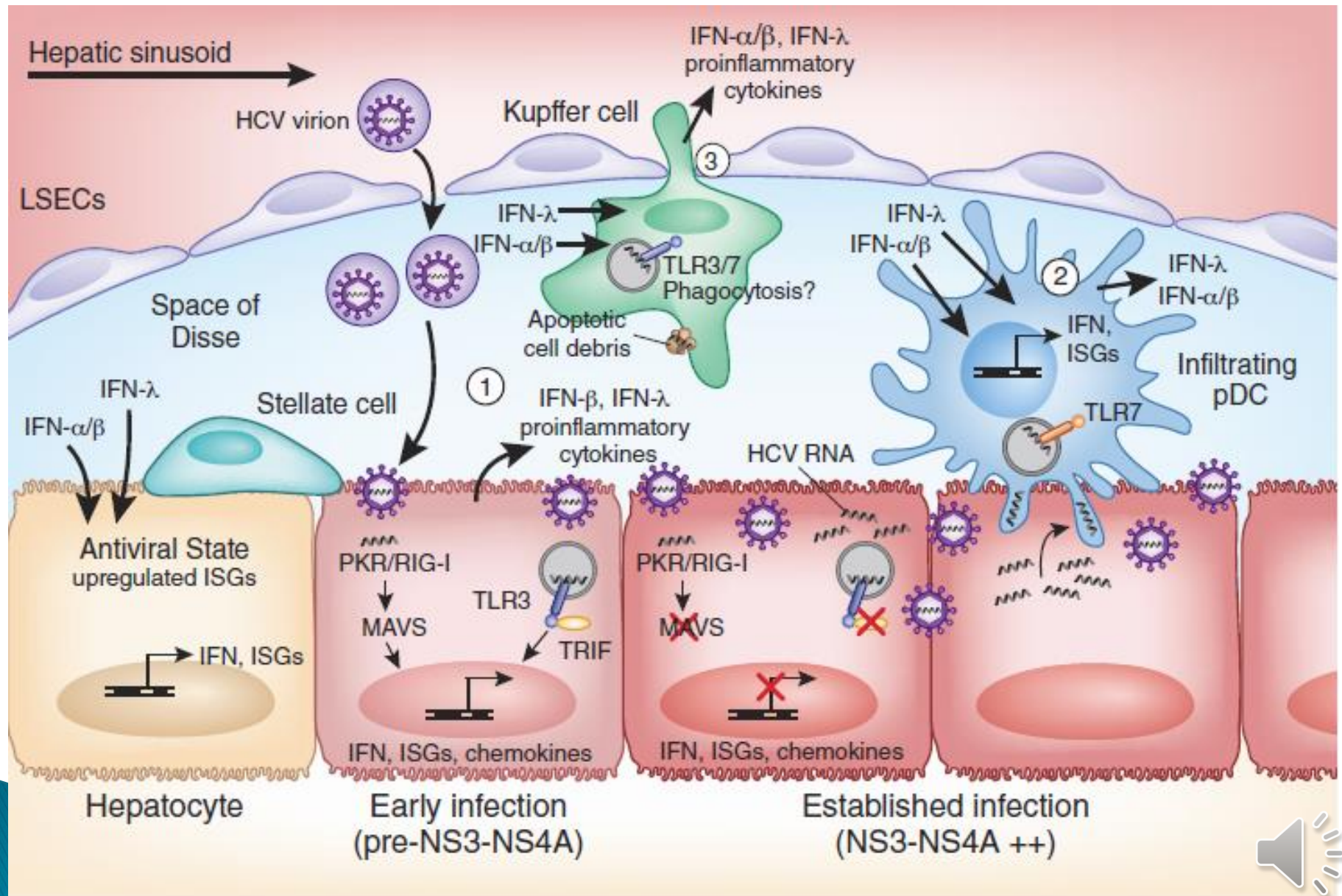
Núcleo



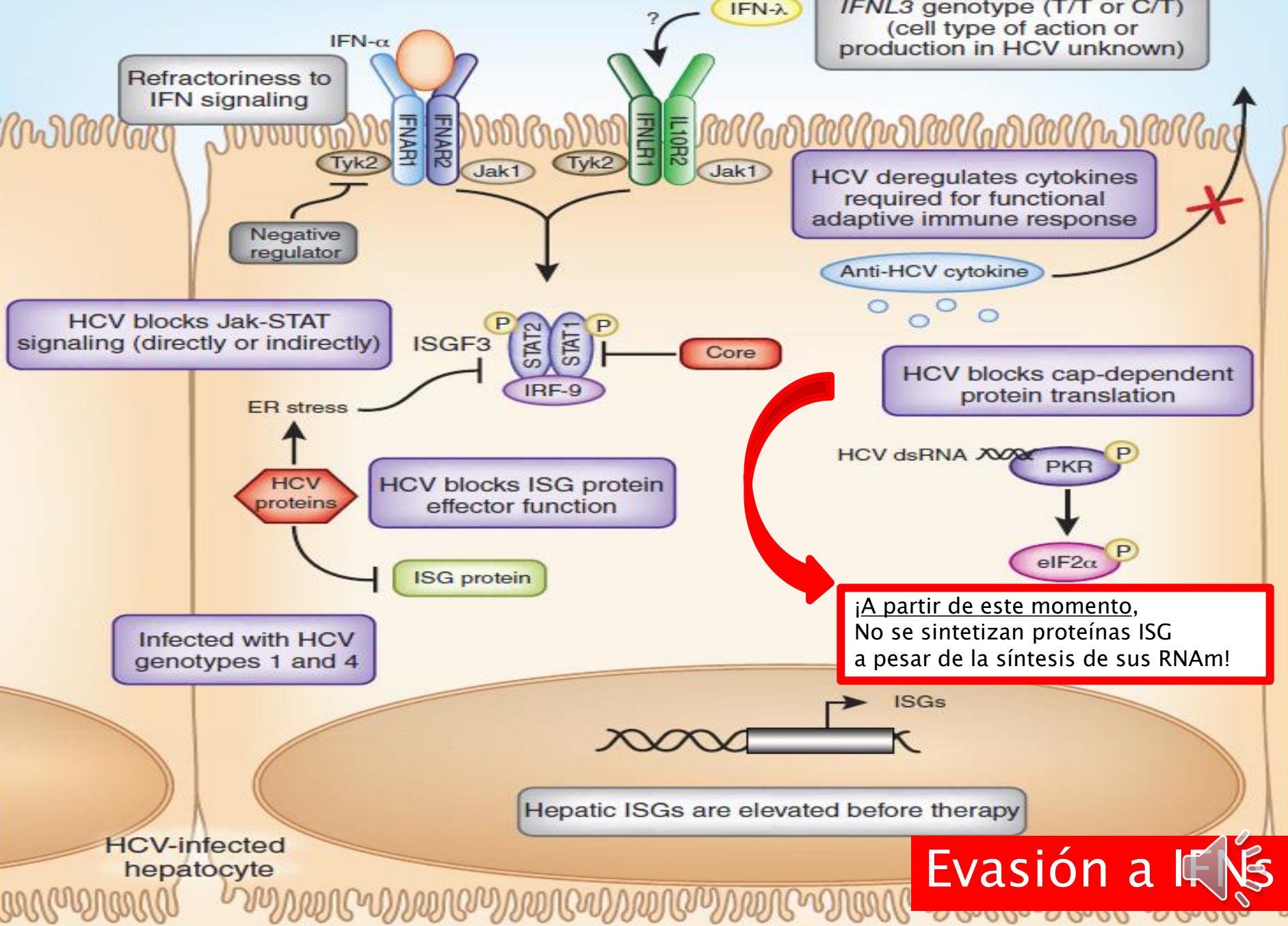




Evasión a IFNs (

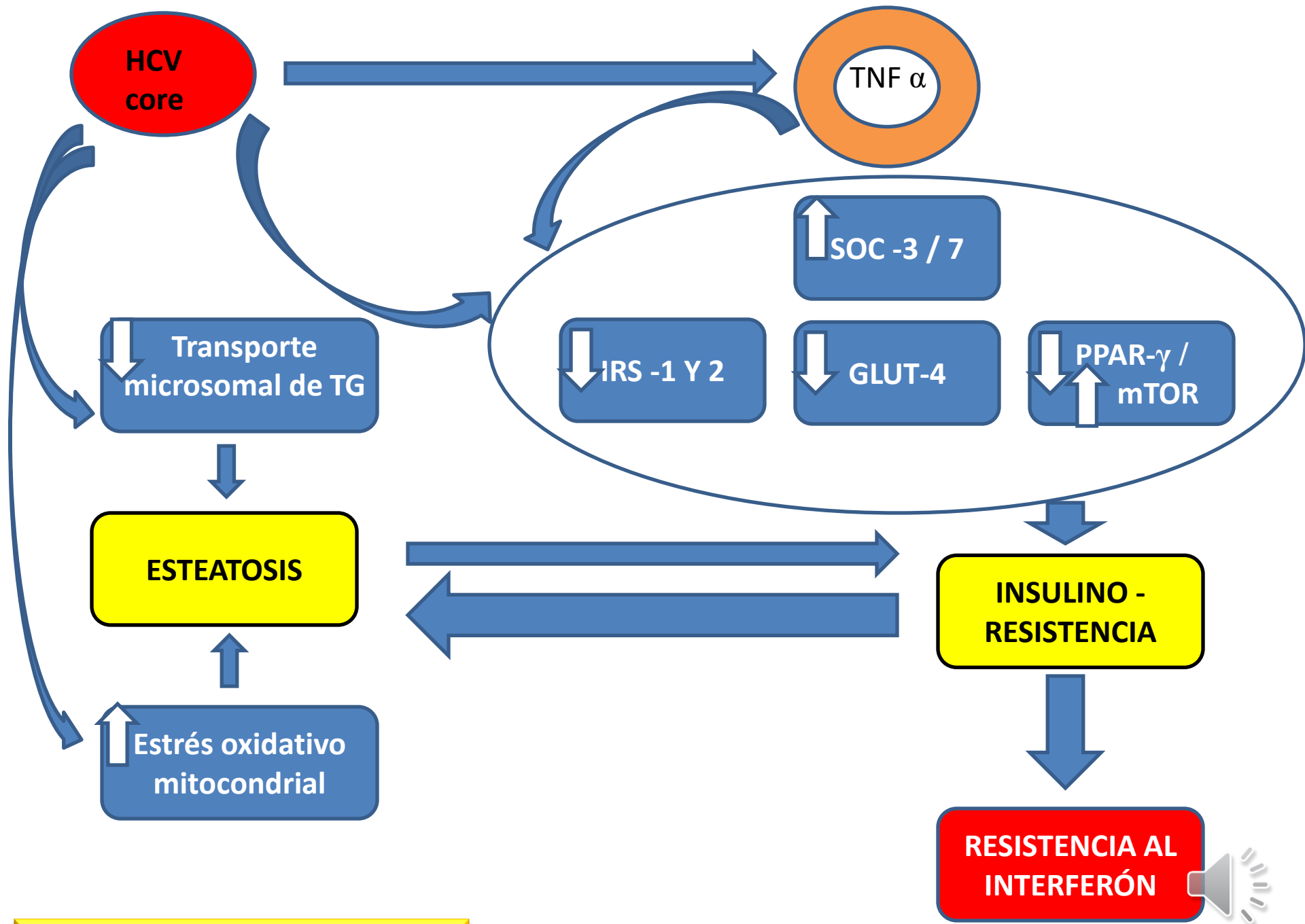


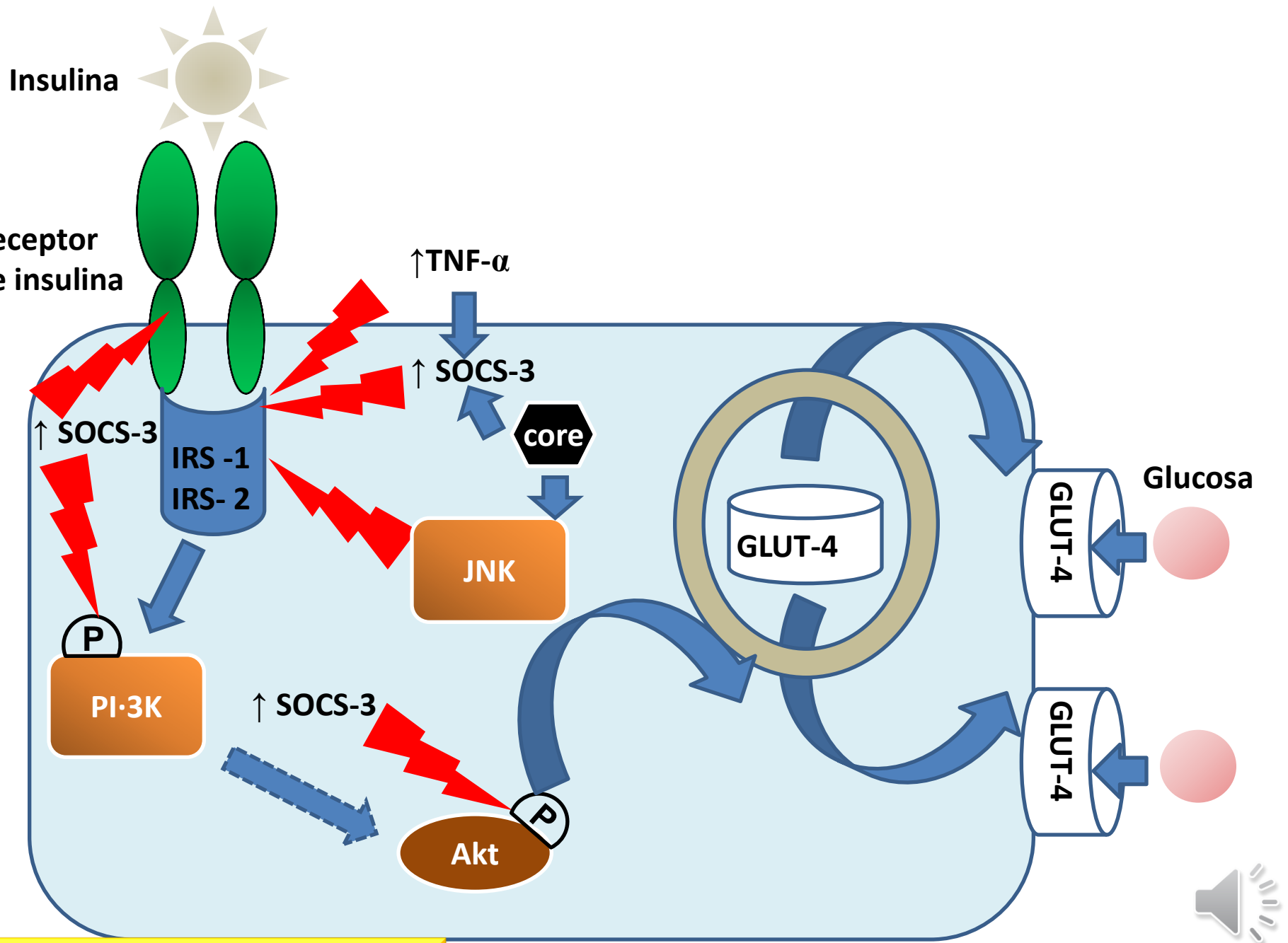
a Peg-IFN- α therapy



¡A partir de este momento,
No se sintetizan proteínas ISG
a pesar de la síntesis de sus RNAm!

Evasión a IFNs





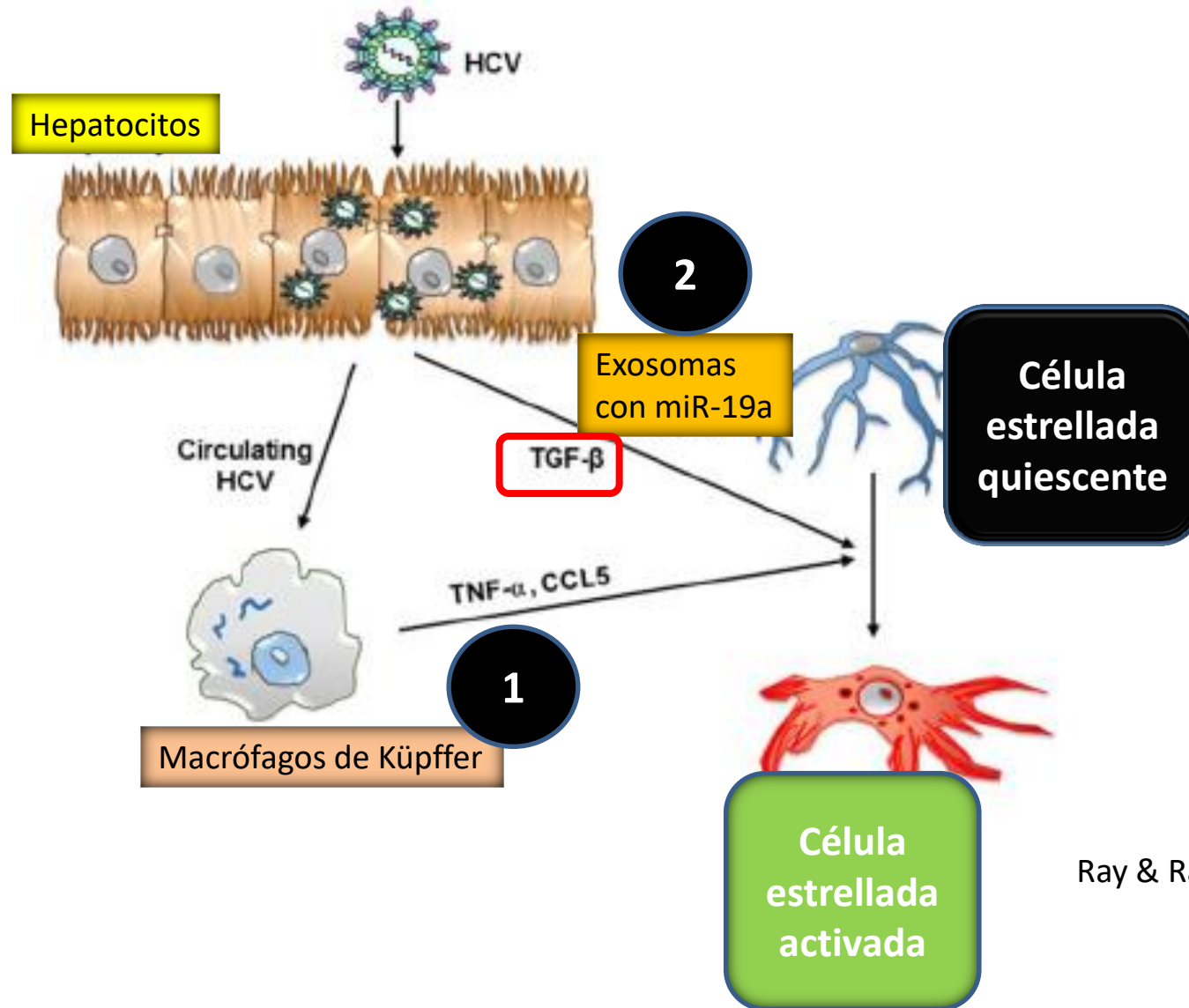
Hepatitis C crónica

**El HCV puede promover la apoptosis
¡o inhibirla...!**

**El delicado balance, dependerá de las proteínas
expresadas en el contexto de la replicación viral
y de la respuesta inmune del paciente...**



Promoción de la fibrosis / cirrosis por HCV






**70 – 90 % de los
HCC se desarrollan
en pacientes con
cirrosis**



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.





La dulce regulación del Sistema Inmune: Galectinas, Interleuquinas, Células Dendríticas y Linfocitos T

Galectina 1

Inhibe
fenómenos
inflamatorios

Promueve la
respuesta Th2

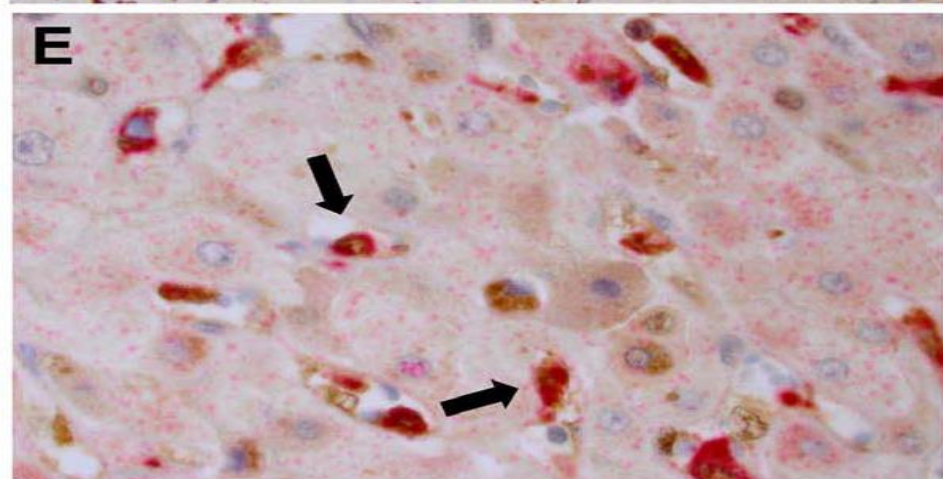
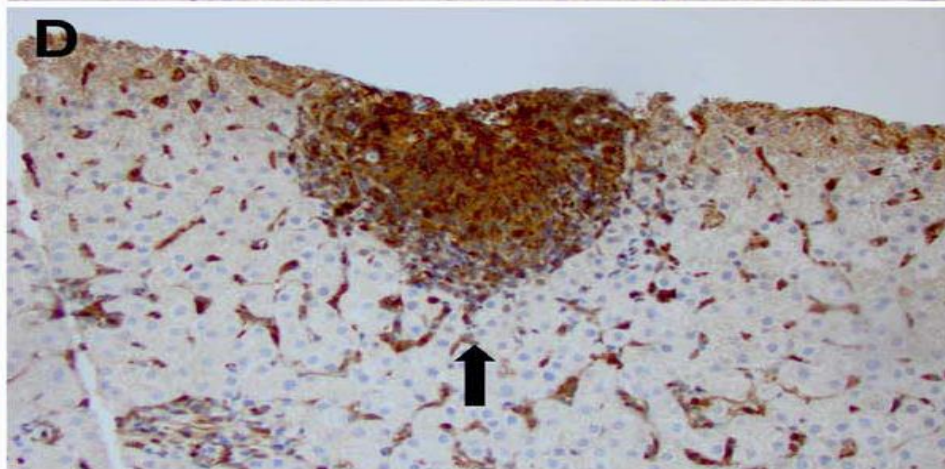
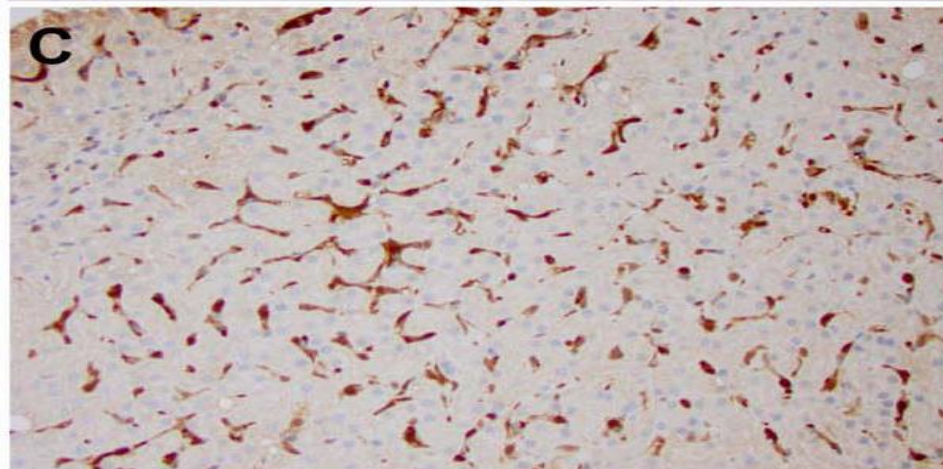
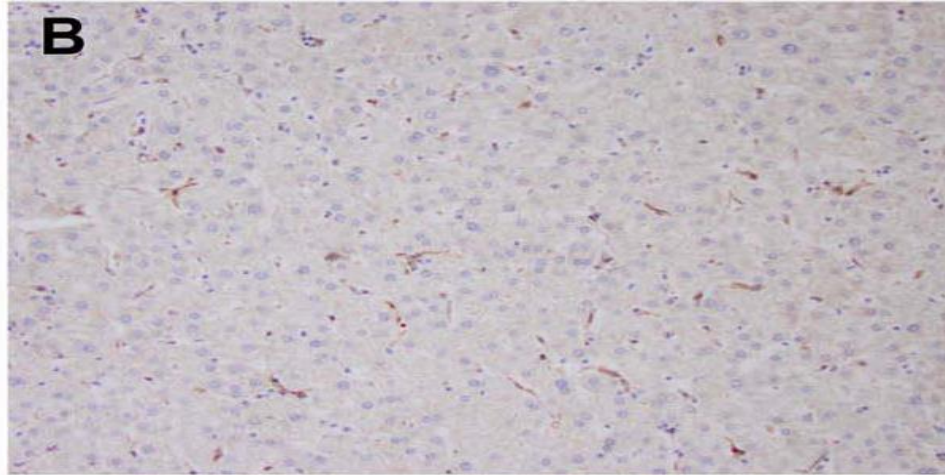
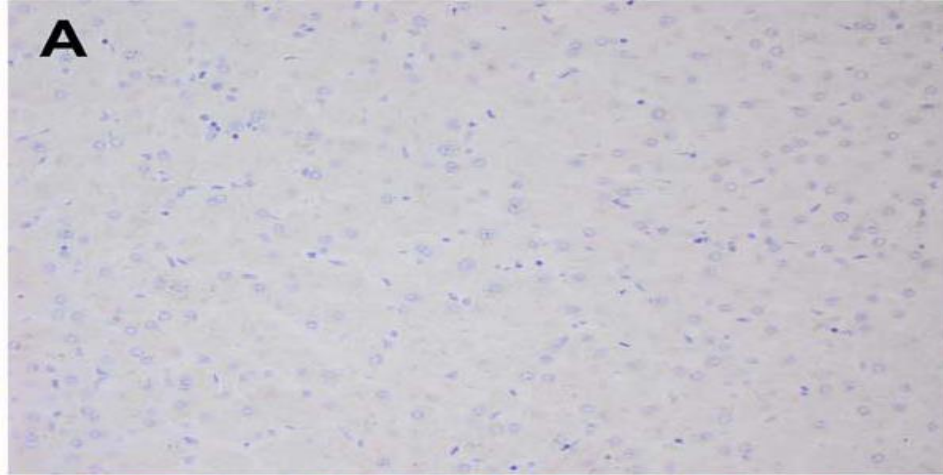


Galectina 3

Promueve
fenómenos
inflamatorios

Inhibe la
respuesta Th2



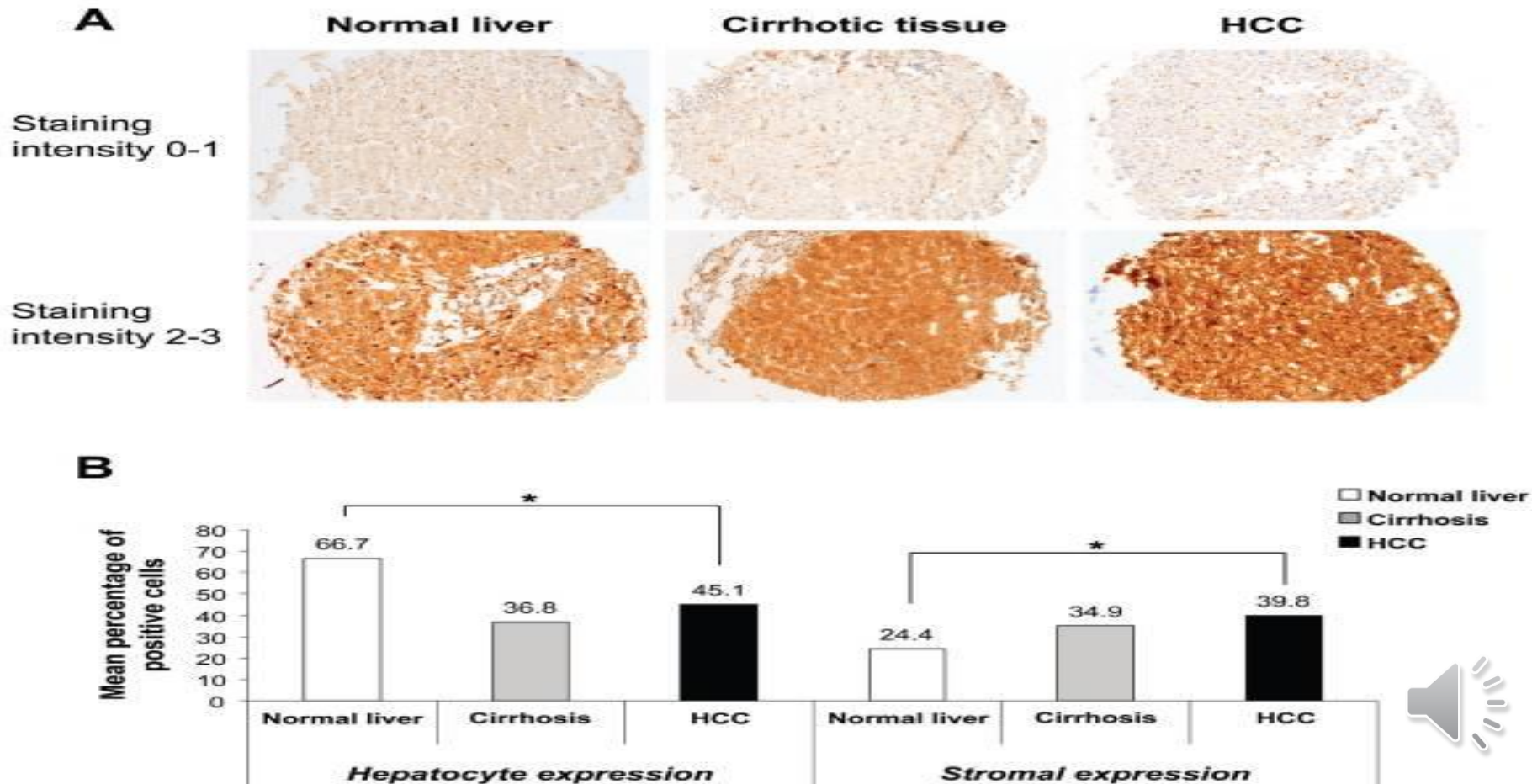


La galectina 9 producida por las células de Küpffer promueve la producción de citoquinas pro-inflamatorias hepáticas y un incremento de las células Tregs.

Fuente: Mengshol *et al*, PLoS One. 2010 Mar 4;5(3):e9504.
Erratum en: PLoS One. 2010;5(3).

Expresión de Gal-1 en humanos normales, cirróticos y con HCC

Spano *et al*, Mol Med. 6: 102–115, 2010.

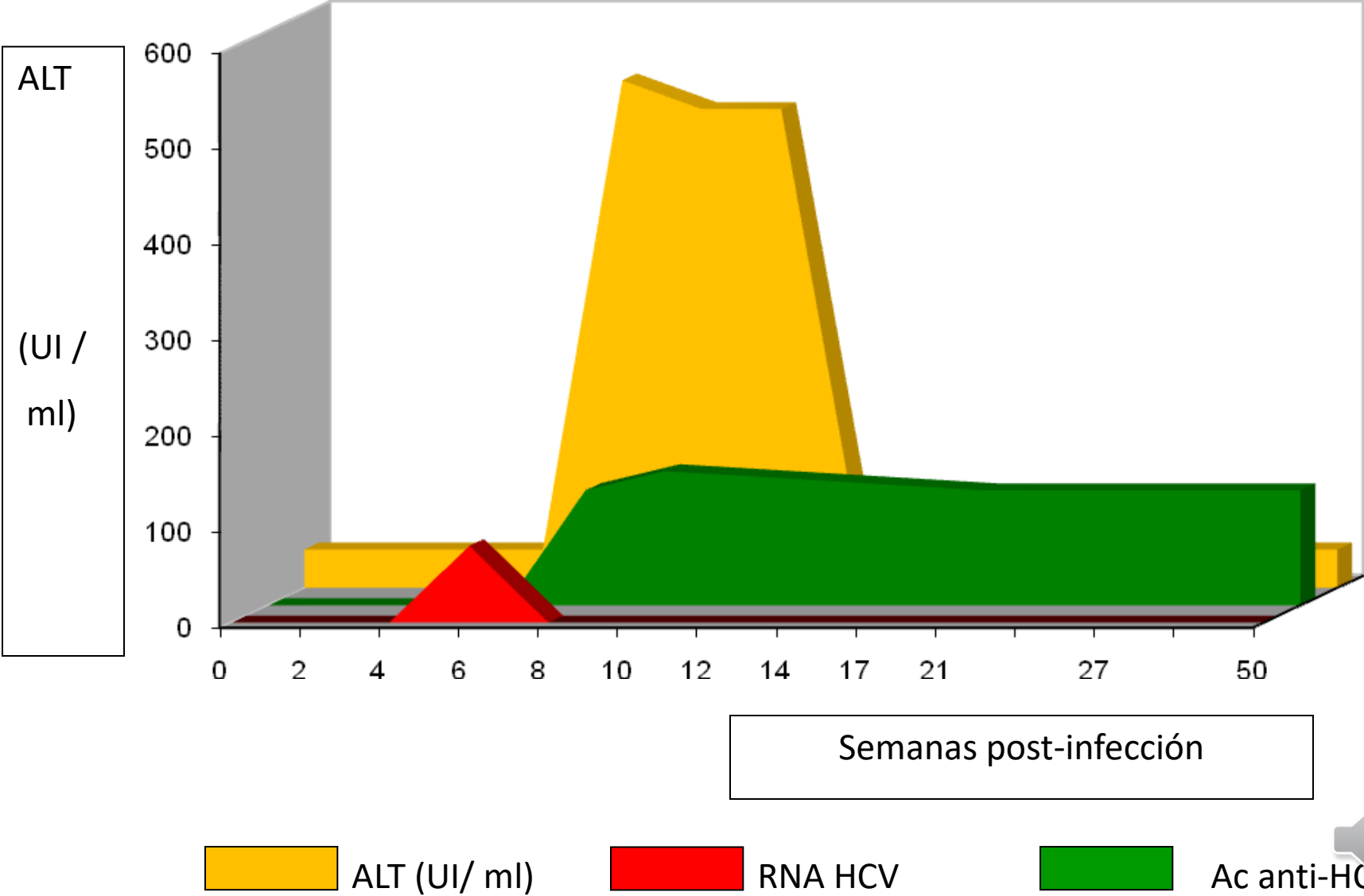


Novel roles of galectin-1 in hepatocellular carcinoma cell adhesion, polarization, and in vivo tumor growth.

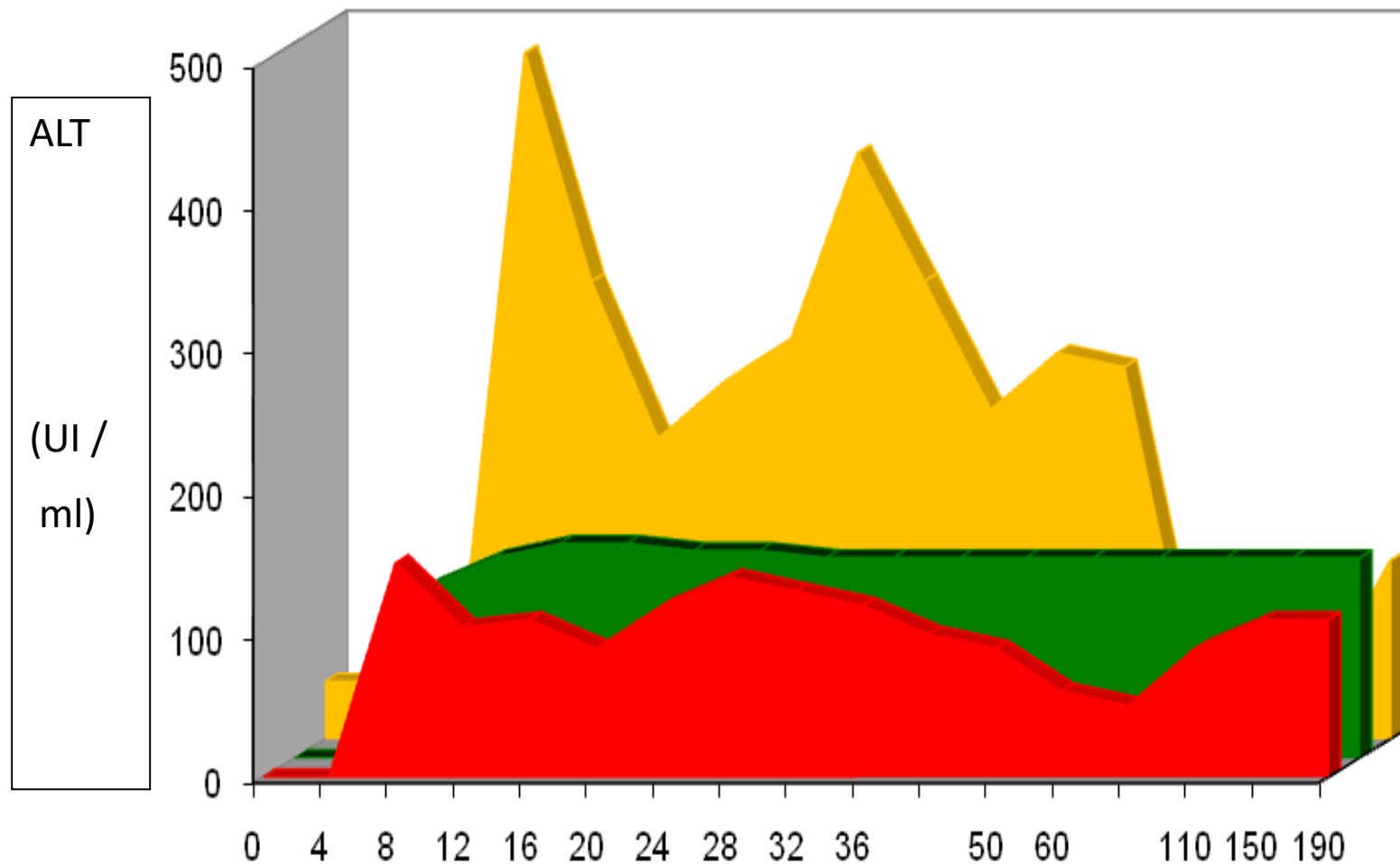
- Galectin-1 (Gal-1), a widely expressed β -galactoside-binding protein, exerts pleiotropic biological functions. **Gal-1 is up-regulated in hepatocarcinoma cells, although its role in liver pathophysiology remains uncertain.** We investigated the effects of Gal-1 on HepG2 hepatocellular carcinoma (HCC) cell adhesion and polarization. Soluble and immobilized recombinant Gal-1 (rGal-1) promoted HepG2 cell adhesion to uncoated plates and also increased adhesion to laminin. Antibody-mediated blockade experiments revealed the involvement of different integrins as critical mediators of these biological effects. In addition, exposure to rGal-1 markedly accelerated the development of apical bile canaliculi as shown by TRITC-phalloidin labeling and immunostaining for multidrug resistance associated-protein 2 (MRP2). Notably, rGal-1 did not interfere with multidrug resistance protein 1/P-glycoprotein or MRP2 apical localization, neither with transfer nor secretion of 5-chloromethylfluorescein diacetate through MRP2. Stimulation of cell adhesion and polarization by rGal-1 was abrogated in the presence of thiodigalactoside, a galectin-specific sugar, suggesting the involvement of protein-carbohydrate interactions in these effects. Additionally, Gal-1 effects were abrogated in the presence of wortmmanin, PD98059 or H89, suggesting involvement of phosphoinositide 3-kinase (PI3K), mitogen-activated protein kinase and cyclic adenosine monophosphate-dependent protein kinase signaling pathways in these functions. Finally, expression levels of this endogenous lectin correlated with HCC cell adhesion and polarization and up-regulation of Gal-1-favored growth of hepatocarcinoma in vivo. Conclusion: Our results provide the **first evidence of a role of Gal-1 in modulating HCC cell adhesion, polarization, and in vivo tumor growth, with critical implications in liver pathophysiology.**



A



B



Semanas post-infección

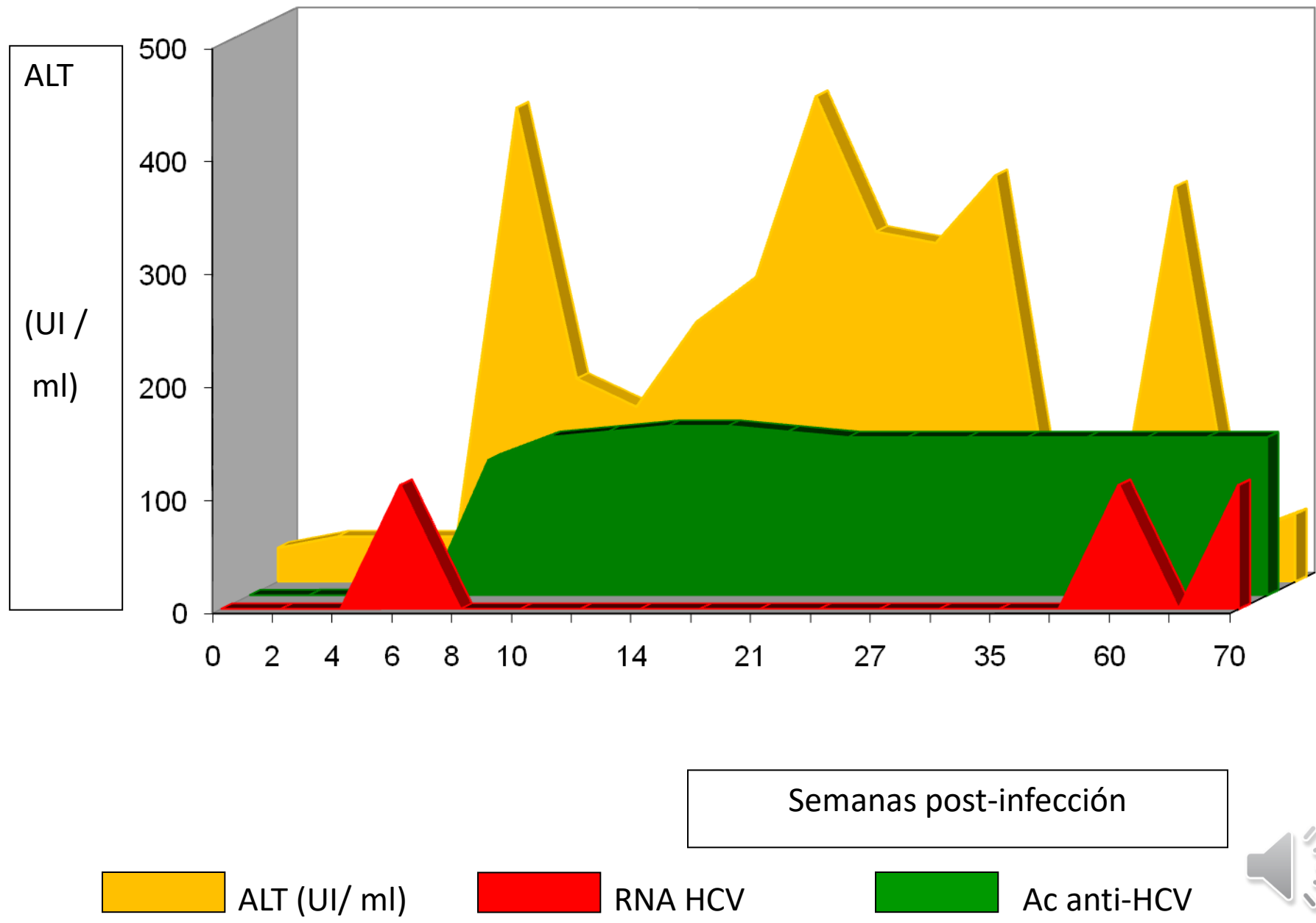
ALT (UI/ ml)

RNA HCV

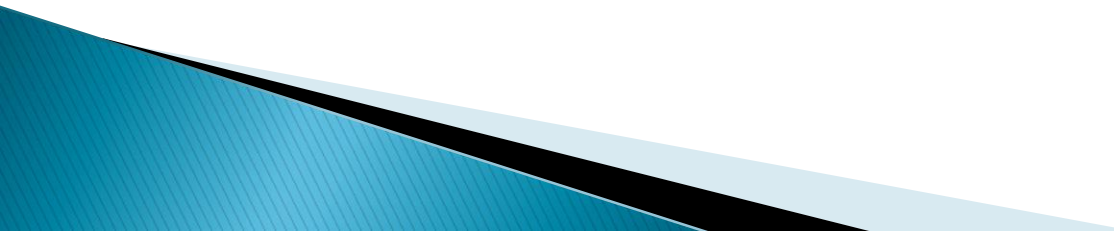
Ac anti-HCV



C



Hepatitis C

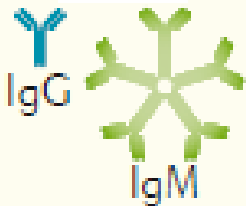
- ✓ Estructura y función
 - ✓ Replicación viral y sus implicancias en la epidemiología molecular, la patogénesis, el diagnóstico, la profilaxis y el tratamiento
 - ✓ Inmunopatogénesis molecular de la hepatitis C a nivel hepático y su relación con el diagnóstico
 - Inmunopatogénesis molecular de las manifestaciones extra-hepáticas
- 

Crioglobulinemias

✓ Enfermedades linfoproliferativas de LB

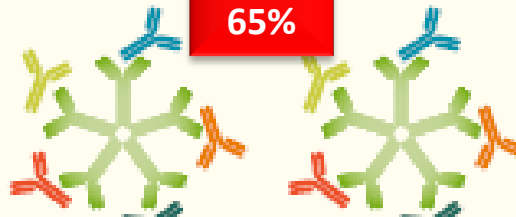
- ✓ Infecciones crónicas (**HCV** o HBV)
- ✓ Enfermedades linfoproliferativas
- ✓ Enfermedades autoinmunes
- ✓ Crioglobulinemia mixta esencial

Tipo I
10%



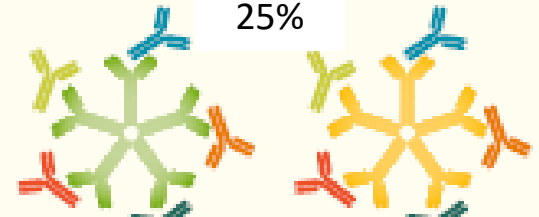
Ig M (>Ig G > Ig A)
monoclonal

Tipo II
65%



Complejos inmunes con
Ig M monoclonal (FR)
+ Ig G policlonal

Tipo III
25%

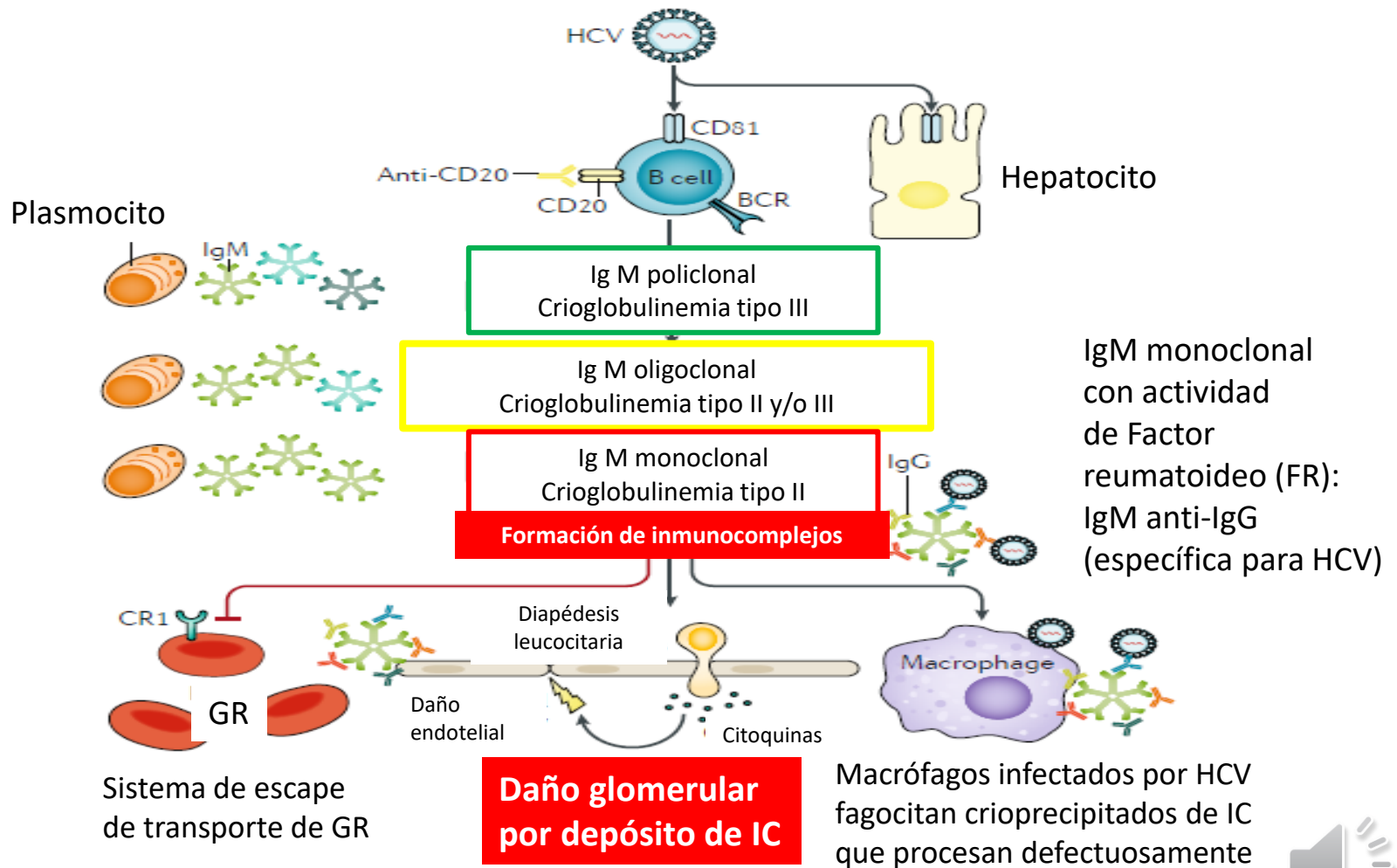


Complejos inmunes con
Ig M policlonal (FR)
+ Ig G policlonal

Crioglobulinemia mixta



Patogénesis de la vasculitis por HCV



Úlceras por vasculitis asociadas a crioglobulinemia por HCV



Clínica: úlceras de tobillo y pierna por vasculitis asociada a crioglobulinemia.

Patología: vasculitis con necrosis fibrinoide de la pared vascular, núcleos picnóticos y detritus nucleares de granulocitos y mononucleares. H-E x20.

Correlación clínico-serológica- patológica

Crioglobulinemia
mixta
asintomática

Manifestaciones clínicas



Púrpura
reciente

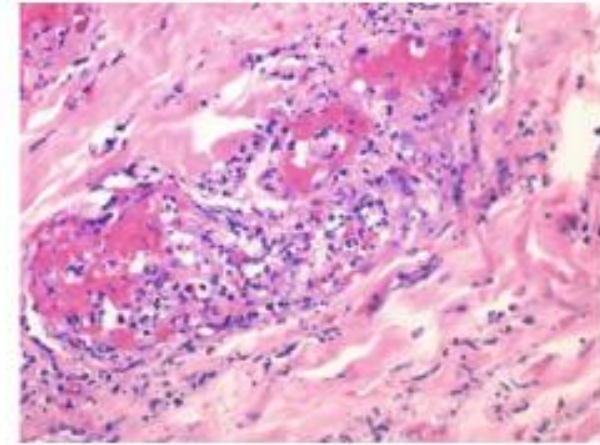
Lesiones
discrómicas

Aspecto sérico



Crioprecipitados
al cabo de 7 días a 4°C

Histopatología

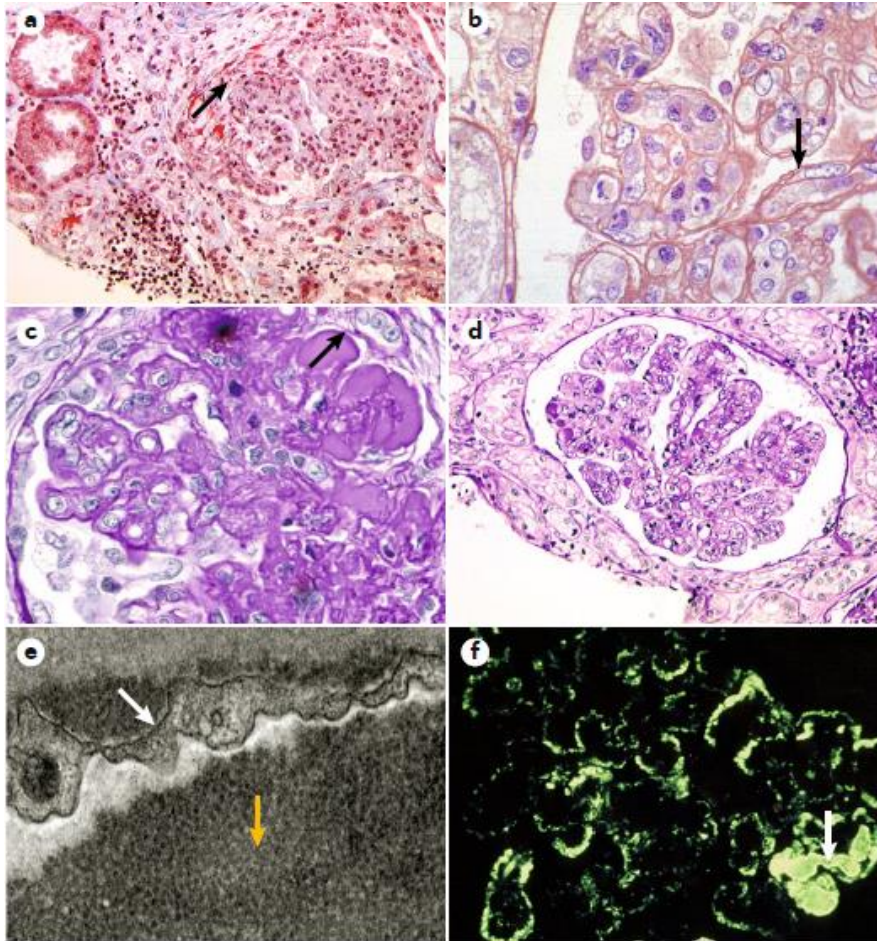


Vasculitis leucocitoclástica

Crioglobulinemia
mixta
sintomática
(con vasculitis)

Manifestaciones
clínicas
(vasculitis) sin
crioglobulinemia

Nefropatía por vasculitis crioglobulinémica



- a. M.O. (20x) Proliferación extracapilar en riñón, con necrosis fibrinoide (flecha) e interrupción de la cápsula.
- b. M.O. (x40x) Patrón membrano-proliferativo con apariencia de doble contorno de la membrana basal.
- c. M.O. (x20) Tinción con PAS de precipitados de crioglobulinas (flecha) y reduplicación con interposición celular en la membrana basal.
- d. M.O. (10x) Tinción con PAS mostrando una glomerulonefritis difusa membrano-proliferativa, con duplicación de la membrana basal, interposición de células mesangiales, y presencia de leucocitos y macrófagos subendoteliales con depósitos de componentes inmunes, expansión y proliferación mesangial, con depósito de leucocitos intracapilares y acumulación de trombos hialinos.
- e. M.E. Depósitos electrón-densos, correspondientes a crioglobulinas precipitadas en el espacio subendotelial (flecha blanca) y en la luz capilar (flecha amarilla)
- f. Inmunofluorescencia demostrando el depósito de IgM con acumulación segmentada (flecha) correspondiente a los trombos observados con M.O.

HCV

Unión E2 –CD81
Infección de LB

¿Mutagénesis
inducida por HCV?

Activación
prolongada de LB

t(14; 18) / ¿otros?
Sobreexpresión de Bcl-2:
inhibición de la apoptosis

Factores genéticos y/o ambientales + Sobrevida prolongada de LB
(Estimulación de LB productores de FR)

Crioglobulinemia
mixta

Aberraciones genéticas adicionales

Linfoma No Hodgkin

Poliarteritis nodosa



Púrpuras y vesículas
eritematosas
y hemorrágicas.
Áreas limitadas
de necrosis.



Liquen plano y hepatitis C

Romano C et al. Expert Rev Exp Immunol, 2018



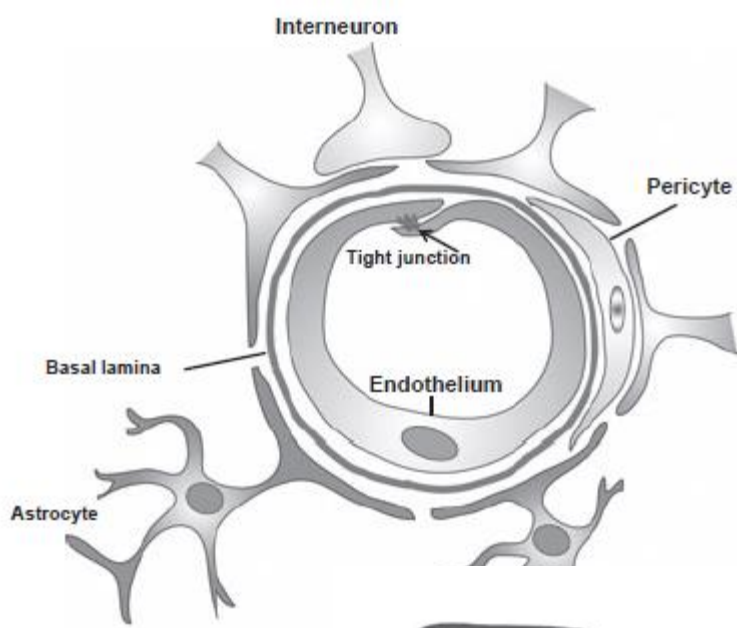
5x riesgo de infección por HCV
en pacientes con liquen plano

2,5-4,5 x riesgo de padecer
liquen plano
en pacientes con HCV

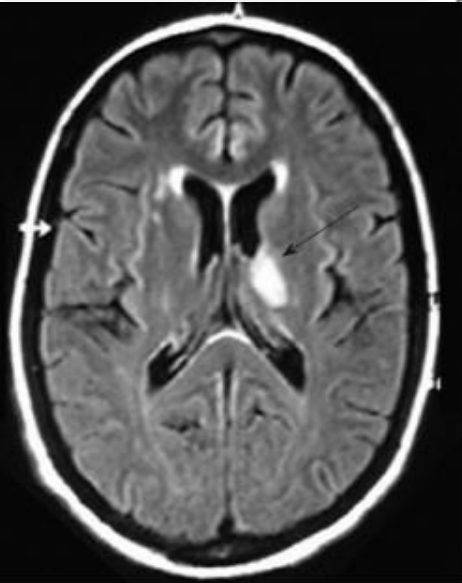
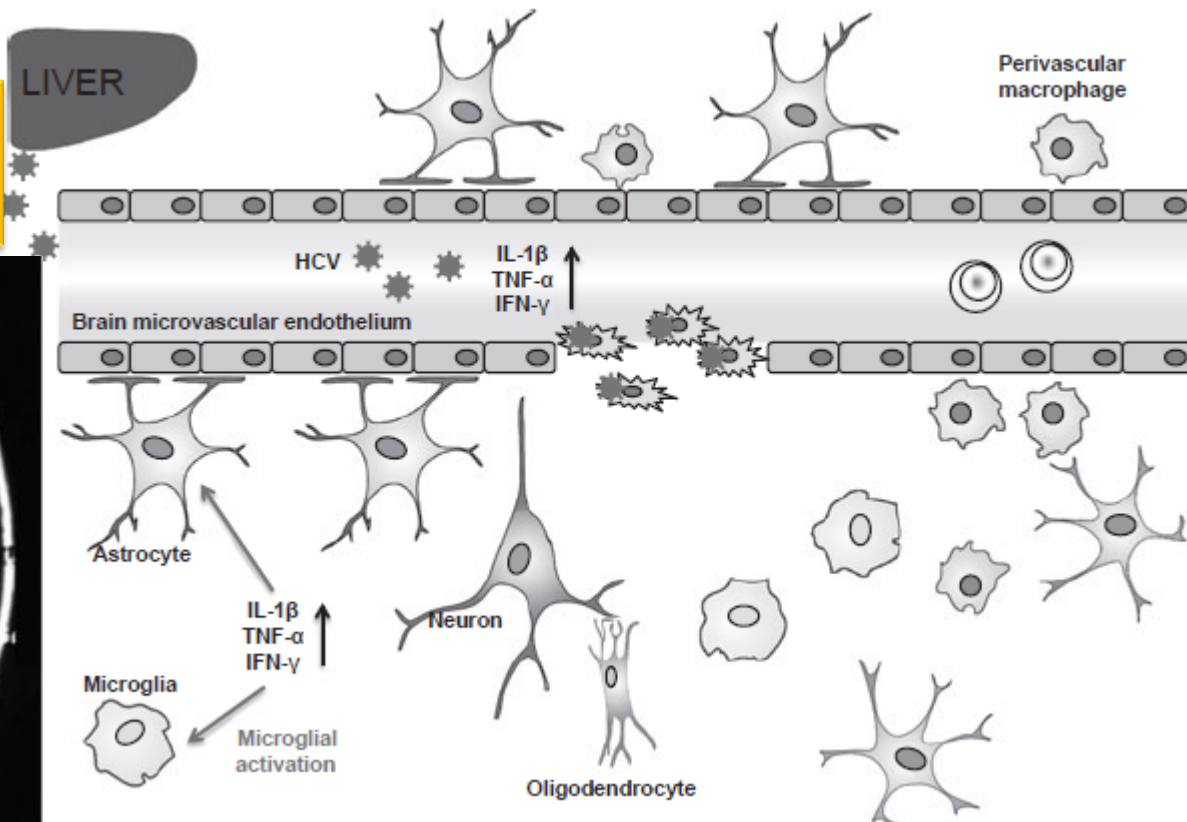
¿Qué tipo de asociación existe entre ambas enfermedades?



HCV y el SNC



TAC: isquemia talámica
en paciente
infectado con HCV.



Infecciones persistentes crónicas: modelo hepatitis C

✓ PARTE I

- ✓ ¿Por qué algunas infecciones son habitualmente agudas y otras frecuentemente persistentes crónicas?
- ✓ ¿Cuáles son los elementos de la Rta. Inmune y de los virus que se asocian con frecuencia a infecciones persistentes crónicas?
- ✓ ¿Cómo actúan?
- ✓ Algunos ejemplos de importancia médica

✓ PARTE II: la infección por HCV

➤ PARTE III: comparación con la infección producida por HBV.

□ Síntesis.



HBV y HCV:
¿sólo una cuestión de alfabeto?



¡La infección por HCV
no es igual a la del HBV!

*Ver actividad
introductoria del
Seminario 14*

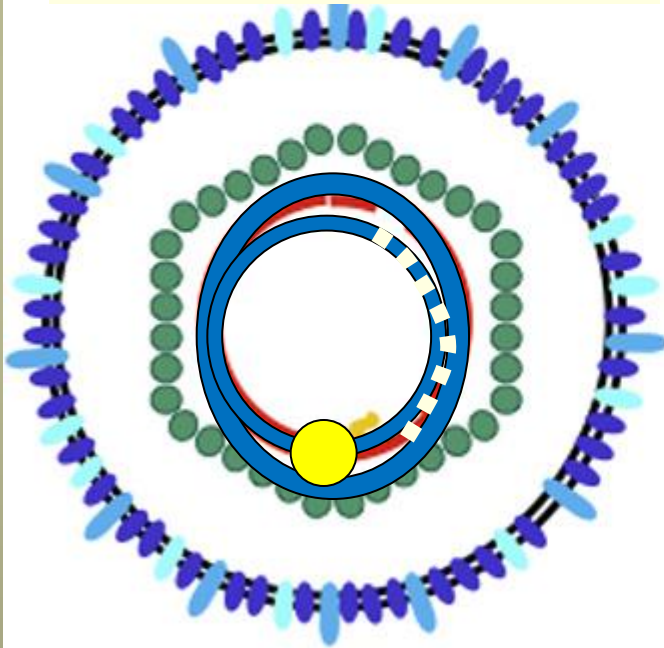


HBV y HCV: estructura comparada

HBV

Hepadnavirus

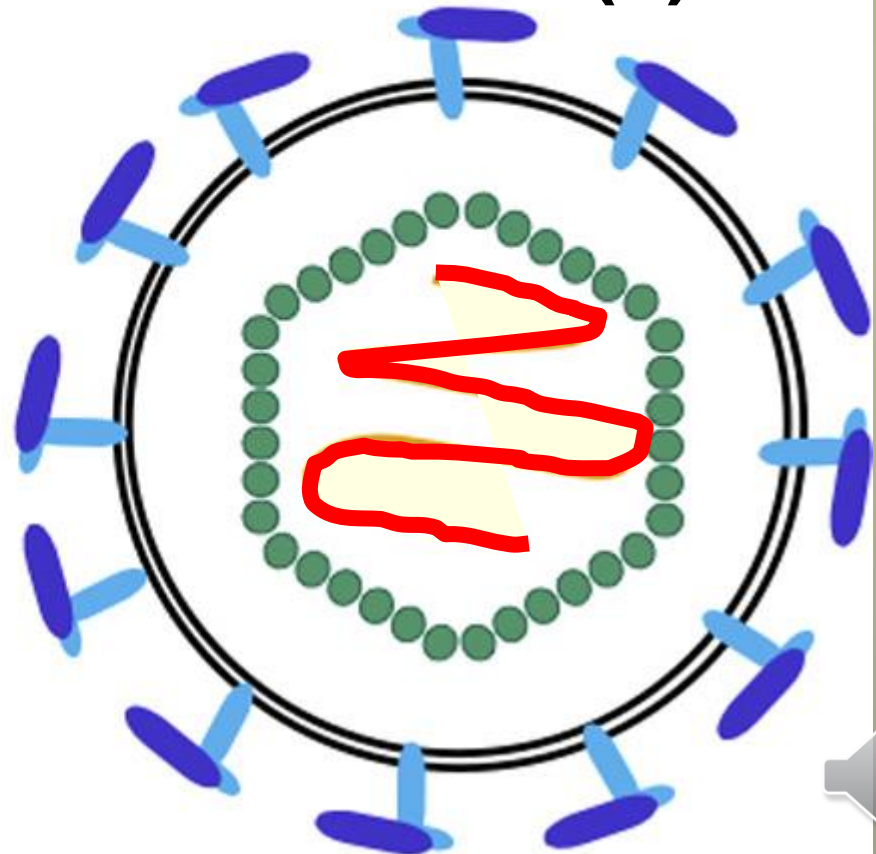
**DNA parcialmente
bicatenario**



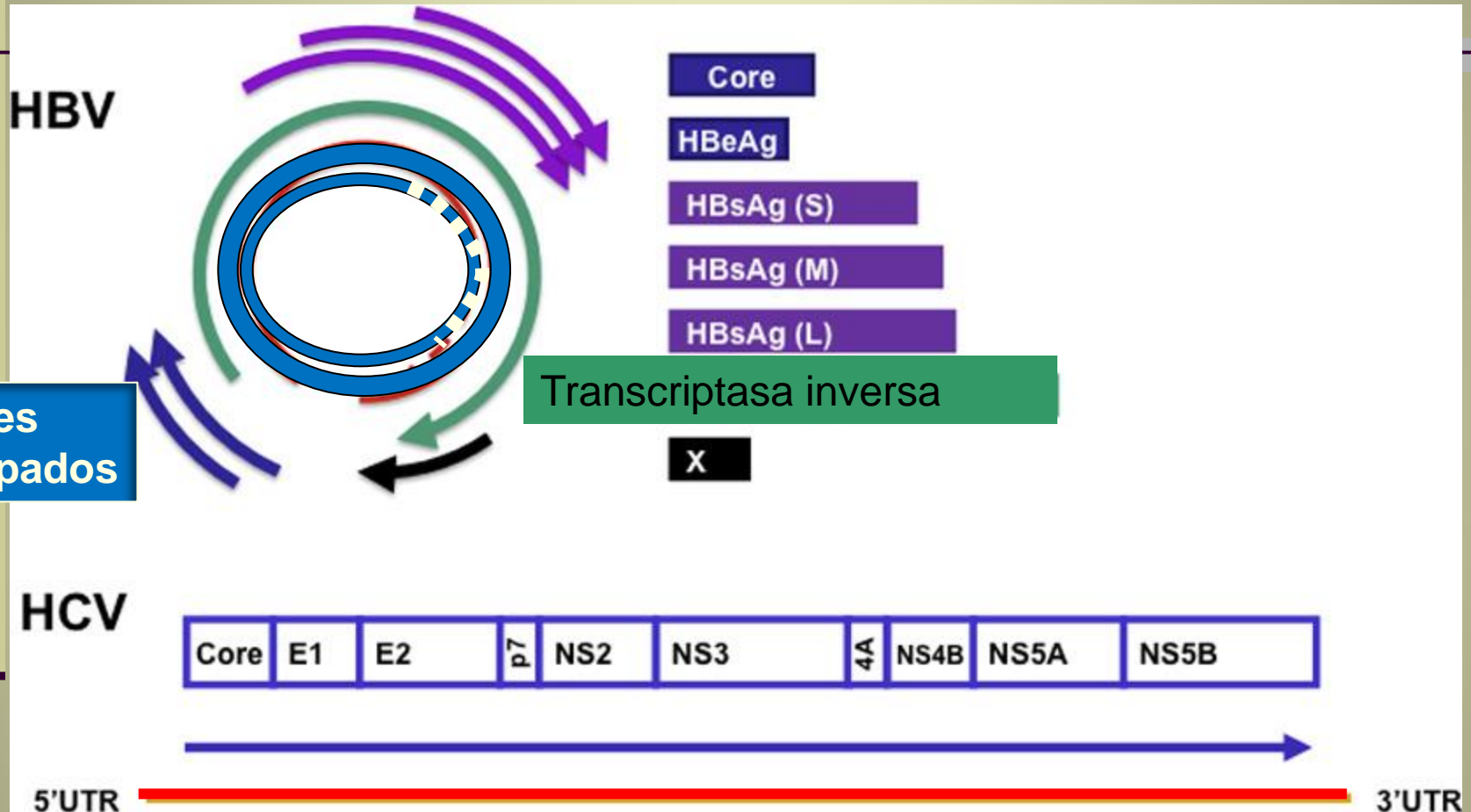
HCV

Hepacivirus

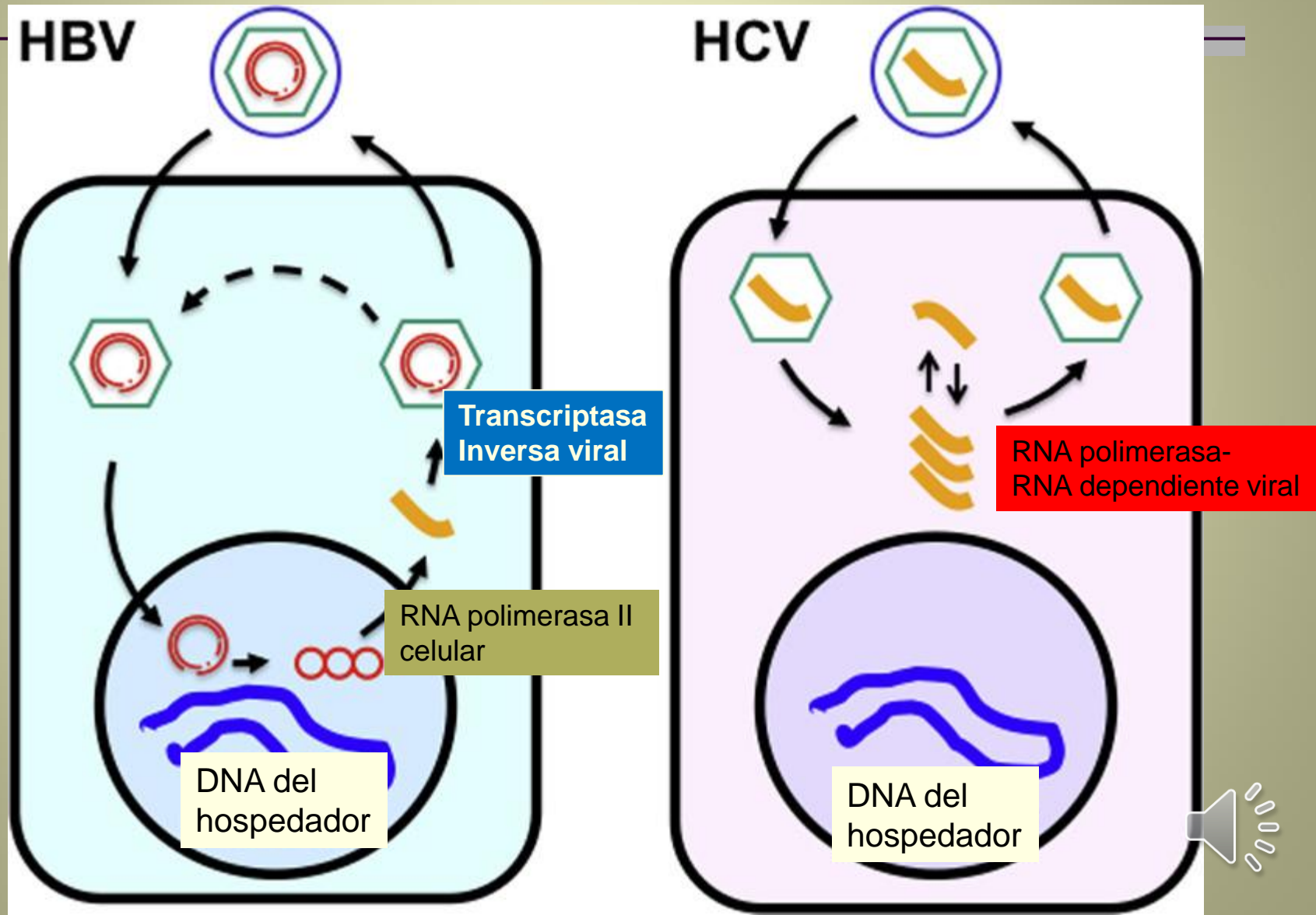
RNA (+)



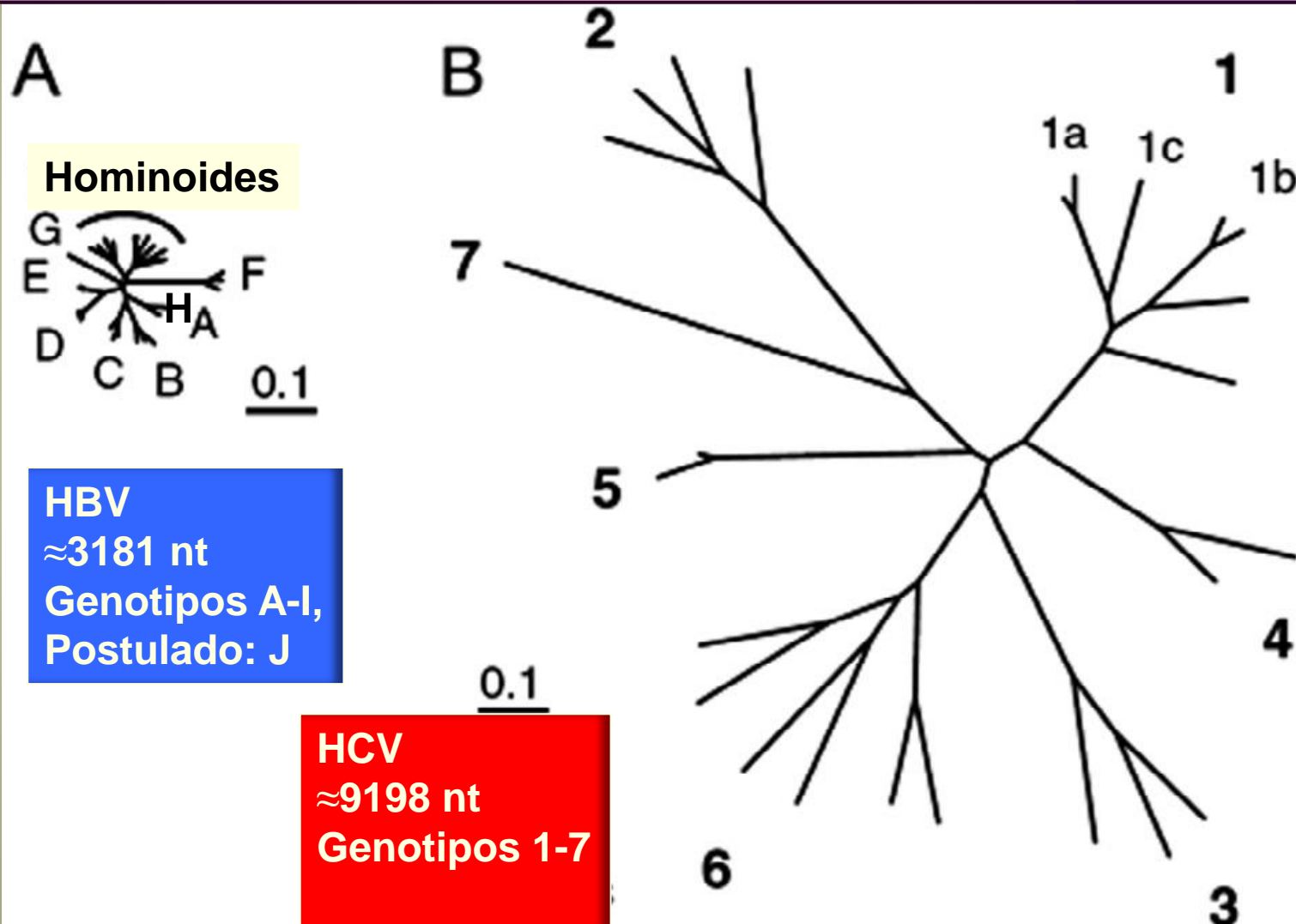
HBV y HCV: estructura genómica



Replicación de HBV y HCV: comparación



Diversidad genética comparativa del HBV y del HCV



Virología e Inmunología de las infecciones por HBV y HCV: síntesis

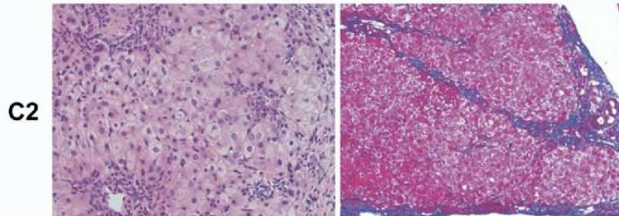
	HBV	HCV
Prevalence worldwide	257 million people infected	71 million people infected
<u>Virology</u>		
Virus	42 nm; enveloped nucleocapsid; partially double-stranded DNA genome	50 nm; enveloped nucleocapsid; positive stranded RNA genome
Family	Hepadnaviridae	Flaviviridae; Hepacivirus Genus
Genotypes	8 genotypes	6 major genotypes; more than 50 subtypes; quasispecies in each infected patient
Mutation rate	low	high
Virus half-life	2-3 days	3 hours
Virus production	10^{10} – 10^{12} virions / day	10^{12} virions / day
<u>Acute Infection</u>		
Outcome	>90% self-limited infection	<30% self-limited infection
Immunity	Longterm protective immunity	?
<u>Chronic Infection</u>		
Cause	Mostly from vertical/perinatal transmission: mother-to-neonate, early childhood infection	Mostly from horizontal transmission injection drug use, parenteral, sexual, nosocomial
Course	Distinct phases defined by ALT and viremia level HBeAg / antibody status	Stable ALT levels and viremia
Spont resolution	About 1% per year (HBsAg loss)	No
<u>Treatment</u>		
IFN-based	PegIFN; 25% HBeAg seroconversion 3-7% HBsAg loss	PegIFN/ribavirin
Antiviral	Inhibition of transcriptase activity of viral polymerase; suppression of viral replication without elimination of cccDNA	Inhibition of viral protease and polymerase; >95% cure
<u>Cure</u>		
	functional cure (cccDNA persists, reactivation possible)	virological cure (virus completely cleared)

Rehermann B,
Thimme R.
Gastroenterology
Agosto de 2018

Patogénesis de las infecciones *por HBV / HCV* : *mecanismos de lesión*

■ Efecto citopático directo

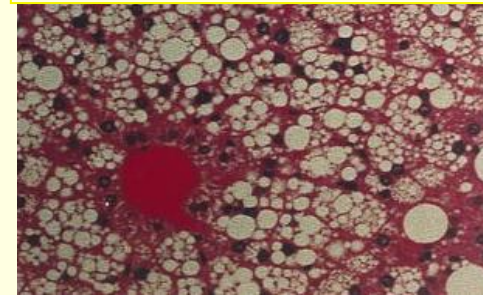
Sólo en inmunosuprimidos: ej. *fibrosis* por (sub)genotipo



C2 del **HBV**

Ratones UPA-SCID (*inmunodeficientes con hígado humanizado*)

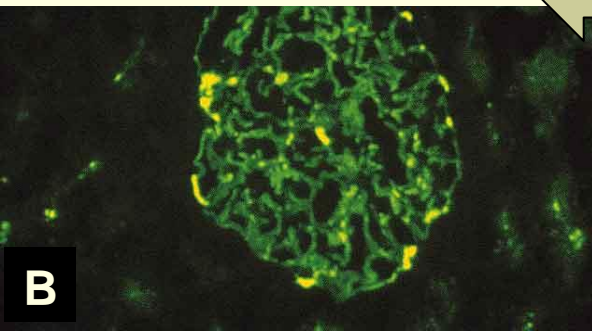
Esteatosis por **HCV**



■ Patología mediada por la Rta. inmune

Humoral (inmunocomplejos)

Glomerulonefritis membranosa
(**HBV** / **HCV**)

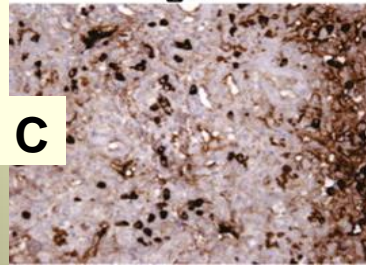


Celular

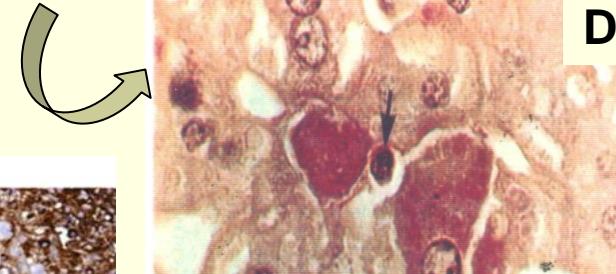
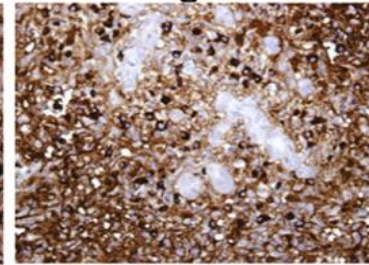
(Citotoxicidad: CTL, NK y NKT)

Hepatitis aguda
fulminante por **HBV**

IgM

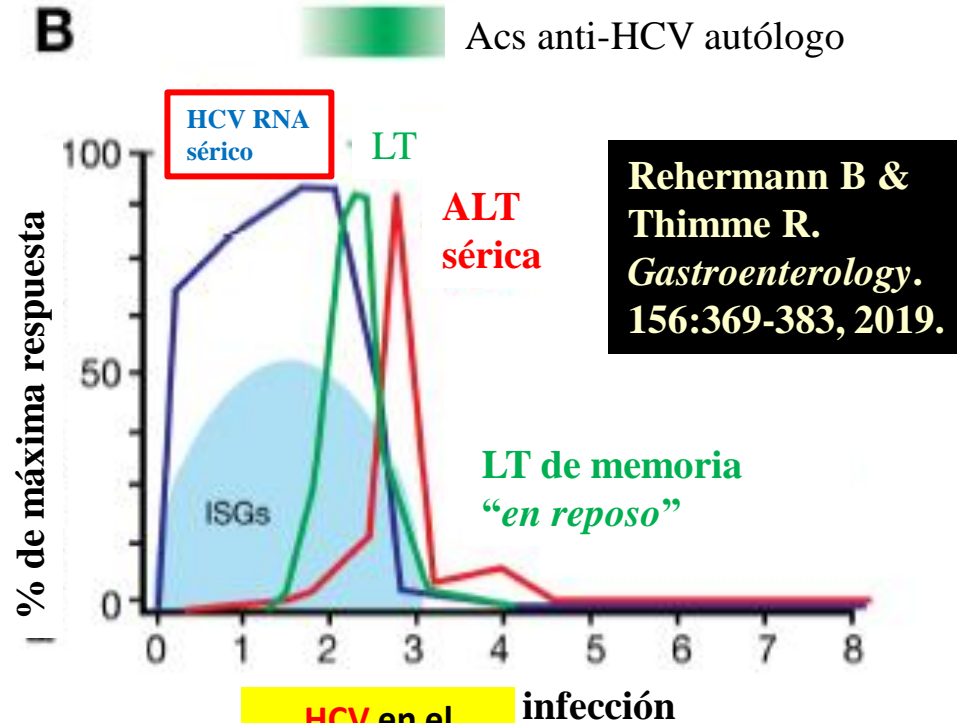
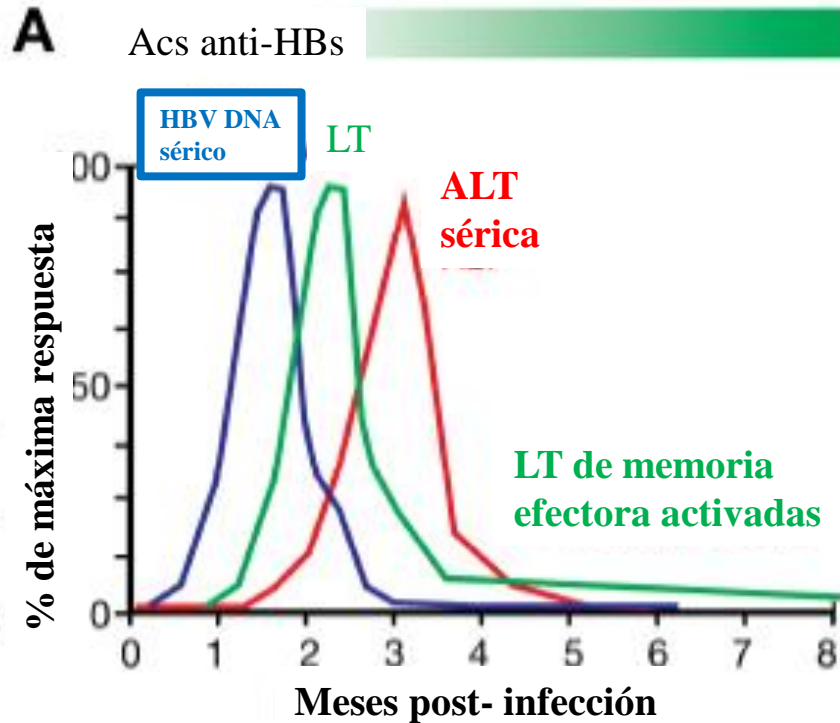


IgG



Hepatitis aguda
crónica por
HBV o **HCV**

Evolución immuno-virológica inicial de las infecciones por HBV y por HCV



HBV replica en el hepatocito sin activar genes ISGs



¡No pasa desapercibido! Se sintetizan productos de genes ISG



Qué sabemos y qué ignoramos

	What we know		What we do not know	
	HBV	HCV	HBV	HCV
Innate Response	<ul style="list-style-type: none"> – no ISG induction “stealth virus” 	<ul style="list-style-type: none"> – strong ISG induction 	<ul style="list-style-type: none"> – mechanisms circumventing ISG-induction 	<ul style="list-style-type: none"> – relative role of ISGs in HCC and HCV-mediated interference with hepatic IFN system
	<ul style="list-style-type: none"> – functional and phenotypical alterations of NK cells – IFN therapy leads to activation of immunity <ul style="list-style-type: none"> – DAA therapy leads to rapid downregulation of ISGs and normalization of NK cell phenotype 		<ul style="list-style-type: none"> – Responsible pathways and reversibility of NK cell alteration 	
Adaptive Response	<ul style="list-style-type: none"> – viral clearance associated with multi-specific CD4+ and CD8+ T cell responses 		<ul style="list-style-type: none"> – relative role of cytolytic- versus non-cytolytic effector mechanisms 	
	<ul style="list-style-type: none"> – enrichment of T cells at the site of infection 		<ul style="list-style-type: none"> – impact of liver environment on function and phenotype of immune cells – nature of immune responses that drive disease progression 	
	<ul style="list-style-type: none"> – early loss of CD4+ T cell help leads to viral persistence 		<ul style="list-style-type: none"> – mechanisms responsible for early CD4+ T cell failure 	
	<ul style="list-style-type: none"> – T cell dysfunction and viral escape contribute to T cell failure 		<ul style="list-style-type: none"> – relative role of different mechanisms of T cell failure 	
	<ul style="list-style-type: none"> – antiviral therapy leads at least to partial recovery of virus-specific T cell recovery 		<ul style="list-style-type: none"> – extent to which antiviral therapy and viral control lead to restoration of protective immunity 	
	<ul style="list-style-type: none"> – humoral immune responses detectable 		<ul style="list-style-type: none"> – role of antibodies and B cells in different disease phases 	<ul style="list-style-type: none"> – contribution of antibodies to viral control



Hepatocarcinoma por HBV y HCV: *síntesis*

Vías compartidas

- ↑Inflamación – fibrosis – cirrosis
- ↑Señalización Ca^{++} mediada
- ↑TGF- β
- ↑Estrés oxidativo
- ↓P53
- ↑Wnt / β catenina

Vías específicas de c/virus

- Inestabilidad genómica: HBV integración; HCV: core NS3, NS5A
- Activación de oncogenes: HBV mutagénesis insercional; Proteínas HCV
- Depósito de Fe (poliproteína HCV)
- Aberraciones cromosómicas (HBV > HCV)
- Metilación del DNA: HCV > HBV



Infecciones persistentes crónicas: modelo hepatitis C

✓ **PARTE I**

- ✓ ¿Por qué algunas infecciones son habitualmente agudas y otras frecuentemente persistentes crónicas?
- ✓ ¿Cuáles son los elementos de la Rta. Inmune y de los virus que se asocian con frecuencia a infecciones persistentes crónicas?
- ✓ ¿Cómo actúan?
- ✓ Algunos ejemplos de importancia médica

✓ **PARTE II: la infección por HCV**

✓ **PARTE III: comparación con la infección producida por HBV.**

➤ **Síntesis.**



HEPATITIS C : SÍNTESIS (I)

- ✓ Enfermedad aguda o muy frecuentemente persistente crónica infecto-contagiosa causada por 1 único serotipo del HCV, con 7 genotipos asociados a diferencias en la respuesta a la terapéutica con DAAD.
- ✓ La infección es captada por diversos sensores, por lo que se sintetizan ISGs.
- ✓ La inmunidad mediada por los LT CD8+ es regulada por los LT CD4+, la que se evanece en quienes evolucionarán hacia la cronicidad.
- ✓ Los anticuerpos neutralizantes perduran períodos breves y protegen frente al virus infectante (autólogo).
- ✓ El HCV elabora múltiples estrategias de evasión a la Rta. Inmune innata y adaptativa, tanto humoral como celular.



HEPATITIS C: SÍNTESIS (II)

- ✓ Existe compartimentalización de cuasiespecies del HCV en diversos órganos y aún dentro de un mismo órgano.
- ✓ Se producen manifestaciones hepáticas y extra-hepáticas con eventual compromiso renal, cutáneo, linfoideo y –raramente- del SNC, pudiendo observarse eventos inflamatorios y –en determinados casos- también tumorales.
- ✓ El virus promueve mecanismos de daño hístico directos (por ej. la esteatosis) e indirectos (por ej. la hepatitis crónica –mediada por la respuesta T débil, oligoclonal y oligo- o mono-específica-, o la vasculitis o la glomerulonefritis mediadas por el depósito de inmunocomplejos).



Premio Nobel 2018 en Fisiología o Medicina



James P. Allison y Tasuku Honjo recibieron el galardón el 1-10-2018 por sus descubrimientos sobre CTLA-4 y PD-1, reguladores de la inmunoterapia anti-tumoral. ¡Extraordinaria implicancia en Virología: ensayos clínicos en curso para las hepatitis crónicas B y C!





*¡Un nuevo “amanecer” venturoso asoma
para los pacientes con hepatitis C...!*