

## Infección persistente por el Virus de la Hepatitis C: papel de las células dendríticas

Ivonne Rubio<sup>\*</sup>, María Cristina Navas<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Estudiante de Maestría. Grupo infección y Cáncer. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

<sup>\*\*</sup> M.Se. Ph.D. Profesora asistente. Grupo de Gastrohepatología. Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia

Correspondencia al autor: [macris.navas@medicina.udea.edu.co](mailto:macris.navas@medicina.udea.edu.co)

Recibido para evaluación: 11/11/2003- Aprobado para publicación 9/12/2003

---

### Resumen

El virus de hepatitis C (VHC) es el agente causal de la hepatitis no A no B de transmisión parenteral el cual se caracteriza por producir infección persistente hasta en un 80% de los individuos infectados. La persistencia viral es atribuida al uso de múltiples estrategias de evasión de la respuesta inmune por el VHC, entre las que se encuentran la generación de variantes virales que escapan a la respuesta de LT citotóxicos y a la capacidad de infectar células del Sistema Inmune como linfocitos B, macrófagos y células dendríticas. La infección de células del sistema inmune puede inducir modificaciones en su función; algunos estudios postulan que el VHC puede bloquear el proceso de maduración, disminuir la producción de interleuquina 12 y la expresión de moléculas coestimuladas en células dendríticas (CDs), lo que podría correlacionarse con alteraciones en la capacidad de inducir proliferación de LT por células dendríticas; sin embargo, los mecanismos del VHC para inducir alteraciones en la función de CDs no han sido totalmente dilucidados.

El conocimiento de los blancos moleculares del VHC en las células dendríticas humanas será útil en el estudio y desarrollo de medicamentos y vacunas efectivas en el control de la infección por VHC.

**Palabras clave:** Virus de Hepatitis C, persistencia viral. Células Dendríticas, alteraciones funcionales.

---

### Abstract

Hepatitis C Virus is the main cause of parentally transmitted non A-non B hepatitis; the

principal feature of HCV is development of persistent infection in up to 80% of patients. Several viral strategies to escape from host immune response could explain the high frequency of persistent infection; HCV viral variants evading CTL response and its ability to infect hematopoietic cells (B cells, macrophages and Dendritic cells) have been suggested as potentially mechanism for viral persistence. Indeed, infection of immune system cells could impair their function and subsequently lead to inability of the immune system to eliminate the virus. Some studies have been provided evidence that HCV can modify maturation of DC, IL-12 level production and CD80 and CD86 level expression that could explain in the DC low stimulatory ability in allogeneic mixed leukocyte reaction described in DC cultures from HCV chronically infected patients. However, mechanisms involved in DC alterations are unknown. The study and description of HCV molecular targets in DC could be useful in design of antiviral agents and an effective vaccine to control the global health burden of this virus.

**Key words:** HCV, persistent infection, dendritic cells.

## Introducción

El VHC es un virus ARN perteneciente a la familia *Flaviviridae*, identificado en 1989 como el principal agente etiológico de hepatitis no A no B de transmisión parenteral y una de las principales causas de enfermedad hepática crónica (1). Entre el 50 y el 80% de los pacientes infectados desarrollan una infección persistente de evolución variable (2, 3). Dentro de los diversos factores virales implicados en el desarrollo de la infección persistente por el VHC se han identificado la cinética de la replicación y el genotipo, las estrategias de evasión de la respuesta inmune como variación antigénica y asociación de las partículas virales con b-lipoproteínas e inmunoglobulinas y las estrategias de modificación de la respuesta inmune como alteración de la regulación de citoquinas, en especial interleuquina (IL) 12 e IL-10, inhibición de la proteína quinasa dependiente de RNA (PKR) y alteración de la regulación de la apoptosis de células infectadas, entre otros (4-10).

En esta revisión se describe la capacidad del VHC de infectar células mononucleares de sangre periférica (MN5P), en particular células dendríticas, como estrategia para el desarrollo de infección persistente.

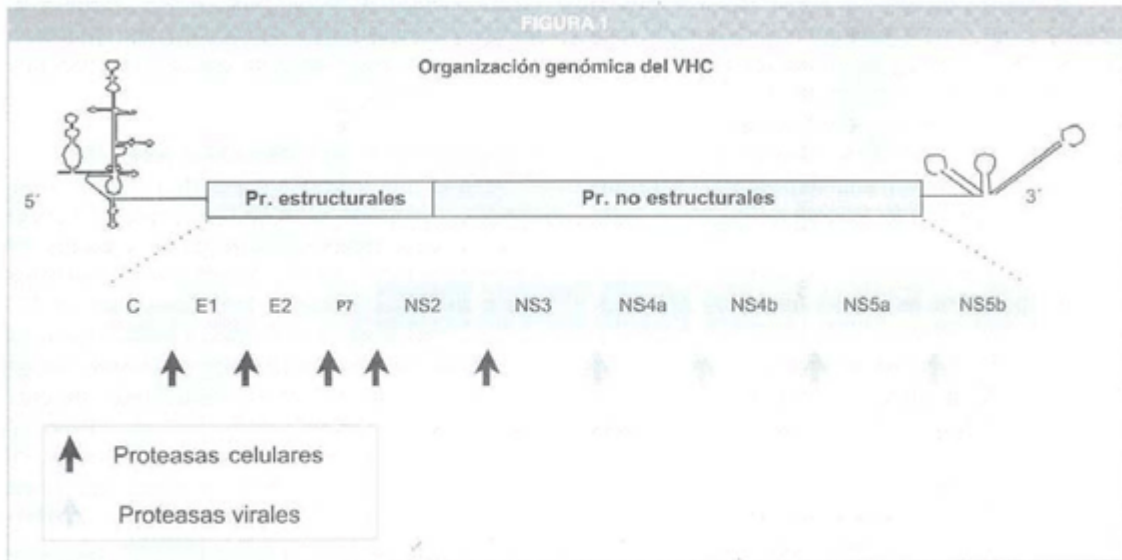
### Generalidades del VHC

El genoma del VHC está constituido por una cadena de ácido ribonucleico (ARN) de sentido positivo de aproximadamente 9600 nucleótidos (nt), con un solo marco de lectura abierto (ORF del inglés "open reading frame") que codifica para una poliproteína de aproximadamente 3022 aminoácidos (a.a.); el ORF está flanqueado por dos regiones no traducibles (UTR del inglés "untranslated region"). el extremo 5' (5'UTR) permite la traducción de la poliproteína (11, 12), mientras que el extremo 3' (3'UTR) es indispensable para la síntesis de cadenas de ARN complementarias de sentido negativo, las cuales sirven como molde o plantilla para la síntesis de nuevas cadenas de ARN genómico (13).

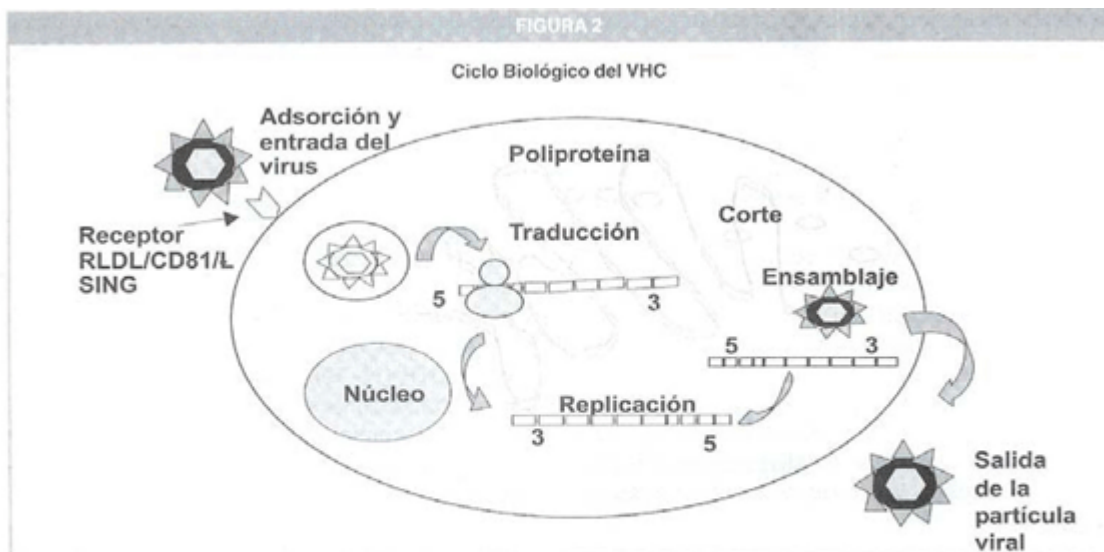
El primer paso para la entrada del virus al hepatocito es la adhesión de la partícula viral al receptor celular; hasta el momento se han propuesto cuatro receptores como candidatos para permitir la entrada del VHC en la célula blanco; tres receptores en el hepatocito: el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL-R) que se expresa en todas las células nucleadas (14, 15), la molécula CD81 ampliamente expresada en células hematopoyéticas pero principalmente linfocitos B (LB) (16) y la molécula L-SIGN ó CD209L (del inglés "*Liveri lymph node-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing integrin*") expresada específicamente en hepatocitos (17) y un receptor en las células dendríticas (CDs); DC-SIGN por su capacidad para unirse a la glicoproteína E2 del VHC (18).

Una vez endocitada la partícula viral, y luego de la descapsidación, el ARN genómico es traducido directamente gracias al reconocimiento por parte del ribosoma de una estructura secundaria conocida como IRES (del inglés "*Internal ribosomal entry site*") en la región 5'UTR

(11, 12), La poliproteína es procesada co y postraduocional mente por diferentes proteasas celulares y dos proteasas virales (19) generándose diez proteínas: tres proteínas estructurales (Core, E1 y E2) que representan (a unidad estructural de la cápside y las glicoproteínas de envoltura viral respectivamente, seis proteínas no estructurales (NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a y NS5b) encargadas de la replicación del virus y la proteína P7 cuya función se desconoce (Figura 1). Recientemente, se ha descrito una nueva proteína del VHC conocida como proteína F que está codificada por un ORF que se sobrepone al ORF de la proteína Core y que es sintetizado como resultado de un *frame-shifting* en la secuencia inicial del ORF de Core. La detección de anticuerpos antiproteína F en el suero de pacientes con infección por el VHC, sugiere la expresión de la proteína F durante la infección natural por el VHC (20).



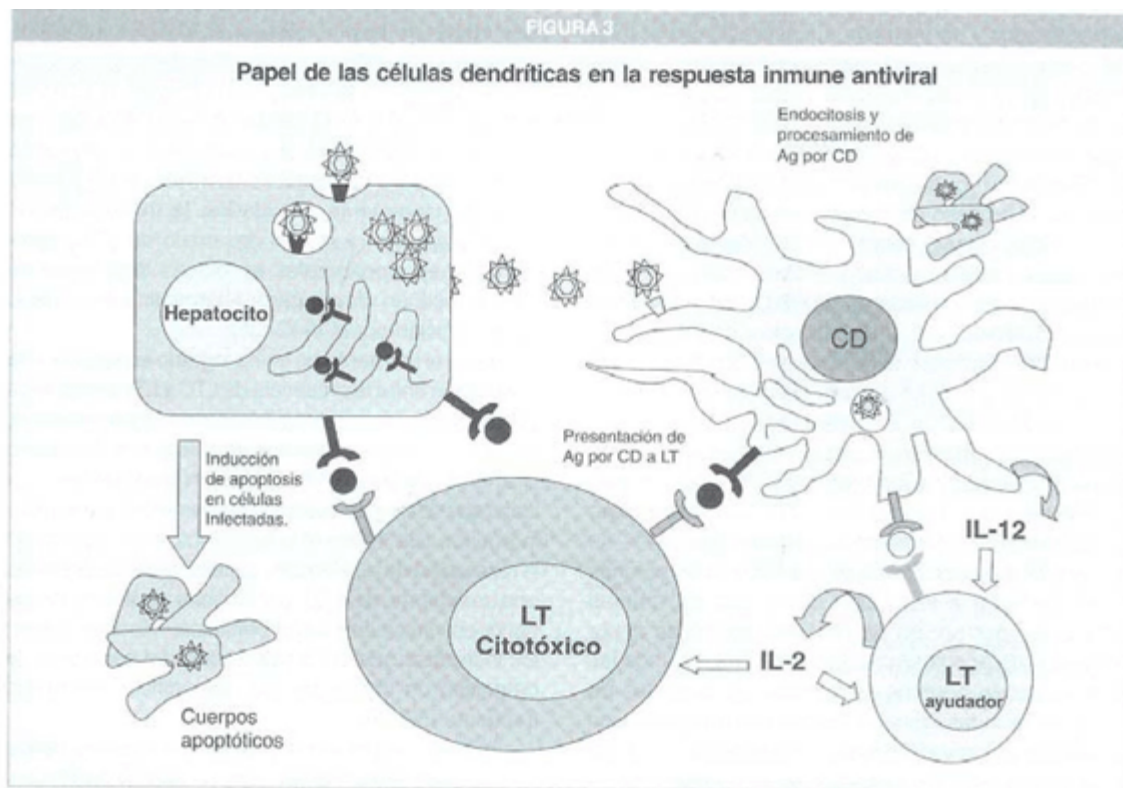
Estructura del genoma del VHC. El genoma del VHC consta de una cadena de ARN de sentido positivo que codifica para una poliproteína. Esta región está ubicada entre dos regiones no traducibles (5' UTR y 3' UTR) las cuales permiten la traducción de la poliproteína y la síntesis de cadenas de RNA antígenómico respectivamente. Las flechas indican el sitio donde ocurre el corte de la poliproteína por proteasas celulares (flecha negra) o por proteasas virales (flecha gris).



Descripción del ciclo de replicación del VHC: la entrada del virus a la célula es mediada por receptores (RLDL, CD81, L-SIGN y DC-SIGN), una vez endocitado, el virus se descápsida y libera el material genético al citoplasma, el cual es directamente traducido por el ribosoma gracias al reconocimiento del 5' UTR. La poliproteína viral es procesada por proteasas virales y celulares en el retículo endoplásmico en proteínas estructurales y no estructurales, estas últimas median la replicación del genoma viral y posteriormente la partícula viral se ensambla y se libera de la célula por gemación a través del sistema de membranas del aparato de Golgi.

Una vez sintetizadas las proteínas, el ensamblaje de la partícula viral se inicia por la interacción de la proteína Core con el ARN genómico; durante este proceso las proteínas de envoltura E1 y E2 son retenidas en los compartimentos del retículo endoplásmico (21) donde el virus adquiere

la envoltura por gemación a través de las membranas de retículo endoplásmico. Posteriormente las partículas virales son liberadas de la célula infectada vía del aparato de Golgi (22). (Figura 3).



Los virus ARN poseen como característica el que las ARN polimerasas dependientes de ARN que codifican no poseen actividad correctora ó "*proofreading*". por lo que se genera una tasa de error entre  $10^3$  y  $10^{-4}$  nt, dando origen a la variabilidad del virus, un fenómeno que ha sido descrito ampliamente en el VHC.

Basado en análisis de secuencias genómicas, los aislados del VHC se clasifican en seis genotipos que se denominan con los números del 1 al 6 (23) y más de 50 subtipos denominados 1a, 1b, 2a, 2b, etc. Además de los genotipos y subtipos del VHC, el secuenciamiento de los genomas de partículas virales aisladas de un paciente pone en evidencia la existencia de una población heterogénea de virus estrechamente relacionados conocidos como cuasiespecies (24).

Los genotipos más ampliamente distribuidos son 1, 2 y 3, siendo el genotipo 1 el más frecuente en Estados Unidos, Europa y Japón. En Colombia, el genotipo 1 también se ha identificado como el genotipo predominante según estudios realizados en Bogotá y Medellín (25, 26).

### Respuesta a la infección por VHC

Al igual que en todas las infecciones por virus. durante la Infección por el VHC la respuesta inmune innata actúa en los primeros días con la producción de interferones tipo I (INFa/b) por las células infectadas que inducen la producción de enzimas como la 2'5' oligoadenilatosintetasa (2'5'OAS) y la PKR que a su vez inhiben la síntesis de proteínas en las células infectadas. En el VHC se han identificado dominios específicos de la proteína NS5a y de la proteína E2 capaces de interactuar con la enzima PKR alterando su función. De esta forma, la NS5a interactúa directamente con el dominio protein kinasa catalítico de PKR lo que parece explicar la resistencia del VHC a los mecanismos antivirales mediados por INF (27).

Con relación a la respuesta inmune adaptativa, la inducción de la respuesta celular específica se inicia con la activación de linfocitos T (LT) no sensibilizado o "naive" por parte de células presentadoras de antígeno (APC del inglés "*antigen presenting cell*"). Entre las diferentes APC que posee el sistema inmune, se incluyen las CD que existen en el organismo como una población de APCs muy potentes, clasificadas en distintas subpoblaciones según diversos parámetros. Según la clasificación propuesta por Banchereau y cois (28), las CD se clasifican en CD tipo I generadas a partir de precursores mieloides CD34+ y CD tipo II generadas a partir de precursores linfoides y que expresan el receptor para IL-3 (RIL-3+) (28). Las CD tipo I o mieloides incluyen las células de Langerhans que se encuentra en epidermis y mucosas y las CD intersticiales que se encuentran en la dermis; por su parte las CD tipo II o linfoides se encuentran en tejido linfóide primario (médula ósea y timo) y secundario (ganglios linfáticos, bazo y tejido linfóide asociado a mucosas). Las CD mieloides pueden ser obtenidas directamente de piel (células de Langerhans) o por diferenciación a partir de monocitos CD14+ procedentes de mucosas ó sangre periférica o células precursoras CD34+ de cordón umbilical (29).

Las diferentes poblaciones de CD existen tanto en estadio inmaduro como maduro, siendo las CD inmaduras las células especializadas en la captura de antígenos por macropinocitosis, endocitosis mediada por receptores y fagocitosis de células necróticas y apoptóticas (30) debido a los altos niveles de complejo mayor de histocompatibilidad II (CMH-II) intracelular, bajos niveles de moléculas coestimuladoras CD80 y CD86 expresadas en membrana, niveles intermedios de CD la expresada en membrana y ausencia de expresión de CD83, una molécula que se expresa exclusivamente en CD maduras y en linfoblastos B (31); por su parte, las CD maduras están especializadas en presentar los antígenos endocitados a los LT, asociados a moléculas CMH-I y/o CMH-II (32). La importancia de las CD radica en que tienen un papel en la inmunomodulación de la respuesta inmune mediada por LT (Th1 o Th2), y en la inducción de tolerancia inmunológica.

El estímulo generado por la endocitosis del antígeno y por la secreción de otras citoquinas como el TNF $\alpha$  y la IL-1 por los macrófagos inicia el proceso de maduración de las CD; en este proceso las CD disminuyen casi completamente la expresión de receptores de manosa y receptores Fc tipo I y II y aumenta la expresión de moléculas CMH-II, CD40, CD80, CD86 e inicia la expresión de CD83; el proceso de maduración se evidencia por la disminución de la capacidad fagocítica y su especialización como APC (33). También aumenta la expresión del receptor CCR7 que le permite migrar a favor de un gradiente de quimioquinas, logrando ubicarse en ganglios linfáticos adyacentes; una vez allí, las CD presentan los péptidos antigénicos en el contexto CMH-I y/o CMH-II a LT no sensibilizados y de memoria. La activación linfocitaria se hace efectiva en la medida en que puedan interactuar las moléculas coestimuladoras expresadas en la membrana de las CD (CD80, CD86) con sus ligandos en el LT (CD27, CD28), la interacción de CD40 de la CD con su ligando en el LT (CD40L), permite culminar el proceso de maduración de las CD.

En este microambiente inmunológico, diversos estímulos tales como la correcta interacción de moléculas coestimuladoras CD80/CD86 con CD27/ CD28, CD40-CD40L y la secreción de citoquinas, favorece la inducción de la respuesta tipo Th1 (IL-12) o Th2 (IL-10) por parte de las CD (34).

Cuando las CD son infectadas por un virus, procesan los antígenos virales en el proteasoma y los presentan asociados a moléculas CMH-I para inducir la respuesta de LT citotóxicos (LTC) que representan la principal línea de defensa antiviral, mediando su acción por la producción de citoquinas proinflamatorias como el INF $\gamma$  e inducción de la lisis de células infectadas por acción de enzimas citolíticas o por inducción de apoptosis mediada por Fas. Cuando las CD lisan cuerpos apoptóticos procedentes de células infectadas, generalmente estos antígenos son procesados y presentados en el contexto del CMH-II e inducen una respuesta inmune celular mediada por LT ayudadores (LTA) (Figura 3). Además, los antígenos endocitados pueden ser procesados por una vía alterna y presentados en el contexto CMH-I, por un proceso llamado "cross priming".



El reconocimiento del antígeno por las CD, ocurre por la interacción entre varios tipos de receptores, como los receptores tipo Toll (TLRs del inglés "*Toll like receptor*"), los receptores Fc y las lectinas tipo C que reconocen patrones moleculares de patógenos. La activación mediada por estos receptores generan señales en las CD que permiten la endocitosis del antígeno mediada por los receptores, el procesamiento del antígeno en un sistema de vacuolas endocíticas tempranas y tardías y la generación de señales de activación principalmente por el factor nuclear kB (NFkB), un factor de transcripción que regula la expresión de citoquinas proinflamatorias como la IL-12 y el TNF $\alpha$  y de moléculas coestimuladoras, dando inicio al proceso de maduración de las CD. Sin embargo, algunos virus pueden directa o indirectamente modular la función de las CD e interferir con el tipo de respuesta inmune inducida.

En el caso de la Infección por el VHC, se produce una respuesta específica de LTA y LTC en las primeras semanas después de la infección (35). Así, durante la fase aguda de la infección por el VHC los individuos infectados pueden lograr la resolución clínica y virológica total de la Infección o el desarrollo de una infección persistente; sin embargo, aunque los factores de la respuesta inmune que determinan la resolución de la infección o el desarrollo de infección persistente no están claramente dilucidados, la mayoría de los estudios apuntan a que el desarrollo de LTC contra múltiples epítopes virales en etapas tempranas de infección serían claves para determinar la resolución de la infección por el VHC (36).

Hasta el momento no se ha logrado establecer una correlación entre la presencia de LTC y LTA específicos para varios epítopes antigénicos en sangre periférica, los niveles séricos de transaminasas y el aclaramiento viral o el desarrollo de infección persistente. Los hallazgos de diversos estudios sugieren que en aquellos individuos que logran el aclaramiento viral, y por tanto la resolución de la Infección, generalmente se presenta una respuesta de LTC específicos contra múltiples epítopes virales en sangre periférica, mientras que en los individuos que desarrollan infección persistente la detección de clones de LTC específicos es menos frecuente (37, 38).

Adicionalmente se ha descrito una diferencia entre la respuesta inmune observada en sangre periférica y la respuesta localizada en hígado, hallazgos que coinciden con lo descrito en Infecciones experimentales en chimpancés en donde se ha confirmado la presencia de niveles fluctuantes de alanina amino transferasa (ALT) en la infección natural que impide establecer correlación entre esta variable y la evolución de la infección viral, al igual que una diferencia significativa entre la respuesta Inmune celular específica mediada por LTC y LTA en sangre periférica e intrahepática descrita en estudios anteriores realizados en pacientes.

En la infección experimental en chimpancés se observó además que la respuesta intrahepática es el único parámetro que se correlaciona con el curso clínico de la infección por el VHC de forma tal que chimpancés infectados experimentalmente que presentaron aclaramiento viral (eliminación del virus) presentan una potente respuesta de LTC y LTA multiespecífica Intrahepática, mientras en chimpancés que desarrollaron infección persistente la respuesta intrahepática estuvo prácticamente ausente. En los chimpancés que presentaron aclaramiento viral transitorio también se demostró una respuesta Inmune multiespecífica tanto de LTC como de LTA, aunque en menor grado que en el caso de aclaramiento viral total (39, 40). Sin embargo, un estudio posterior también realizado con chimpancés infectados experimentalmente, no logró demostrar una diferencia significativa en el desarrollo de la respuesta de LTC y LTA en sangre periférica en el caso de infección persistente o resolución completa de la infección (41). Estos resultados sugieren que otros factores tanto del hospedero como del virus podrían influir en la evolución de la infección, además del desarrollo de una respuesta Inmune celular intrahepática adecuada.

Entre los mecanismos virales que podrían estar Implicados en el desarrollo de infecciones persistentes, los cuales se resumen en la [tabla 1](#), se incluye la capacidad del VHC de infectar células del sistema inmune, mecanismo que se describe a continuación.

**TABLA 1**

**Proteínas de VHC que favorecen el desarrollo de infecciones persistente: resumen de los mecanismos de acción de las proteínas virales que favorecen el desarrollo de infección persistente**

Proteína	Función	Mecanismo de acción	Efecto
Core	Unidad estructural de la cápside viral	Interacción con el extremo carboxi-terminal de P53	Modulación de la actividad del promotor de P53
		Colaboración con H-ras	Inducción de inmortalización y transformación celular en fibroblastos murinos
		Translocación a núcleo	Modulación de la expresión de promotores celulares y virales
		Interacción con los dominios citoplásmicos de receptores TNF-1, LTβ y Fas	Inducción de apoptosis o efectos anti apoptóticos en diferentes líneas celulares
		Mecanismo desconocido	Inducción de alteraciones en la función de macrófagos y células dendríticas
E2	Interacción con E1 media la entrada a la célula	Bloqueo de la fosforilación del eIF2α	Inhibe la activación de PKR
		Regiones Hipervariables 1 y 2	Genera variantes que escapan a la respuesta LTC
NS5a	Función desconocida	Interacción con STAT-3	Inhibe PKR

**Infección de células del sistema inmune como mecanismo de persistencia viral**

Aunque se reconoce el hepatocito como la principal célula blanco de infección por el VHC (42), la reinfección de hígados transplantados en pacientes infectados con el VHC (43) pone en evidencia la capacidad del virus para infectar y multiplicarse en otras poblaciones celulares diferentes a hepatocitos (44,45). En los primeros estudios realizados en MNSP de pacientes con Infección persistente por el VHC, se cuestionó la presencia del genoma del VHC en esta población celular debido a la falta de especificidad de las pruebas utilizadas. Sin embargo, estudios posteriores han aportado evidencias del tropismo del VHC por las células del sistema inmune. Este tropismo alterno del VHC se ha demostrado mediante la detección del ARN genómico y antigenómico (de sentido negativo) del virus en cultivos de MNSP infectados in vitro con suero de pacientes positivos para la infección por el VHC (VHC+) y en donde la detección del ARN antigenómico se considera como un marcador de la replicación viral (46). Estos hallazgos fueron confirmados por la evidencia de infección viral in vivo por el VHC en células del sistema inmune procedentes de pacientes con infección persistente por el VHC en las cuales se detectaron secuencias del genoma viral en linfocitos B (LB) hasta en el 95% de las muestras analizadas (47) y en subpoblaciones de monocitos (48). Por último, la demostración de la multiplicación del VHC en líneas celulares de LT y LB aporta una evidencia adicional que sustenta la hipótesis que el VHC es capaz de infectar células del sistema inmune (49). Sin embargo, en ningún caso se ha logrado demostrar la generación de nuevas partículas virales lo que sugiere que estas subpoblaciones virales poseen capacidad infectante pero que la infección no es productiva, es decir, que no produce nuevas partículas virales.

El VHC también es capaz de infectar CDs dado que en estudios in vitro con CDs humanas diferenciadas a partir de MNSP de donantes sanos expuestas a sueros de pacientes con infección crónica por el VHC. se detectó ARN viral genómico y antigenómico sin la formación de nuevas partículas virales, indicando un proceso de replicación viral inicial en esta población celular (50), Teniendo en cuenta la detección de ciertas cuasiespecies en forma exclusiva en CDs procedentes de pacientes con infección crónica, la capacidad del VHC para infectar CDs podría estar

relacionada directamente con la presencia de mutaciones en tres sitios específicos en la secuencia 5'UTR: inserción de G entre las posiciones 1S y 20, sustitución de C por A en la posición 204 y sustitución de G por A en la posición 243, (51).

Estudios recientes describen la capacidad de la glicoproteína E2 del VHC para unirse a la molécula DC-SIGN presente en las CDs, una molécula de adhesión dependiente de calcio tipo no integrina, identificada como receptor de alta afinidad de la molécula ICAM-3 expresada en LT. La unión de E2 y DC-SIGN puede ser bloqueada por anticuerpos específicos contra el dominio lectina de DC-SIGN, la presencia de mañano o de quelantes de calcio (18). Estos hallazgos aportan un elemento adicional que sustenta la capacidad del VHC de infectar ías CDs, lo que representaría un evento clave en el establecimiento de la infección persistente teniendo en cuenta las funciones de las CDs.

### **Inducción de alteraciones funcionales en CD por el VHC**

Los primeros estudios de la posible interacción del VHC y las CDs se realizaron en CDs murinas, transduciendo CDs con vectores adenovirales recombinantes y posteriormente evaluando la capacidad de éstas para estimular LT. Estos estudios revelaron que las CDs que expresaban proteínas del VHC tienen una capacidad disminuida para estimular LT en una reacción mixta de leucocitos y bajos niveles de producción de IL-12 (52). En estudios posteriores se comparó la función de las CDs de pacientes con infección crónica, de donantes sanos y de pacientes respondedores a largo termino al tratamiento, según la capacidad para inducir proliferación linfocitaria y según la producción de citoquinas proinflamatorias. específicamente IL-12 (53, 54); en estos estudios se demostró que existe una baja capacidad de la CD de estimulación de los LT alogénicos y se propone que esto es debido no solo a un bajo nivel de producción de IL-12 sino también a una disminuida expresión de moléculas coestimuladas ras CD80/CD86, lo que podría estar induciendo tolerancia inmunológica. Aufferman y col. (54) además de observar disminuida expresión de moléculas coestimuladoras, describe que en pacientes con infección crónica, las CDs mantienen el fenotipo inmaduro a pesar de la estimulación con TNF $\alpha$  lo que se correlaciona con el desarrollo de Infección persistente. La alteración en la capacidad estimuladora de las CDs también se confirma por el estudio realizado por Bain y col (55): sin embargo, estos autores observaron que los niveles de IL-12 y moléculas coestimuladoras (CD80, CD86), en cultivos de CDs procedentes de pacientes con infección crónica fueron comparables con el de los individuos sanos y los pacientes respondedores a largo término al tratamiento (55).

Para dilucidar cuáles proteínas del VHC están implicadas en el desarrollo de una respuesta inmune deficiente, se realizó un estudio donde se probaron varios constructos utilizando Virus Vaccinia recombinante (rVV) que expresaban diferentes proteínas del VHC los cuales se evaluaron en un modelo murino (56). En este estudio se observó en los ratones infectados con rVW que expresaban proteínas estructurales del VHC (Core-E1-E2) una mortalidad cerca del 90% seis días después de la infección y supresión de la respuesta de LTC específicos. La construcción de vectores virales que contenían deleciones en las secuencias correspondientes a proteínas estructurales permitió identificar la proteína Core como la proteína responsable de los efectos descritos anteriormente.

Sin embargo, hasta el momento se desconoce si las proteínas estructurales del VHC podrían afectar la habilidad de las CD para inducir una respuesta primaria y secundaria de LT autólogos y si la activación anormal de LT específicos para el VHC ocurre en pacientes con infección crónica. Experimentos realizados con CDs de donantes sanos y de pacientes con infección crónica por el VHC infectadas con adenovirus recombinante (rAd) que contenía la secuencia Core-E1, permitieron comprobar que los LT activados por CDs que expresan proteínas virales del VHC tienen una baja producción de IL-2, sugiriendo que estas CDs inducen una estimulación anormal que lleva al LT a un estado de activación incompleta (57).

Estos resultados son confirmados por el hallazgo de Kim y cols (53) en el cual la transfección de CDs murinas con plásmidos que codifican para la proteína Core del VHC generó alteraciones en la capacidad de inducir proliferación de LT alogénicos y alteraciones en la producción de IL-12



en CD4, luego del estímulo de maduración con lipopolisacárido (LPS)(58).

De otra parte, para valorar el efecto directo de la proteína Core sobre la función de CD4, un estudio evaluó el efecto de proteínas del VHC recombinantes (Core, E2 y NS3) en cultivos de monocitos y CD4 procedentes de donantes sanos y pacientes con infección crónica por el VHC. En este estudio se observó que las proteínas Core y NS3 inducen un aumento en la producción de TNF- $\alpha$  e IL-10, y disminución en la producción de IL-12, especialmente en los cultivos de CD4 de pacientes. Además, se demostró que las CD4 presentaban una menor capacidad de inducir linfoproliferación comparado con las CD4 procedentes de donantes sanos(59); estos resultados sugieren que la endocitosis de estas proteínas representan una estrategia adicional de interacción de proteínas virales y las CD4 ([Figura 4](#)); esta estrategia podría darse durante la infección natural teniendo en cuenta que se han detectado niveles circulantes de proteína Core en suero de pacientes con infección crónica (60, 61).

A pesar de estas evidencias, recientemente se publicó un estudio en el cual se describe la ausencia de alteraciones funcionales de las CD4 durante la infección crónica por el VHC(62); sin embargo, es importante mencionar que los resultados registrados en el artículo corresponden a un preinforme y que hacen falta otras mediciones como la demostración de presencia de LT de memoria circulantes específicos para el VHC en los pacientes con infección crónica VHC+. para aseverar que la función de las CD4 en estos pacientes es normal.

En resumen, hasta el momento existen evidencias que están a favor de la inducción de alteraciones funcionales en las CD4 por el VHC o por proteínas virales del VHC, especialmente por la proteína Core, las cuales sugieren que existe una alteración en la capacidad de estimular LT y en la producción de IL-12; sin embargo, los resultados no son concluyentes por lo que es necesario continuar los estudios del efecto de la infección del VHC y especialmente de la proteína Core en CD4. Por otro lado, se hace indispensable tener en cuenta que para el establecimiento de la infección persistente es necesaria la acción en conjunto de múltiples mecanismos y el análisis de estos mecanismos no debe hacerse en forma separada, sino acoplada dentro de la estrategia multievasora del virus a través de la cual el VHC ataca simultáneamente diversos mecanismos celulares y moleculares del sistema de defensa.

## Conclusiones

El VHC desarrolla en la mayoría de los casos infecciones persistentes debido a que combina varias estrategias de evasión de la respuesta inmune. Una de las proteínas que más se ha descrito por su capacidad de alterar la respuesta inmune es la proteína COIB que corresponde a la subunidad estructural de la cápside viral, debido a que existen evidencias que sugieren la capacidad de inducir modificaciones funcionales en las CD4 y por tanto deficiencias en la capacidad de esta célula de activar LT e inducir una respuesta inmune efectiva para el control de la infección viral. Dentro de las alteraciones funcionales inducidas en las CD4 por la proteína Core, la que más se ha documentado ha sido la disminución de la producción de IL-12. Otras alteraciones funcionales como disminución en el nivel de expresión de moléculas coestimuladoras CD80 y CD86 aún no ha sido ampliamente demostrado debido a que los resultados obtenidos hasta el momento no son concluyentes. Además, en ningún estudio se ha podido explorar cuáles serían los mecanismos que podrían estar siendo afectados por la proteína Core en las CD4 y que puedan explicar los resultados obtenidos en los estudios. El conocimiento de las interacciones de la proteína Core con proteínas celulares durante el proceso de activación y maduración de las CD4 nos orientaría acerca de cuáles puntos podrían ser intervenidos para inhibir dichas interacciones y abriría un camino nuevo en el desarrollo de medicamentos y vacunas efectivas en el control de la infección viral.

## Agradecimientos

A la Doctora Sara Robledo del Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) de la Universidad de Antioquia, por sus valiosos aportes en la corrección del presente manuscrito.

## Referencias

- 1 Choo Q.L., Kuo G-, Weiner A.J. Isolation of cDNA fragment from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis agent. *Science* 1989; 244: 359-362.
2. Seeff LB. Natural history of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26:21S-28S.
3. Alberti A, Chemello L, Benvagnu L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999: 31:17-24.
4. Toyoda H, Fukuda Y, Nakano I, Katano V, Takayama T, Kumada T, Nakano S, Takamatsu J, Saito H, Hayakawa T. Quasispecies nature of hepatitis C virus (HCV) in patients with chronic hepatitis C with mixed HCV subtypes. *J Med Virol* 1998; 54:80-5.
5. Mita E, Hayashi N, Kanazawa V, Hagiwara H, Ueda K, Kasahará A, Fusamoto H, Kamada T. Hepatitis C virus genotype and RNA titer in the progression of type C chronic liver disease. *J Hepatol* 1994; 21:468-73.
- 6.Maggi F,Fornal C,Vatteroni ML,Giorgi M,Morrica A,Pistello M,Cammarota G,Marchi S,Ciccorossi P,Bionda A,Bendinelli M, Differences In hepatitis C virus quasispecies composition bet ween liver, peripheral blood mononuclear cells and plasma. *J Gen Virol* 1997: 78:1521-5.
7. Mellor J, Haydon G, Btair C, Livingstone W. Simmonds P. Low level orabsent in vivo replication of hepatitis C virus and hepatitis G virusl GB virus C in peripheral blood mononuclear cells. *J Gen Virol* 1998; 79:705-14.
- 8.Laskus T,Radkowski M,Wang LF,Jang SJ,Vargas H.Rakela J. Hepatitis C virus quasispecies in patients infected with HIV-1: correlation wilh extrahepatic viral replication, *Virology* 1998; 15;164-71
- 9.Monazahian M.Kippenberger S,Muller A,Seitz H.Bohme I,Grethe S,Thomssen R. Binding of human lipoproteins (low, very low, high density lipoproteins) to recombinant envlope proteins of hepatitis C virus. *Med Microbiol Immunol (Bari)* 2000; 188:177-84
- 10.Tai DI,Tsal SL,Chen YM,Chuang YL,Peng CY,Sheen IS,Yeh CT,Chang KS,Huang SN,Kuo GC,Liaw YF. Activation of nuclear factor kappa B in hepatitis C virus infection: Implications for pathogenesis and hepilocarcinogenesis, *Hepatology* 2000: 31: 656-64.
- 11.Tsukiyama-Kohara K,Hzuka N.Kohara M,Nomoto. A Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. *J Viról* 1992;66:1476-83.
- 12.Wang C,Sarnow P,Siddiqui A. Translation of human hepatitis C virus RNA in cultured cells in mediated by an Internal ribosome-binding mechanism. *J Virol* 1993; 67:3338-44.
- 13.Schuster C,Isel C,Imbert I,Ehresmann C,Marquet R,Kleny MP. Secondary structure of the 3' terminus of hepatitis C virus minus-strand RNA. *J virol* 2002; 76:8058-68.
14. Thomssen R, Bonk S, Propfe C, Heermann KH, Kochel HG, Uy A. Association of hepatitis C virus in human sera with beta-lipoprotein. *Med Microbiol immunol (Berl)* 1992; 181:293-300.
15. Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other ftaviviridae viruses enter cells via low dansity lipoproteln receptor. *Proc Natí Acad Sci US A*1999; 96: 12766-71.
16. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, Welner AJ, Houghton M, Rosa DT Grandl G, Abrignani S. Binding of hepatitis C virus to CD81, *Science* 1998;30:938-41.
17. Gardner JP, Durso RJ, Artígale RR, Donovan GP, Maddon PJ, Dragic T, Olson WC. L-SIGN (CD

- 209L) isa liver-specific capture receptor for hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 5; 100: 4496-503.
18. Pohlmann S, Zhang J, Baribaud F, Chen Z, Leslle GJ, Lin G. Granelí-Piperno A, Doras RW, Rice CM, McKeating JA. Hepatitis C virus glycoproteins interact with DC-SIGN and UC-SIGNR. *J Virol* 2003; 77:4070-80.
19. Komoda Y, Hijikata M, Tanji Y, Hirowatari Y, Mizushima H, Klmura K, Shimotohno K. Processing of hepatitis C viral polyprotein in Escherichiacofi. *Gene* 1994; 5; 145:221-6.
20. Xu Z, Choi JT Yen TS, Lu W, Strohecker A, Govindarajan S, Chlen D, Selby MJ, Ou J. Synthesis of a novel hepatitis C virus protein by ribosomal frameshift. *EMBOJ*. 2001; 20: 3840-a.
21. Dubuisson J, Hsu HH, Cheung RC, Oreenbeig HB, Russell DG, Rice CM. Formation and intracellular localization of hepatitis C virus envelope glycoprotein complexes expressed by recombinant vaccinia and Sindbis viruses. *J Virad* 1994; 68: 6147-60.
22. Sato K, Okamoto H, Aihara S, Hoshi Y, Tanaka T, MíshíroS. Demonstraron of sugarmoiety on the suriace of hepatitis C virions recovered from the circulation on infected humans. *Virulogy* 1993; 196: 354-7.
- 23 Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genellc hoterogeneity of the hepatitis C virus. *Princesa Takamatsu Symp*. 1995: 25: 75-91.
24. Martell M, Esteban Ji, Quer J, Genesca J, Weiner A, Esteban R, Guardia J, Gómez J. Hepatitis C virus (HCV) circúalos as a population of different but closely related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. *J. Virol*. 1992; 66: 3225-3229.
25. Botero, R.C., Rojas E., Idrovo, V.. Genotipos del virus de la hepatitis C (HCV) en Santa fé de Bogotá. *Rev. Colombiana Gastroenterol*. 1997; XII: 15-20.
26. Yepes A. Álvarez C. Restrepo JC, Correa G, Zapata JC, Arango AE. Viral genotypes in patients with hepatitis C virus infection in Medellin. *Gastroenterol Hepatot* 2002; 25: 334-5.
27. Gale M Jr, Blakely CM. Kwieciszewski B, Tan SL, Dossett M, Tang NM, Korth MJ, Polyak SJ, Gretch DR, Katze MG. Control of PKR protein kinase by hepatitis C virus nonstructural 5A protein: molecular mechanisms of kinase regultion. *Mol Cell Biol* 1996; 18: 5208-18.
28. Banchereau, J., Steiman, R.M. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252.
29. Palucka KA, Taqnet N, Sanchez-Chapuis F. Gluckman JC. Dendritic cells as the terminal stage of monocyte differentiation. *J Immunol* 1998; 160:4587-95.
30. Sallusto, F., Lanzavecchia, A. Efficient presentaron of soluble antigen by culture human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; 173: 1109-1118.
31. Zhou LJ, Tedder TF. Human blood dendrilic cells selectively express CD83, a member of the immunoglobulin superfamily. *J immunol* 1935: 154(3): 3821-35.32.
32. Banchereau, J., Steiman, R.M. Dendritic cell and the control of immunity. *Nature* 1998; 392:245-252.
33. Inaba K, Pack M, Inaba M. Sakuta H, Isdell F Steinman RM. High levéis of a major histocompatibility complex II-self peptide complex on dendritic cells from the T cells áreas of lymph nodes. *J. Exp. Med* 1997; 186: 665-672.

34. Saint-Vis B, Fugler-Vivier I, Massacrier C, Gaillard C, Vanbervliet B, Ait-Yahia S, Banchereau J, Liu YJ, Lebecque S, Caux C. The cytokine profile expressed by human dendritic cells is dependent on cell subtype and mode of activation. *J Immunol* 1998; 160:1666-1676.
35. Bruña-Romero D, Lasarte JJ, Witkinson G, Grace K, Clarice B, Borrás-Cuesta F, Prieto J. Induction of cytotoxic T-cell response against hepatitis C virus structural antigens using a defective recombinant adenovirus. *Hepatology* 1997; 25:470-7.
36. Pape GR, Geriach TJ, Diepolder HM, Gruner N, Jung M, Santantonio T. Role of the specific T-cell response for clearance and control of hepatitis C virus. *J Viral Hepat* 1999; 6: 35-40.
37. Missaël G, Bertoni R, Lamonaca V, Valli A, Mas sari M, Mori C, Rumi MG, Houghton Wf, Fiaccadori F, Ferrari C. Different clinical behaviors of acute hepatitis C virus infection are associated with different vigor of the antiviral cell-mediated immune response. *J Clin Invest* 1995; 1; 98:706-14.
38. Cucchiari M, Kammer AR, Grabscheid B, Diepolder HM, Gertach TJ, Gruner N, Santantonio T, Reichen JT, Pape GR, Cerny A. Vigorous peripheral blood cytotoxic T cell response during the acute phase of hepatitis C virus infection. *Cell Immunol* 2000; 1:203:111-23.
39. Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, Wieland S, Pemberton J, Steiger C, Govindarajan S, Purcell RH, Chisari FV. Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 26; 99:15661-8.
40. Forns X, Thimme R, Govindarajan Sr, Emerson SU, Purcell RH, Chisari FV, Bukh J. Hepatitis C virus lacking the hypervariable region 1 of the second envelope protein is infectious and causes acute resolving or persistent infection in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 21: 97: 13318-23.
41. Thomson M, Nascimbeni M, Havert MB, Major M, Gonzales S, Alter H, Feinstone SM, Murthy KK, Rehermann B, Liang TJ. The clearance of hepatitis C virus infection in chimpanzees may not necessarily correlate with the appearance of acquired immunity. *J Viral* 2003; 77:862-70.
42. Negro F, Pacchioni D, Shimizu Y, Miller RH, Bussolati G, Purcell RH, Bonino F. Detection of intrahepatic replication of hepatitis C virus RNA by in situ hybridization and comparison with histopathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 15; 89: 2247-51.
43. Boker KH, Dalley G, Bahr MJ, Maschek H, Tillmann HL, Trautwein C, Oldhaver K, Bode U, Pichlmayr R, Manns MP. Long-term outcome of hepatitis C virus infection after liver transplantation. *Hepatology* 1997; 25: 203-210.
44. Shimizu YK, Igarashi H, Kanematu T, Fujiwara K, Wong DC, Purcell RH, Yoshikura H. Sequence analysis of the hepatitis C virus genome recovered from serum, liver, and peripheral blood mononuclear cells of infected chimpanzees. *J Virol* 1997; 71:5769-73.
45. Laskus T, Radkowski M, Piasek A, Nowicki M, Horban A, Cianciara J, Rakela J. Hepatitis C virus in lymphoid cells of patients coinfecting with human immunodeficiency virus type 1: evidence of active replication in monocytes/macrophages and lymphocytes. *J Infect Dis* 2000; 181: 442-448.
46. Cribier B, Schmitt C, Bingen A, Kim A, Keller F. In vitro infection of peripheral blood mononuclear cells by hepatitis C virus. *J Gen Virol*. 1995; 76:2485-91.
47. Zehender G, Meroni L, De Maddalena C, Varchetta S, Monti G, Galli M. Detection of hepatitis C virus RNA in CD19 peripheral blood mononuclear cells of chronically infected patients. *J Infect Dis* 1997; 176:1209-14.
48. Lerat H, Rumin S, Habersetzer F, Berby F, Traub MA, Trepo C, Inchauspe G. In vivo tropism of hepatitis C virus genomic sequences in hematopoietic cells: influence of viral load,

viral genotype, and cell phenotype. *Blood* 1998; 91:3841-9.

49. Hu Y, Shahidi A, Park S, Guilfoyle D, Hirshfield I. Detection of extrahepatic hepatitis C virus replication by a novel, highly sensitive, single-tube nested polymerase chain reaction. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 96-100.

50. Navas MC, Fuchs A, Schvoerer E, Bohbot A, Aubertin AM, Stoll-Keller F. Dendritic cell susceptibility to hepatitis C virus genotype 1 infection. *J Med Virol* 2002; 67:152-81.

51. Laporte J, Bain C, Maurel P, Inchauspe G, Agut H, Cahour A. Differential distribution and infernal transiation efficiency of hepatitis C virus quasispecies present in dendritic and liver cells. *Blood* 2003; 101: 52-7.

52. Hiasa Y, Horlike N, Akbar SM, Saito I, Miyamura T, Matsuura Y, Onji M. Low stimulatory capacity of lymphoid dendritic cells expressing hepatitis C virus genes. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 249: 90-5.

53. Kanto T, Hayashi N, Takehara T, Tatsumi T, Kuzushita N, Ito A, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. Impaired allostimulatory capacity of peripheral blood dendritic cells recovered from hepatitis C virus-infected individuals. *J. Immunol* 1999; 68: 4776-4784.

54. Auffermann-Gretzinger S., Keeffe E. Levy S. Impaired dendritic cell maturation in patients with chronic, but not resolved, hepatitis C virus infection. *Blood* 2001; 15:3171-3176

55. Bain C, Fatmi A, Zoulim F, Zarski JP, Treppe C, Inchauspe A. Impaired allostimulatory function of dendritic cells in chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology* 2001; 120:512-524.

56. Large, M. K.; Kittlesen, D. J., and Hahn, Y. S. Suppression of host immune response by the core protein of hepatitis C virus: possible implications for hepatitis C virus persistence. *J. Immunol* 1999; 162: 931-938.

57. Sarobe P, Lasarte JJ, Casares N, Lopez-Diaz de Cerio A, Baixeras E, Labarga P, García N, Borrás-Cuesta F, Prieto J. Abnormal priming of CD4(+) T cells by dendritic cells expressing hepatitis C virus core and E1 proteins. *J Virol* 2002; 76: 5062-70.

58. Kim HS, Lee JK, Yang IH, Ahn JK, Oh YI, Kim CJ, Kim YS, Lee CK. Identification of hepatitis C virus core domain inducing suppression of allostimulatory capacity of dendritic cells. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 364 - 9.

59. Dolganiuc A, Kodys K, Kopasz A, Marshall C, Do T, Romies L Jr, Mandrekar P, Zapp M, Szabo G. Hepatitis C virus core and nonstructural protein 3 proteins induce pro- and anti-inflammatory cytokines and inhibit dendritic cell differentiation. *J Immunol* 2003; 170:5615-24.

60. Masalova OV, Atanadze SN, Samokhvalov EI, Petrakova NV, Kalinina TI, Smirnov VD, Khudyakov YE, Fields HA, Kushch AA. Detection of hepatitis C virus core protein circulating within different virus particle populations. *J Med Virol* 1998; 55:1 - 6.

61. Maillard P, Krawczynski K, Nitkiewicz J, Bronnert C, Sidorkiewicz M, Gounon P, Dubuisson J, Faure G, Crainic R, Budkowska A. Nonenveloped nucleocapsids of hepatitis C virus in the serum of infected patients. *J Virol* 2001; 75: 8240-50.

62. Longman RS, Talal A, Jacobson IM, Albert ML, Rice CM. Patients chronically infected with hepatitis C virus have functional dendritic cells. *Blood* 2003 (in press).

---

© 2011 *Asociación Colombiana de Infectología*.

**Calle 118 No. 15-24 Oficina 503, Bogotá, D. C., Colombia**  
**Teléfono 215 3714 y 215 3517**



