

ABORDAJE INMUNOCLINICO, MOLECULAR E INMUNOPATOLOGICO DE LA HEPATITIS CRONICA VIRAL. CONSIDERACIONES TERAPEUTICAS

IRMA V. MACHADO, LEOPOLDO DEIBIS, ELIANA RISQUEZ, PAOLO TASSINARI, MERCEDES E. ZABALETA, FELIX I. TORO, MIREN L. BAROJA, JOSE CORADO, MARIA E. RUIZ¹, LILY LONGART², CARMEN COLMENARES, ISAAC BLANCA, BEATRIZ ECHEVERRIA, NICOLAS E. BIANCO.

INSTITUTO DE INMUNOLOGIA, FACULTAD DE MEDICINA, UCV

1 INSTITUTO DE ANATOMIA PATOLOGICA, FACULTAD DE MEDICINA, UCV

2 SERVICIO DE GASTROENTEROLOGIA, HOSPITAL GENERAL DEL ESTE Dr. DOMINGO LUCIANI, IVSS CARACAS

Mediante un estudio piloto de abordaje clínico, serológico, molecular e inmunopatológico de la Hepatitis Crónica inducida por el VHB o por el VHC, determinamos que el 66% de los portadores de AgsHB se encuentra en fase "no virémica". Los portadores "virémicos" antígeno e positivo presentan tenores de ADN-VHB que varían entre >50pg a >100pg. Ambos tipos de portadores se encuentran infectados con el VHB tipo "silvestre". Cada subgrupo de portadores de antigenemia de superficie demuestra una respuesta inmunopatológica diferente. Los portadores del VHC hasta ahora investigados demuestran ARN-VHC en un 96% asociado a la positividad repetida de anticuerpos anti-VHC. Los pacientes con niveles aumentados de ALT invariablemente manifiestan signos histopatológicos de inflamación hepática compatible con HVC demostrando además la presencia de células mononucleares de sangre periférica infectadas por el VHC. La investigación genotípica del VHC practicada hasta los momentos señala el predominio del genotipo II (1b). Fenómenos autoinmunes asociados a HVC, se han detectado en solamente 3 de los pacientes. El abordaje terapéutico con interferón alfa en HVC demuestra, en principio, resultados similares a los reportados mundialmente. El enfoque integral actual de la Hepatitis Crónica por VHB y por VHC requiere de la combinación tecnológica aportada por la Inmunoquímica, Biología Molecular e Inmunología Celular.

PALABRAS CLAVE: Hepatitis por Virus B (HVB), Hepatitis por Virus C (HVC), Hepatitis Crónica Viral.

Through a pilot study which includes a clinical, molecular and immunopathological approach to the chronic Hepatitis induced by HBV or by HCV, we determined that 66% of HBsAg carriers are in the "non viremic" phase. The positive HBeAg "viremic" carriers showed HBV-DNA quantitation which varies between >50 pg to >100 pg. Both types of carries are infected with the "wild" type HBV. Each subgroup of positive surface antigenemia carriers demonstrated a differential immunopathological response. So far, 96% of the HCV carriers investigated, showed HCV-RNA associated to repeatedly positive anti-HCV antibodies. Those patients with increased ALT values uniformly expressed liver histopathological signs of inflammation caused by HCV; demonstrating also the presence of peripheral blood mononuclear cells infected with HCV. At the present, the genotypes investigation indicates a predominance of HCV genotype II (1b). Autoimmune phenomenons associated to HCV have been detected only in 3 patients. The therapeutic approach with interferon alpha applied to the HCV infection preliminarily showed similar results to those reported worldwide. Currently, a comprehensive approach to the chronic HBV and chronic HCV infections requires the application of Immunochemistry, Molecular Biology and Cellular Immunology combined technologies.

KEY WORDS: HBV: hepatitis B virus, HCV: hepatitis C virus, chronic viral hepatitis.

En la década de los 80 el significativo avance en la identificación y entendimiento de los agentes causales de hepatitis viral condujo a la extensión del conocimiento epidemiológico, inmunopatogénico y terapéutico de esta infección. La aplicación de técnicas de Inmunoquímica y Biología Molecular para el estudio de la Hepatitis B

(HVB) y más recientemente para la identificación del virus responsable de la llamada Hepatitis post-transfusional NoA-NoB, actualmente reconocida como Hepatitis por Virus C (HVC)^{1,2}, ha permitido el establecimiento de la estructura molecular de ambos virus así como la comprensión del comportamiento inmunológico de los portadores infectados. Dentro de este contexto, la presente comunicación propone el abordaje integral del paciente infectado en forma crónica por el virus de Hepatitis B (VHB) ó por el virus de Hepatitis C (VHC), enfoque basado, precisamente, en las extensiones tecnológicas aportadas por la Inmunología, la Biología Molecular y la Inmunología Celular, aplicadas secuencialmente en la investigación de ambos tipos de portadores.

MATERIALES Y METODOS

ESTUDIO PILOTO

PACIENTES. Los grupos de pacientes descritos a continuación provienen de la Consulta Ambulatoria de Inmunogastroenterología y Hepatitis Viral del Instituto de Inmunología (IDI) de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela, de tal forma que se trata de una muestra seleccionada e investigada con el diagnóstico presuntivo de ingreso de Hepatitis Crónica inducida por el VHB y/o por el VHC. Todos los pacientes son evaluados siguiendo un protocolo clínico sistematizado y diseñado específicamente en el IDI, dirigido a la investigación epidemiológica y clínica de cada infección en particular.

PORTADORES DEL VHB. Este grupo está constituido hasta el presente por 59 pacientes clasificados como portadores crónicos del VHB, con un promedio de edad de $35,7 \pm 12$ años, una relación sexo masculino/femenino de 1.4/1 y con una actividad promedio de alaninoamino-transferasas (ALT) 2.6 veces superior al límite máximo normal (período promedio de seguimiento: 5 años).

PORTADORES DEL VHC. Este grupo está conformado hasta el momento por 26 pacientes clasificados como portadores crónicos del VHC con un promedio de edad de 39.9 ± 14.9 años, una relación sexo masculino/femenino 1/1, con una actividad promedio de ALT 3.4 veces superior al límite máximo normal (período promedio de seguimiento: 2 años).

INMUNODIAGNOSTICO. Los marcadores serológicos respectivos para cada virus, la determinación de inmunoglobulinas (G, M, A.), la exploración de autoanticuerpos tipo antinucleares, antimúsculo liso, anti-DNA nativo, anti-mitocondriales, anti-microsomales tiroideos y anti-tiroglobulina; así como la detección de anticuerpos específicos para el Virus de

Inmunodeficiencia Humana (VIH) constituyen las exploraciones serodiagnósticas investigadas de acuerdo a la individualización de cada caso. Los marcadores serológicos del VHB (AgSHB, anti-superficie, anti-core IgG e IgM, AgeHB, antiHB) se practican mediante ensayos inmunoenzimáticos, ya estandarizados (Hepanostika, Organon-Teknika, Turnhout, Bélgica)³. La detección de anticuerpos específicos para el VHC se realiza, mediante ensayos inmunoenzimáticos de segunda generación⁴ que detectan anticuerpos específicos para antígenos recombinantes codificados tanto por regiones estructurales (core, envoltura) como no estructurales (NS4, NS5, representativas de enzimas de replicación) del VHC (Ortho HCV ELISA Test System, 2nd Generation, Ortho Diagnostic System, Alemania). El serodiagnóstico viral tanto para el VHB como para el VHC se practica en ambos grupos de pacientes. La pesquisa de autoanticuerpos es indicada, selectivamente, en el paciente clasificado como portador del VHB y rutinariamente en el paciente clasificado como portador del VHC.

DIAGNOSTICO MOLECULAR. ADN-VHB. La determinación del ADN-VHB en muestras de suero de los pacientes infectados por el VHB se realiza aplicando el ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), siguiendo un protocolo descrito anteriormente³. Nosotros usamos un grupo de oligonucleótidos específicos para la región codificante de la secuencia pre-core: core del genoma del VHB^{3,5}. La semi-cuantificación del ADN-VHB se lleva a cabo utilizando ADN-VHB (3.2 Kb de longitud) derivado del plásmido pAM, estimándose la cantidad de ADN-VHB presente en la muestra sobre un rango de 5- 100 pg (5, 10, 50 y 100 pg de ADN viral total).

ARN-VHC. Para la determinación del ARN-VHC, practicamos la "doble" reacción en cadena de la polimerasa ("nested" PCR) usando oligonucleótidos que reconocen la región 5' no codante, altamente conservada del genoma del VHC^{5,6}. Se ha desarrollado además, la tecnología molecular que permite identificar el genotipo del VHC que infecta a cada paciente, tecnología utilizada por Okamoto y col. quienes clasifican al VHC en 4 genotipos (I, II, III, IV)^{6,7}. Esta caracterización genotípica se basa en diferencias identificables a nivel de las secuencias del core entre las distintas variantes del VHC⁷.

INMUNOLOGIA CELULAR. En ambos tipos de portadores se emplea la técnica clásica de separación de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) mediante gradiente de Ficoll-Hypaque⁸. La población celular completa puede ser evaluada, o bien, es analizada previa purificación de la población de linfocitos T y monocitos⁹. De esta forma, se caracterizan funciones específicas de las poblaciones celulares implicadas en

la respuesta inmunológica de los hospederos infectados, como es, por ejemplo, la capacidad de respuesta proliferativa de las CMSP y/o de los linfocitos T frente a mitógenos policlonales o frente a anticuerpos dirigidos hacia moléculas de superficie como la molécula CD3 o la molécula CD28^{9,10}. La molécula CD3 media la vía clásica de activación de los linfocitos T mientras que la molécula CD28 es considerada como una vía accesoria y regulatoria de la activación linfocitaria^{9,10}. Estos estudios se complementan con el análisis de la expresión de receptores de superficie de la población linfocitaria, análisis realizado mediante citometría de flujo (EPICS 753, Coulter Corporation Hialeah, FL). La acción de ciertas citocinas como la interleucina-1 (IL-1), la IL-2 y la IL-6 es evaluada en el contexto de su influencia en el estado funcional de las CMSP y de la población de células T⁹. Paralelamente, se ha aplicado la técnica de "doble" PCR para la identificación de pacientes que presentan CMSP infectadas por el VHC⁹. En síntesis, las investigaciones practicadas aplicando tecnologías de Inmunoquímica, Biología Molecular e Inmunología Celular son dirigidas especialmente a la caracterización inmunopatológica de la infección crónica por VHB y por VHC.

ESTUDIO HISTOPATOLOGICO. Preferimos indicar la biopsia hepática bajo visión laparoscópica (L. Longart),

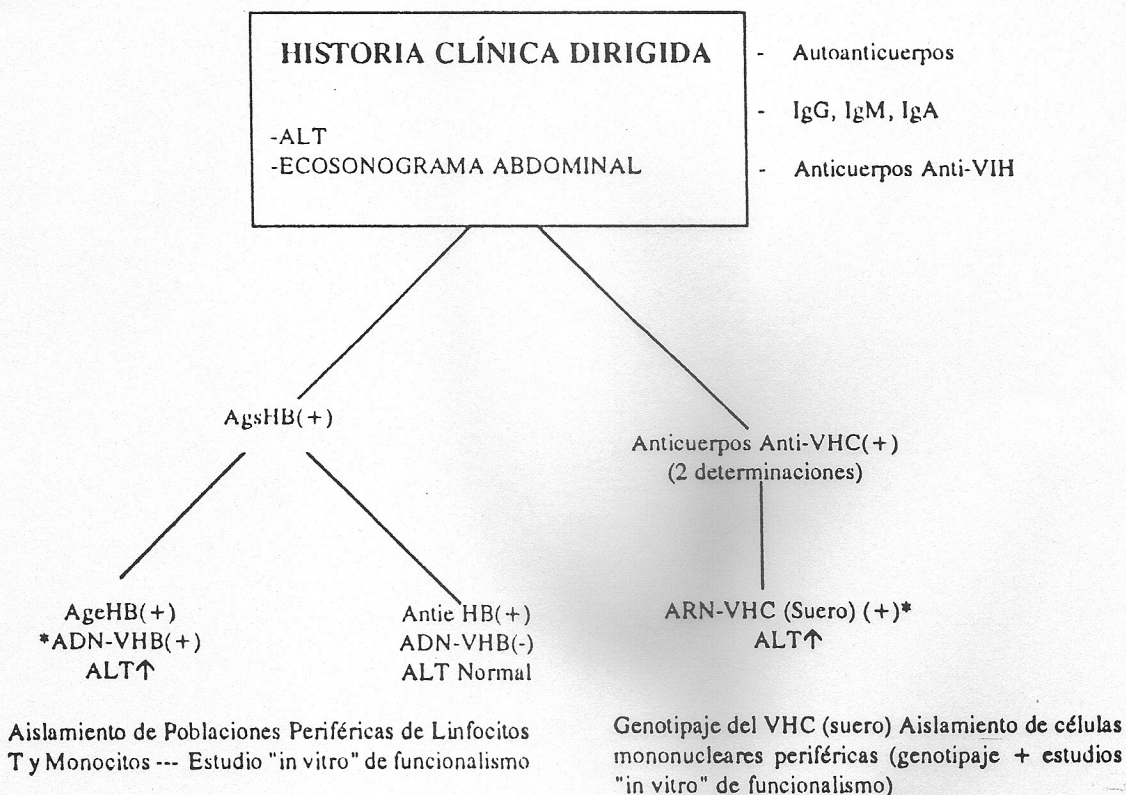
la cual permite, adicionalmente, la inspección macroscópica del hígado determinando la posible existencia de nodularidad, cirrosis o fibrosis^{11, 12}. El estudio histopatológico es realizado por un solo observador (ME. Ruíz).

PROTOCOLOS TERAPEUTICOS. La implantación de protocolos terapéuticos rigurosos en hepatitis crónica viral se ve dificultada en los países en vías de desarrollo por el alto costo de las drogas utilizadas, especialmente aquellos productos de origen recombinante cuyo desarrollo ha requerido altas inversiones. Venezuela no escapa a esta dificultad. Nosotros hemos logrado iniciar (1992) un protocolo clínico en la infección por VHC utilizando Interferón alfa 2a (Roferon A®, Productos Roche S.A., Caracas) a la dosis mundialmente aceptada como óptima para infección crónica por VHC; es decir, 3 x 10⁶ unidades administradas subcutáneamente 3 veces por semana durante 6 meses¹³. La Figura 1 describe el el algoritmo de abordaje inmunodiagnóstico e inmunopatológico que aplicamos al paciente infectado con el VHB ó con el VHC.

RESULTADOS ACUMULADOS

HEPATITIS POR VIRUS B

- El 66% (39 pacientes) de los portadores crónicos de



*Laparoscopia + Biopsia Hepática

Figura 1. Algoritmo Inmunoclínico, Inmunodiagnóstico e Inmunopatológico en Hepatitis Crónica Viral B y C.

antigenemia de superficie se encuentra en fase "no virémica" demostrándose en el 41% de ellos (16 pacientes) la intermitencia de "viremia en bajo tenor" (< 5 pg de ADN-VHB) aún en presencia de anticuerpo anti-e del VHB. Solo dos casos con estas características (AgsHB +, antieHB +, ADN-VHB +) se asocian a hepatitis crónica activa y a cirrosis hepática. La presunción de que en ambos pacientes haya ocurrido una mutación genética del VHB en el transcurso de la infección, no debe ser descartada ¹⁴.

- La presencia de antígeno "e" en 15 portadores de AgsHB se asocia, en el 100% de ellos a la existencia de viremia detectable en dinteles que varían entre > 50 pg y > 100 pg de ADN-VHB.
- En 5 pacientes no se ha detectado presencia de AgeHB y/o antieHB, permaneciendo como portadores de AgsHB y anticore IgG sin viremia detectable mediante PCR.
- En los casos seleccionados en quienes se practicó determinación de inmunoglobulinas, los valores resultaron similares a los controles: $\bar{X} \pm DE$ (Media \pm Desviación Estandar) = IgG 1572 \pm 760 mg/dl, IgM 194 \pm 97 mg/dl, IgA 212 \pm 75 mg/dl. Solo 2 casos, con diagnóstico de cirrosis hepática activa inducida por el VHB se asociaron a un incremento policlonal significativo de inmunoglobulinas ($\bar{X} \pm DS$ = IgG 4824 \pm 153, IgM 260 \pm 79, IgA 589 \pm 41) en ausencia de autoanticuerpos.
- La carga virémica, representada por el dintel circulante de AgeHB y ADN-VHB, tiende a modular la respuesta inmunológica de linfocitos T de sangre periférica del paciente portador crónico de antigenemia de superficie (ver discusión, Tabla 1).

HEPATITIS POR VIRUS C

- Hasta el presente, solo un paciente, portador crónico de anticuerpos específicos para el VHC y con hepatitis crónica establecida, no demuestra secuencias genómicas circulantes detectables de ARN-VHC. Los 25 pacientes restantes (96%) presentan "viremia" (ARN-VHC+) identificable mediante "doble" PCR (Figura 2). Aquellos pacientes con viremia detectable y aumento de ALT manifiestan invariablemente, signos histopatológicos compatibles con infección por el VHC.
- Presencia de autoanticuerpos asociada a anticuerpos específicos para el VHC ha sido demostrada en 3 pacientes: antinucleares y antimicrosomales tiroideos (1); antimicrosomales tiroideos únicamente (1), antimicrosomales tiroideos y antitiroglobulina (1). Los tres casos revelaron en suero secuencias genómicas

del VHC. Estos pacientes así como el grupo restante, demostró los siguientes valores de inmunoglobulinas: $X \pm DE$ = IgG 1761 \pm 492 mg/dl; IgG 180 \pm 84 mg/dl; IgA 294 \pm 128 mg/dl. La elevada desviación estandar respecto a la IgA se debió a 2 pacientes quienes presentaron valores altos de esta Ig (538 y 495 mg/dl respectivamente).

- En los pacientes infectados por el VHC se demostró la presencia de diferentes genotipos del virus así como la infección en algunos casos por más de un genotipo del VHC.

También es demostrable la presencia de secuencias virales en las CMSP en el 70% de los pacientes hasta ahora investigados.

- El abordaje terapéutico en curso con interferón alfa 2a, en los pacientes crónicamente infectados con el VHC muestra una respuesta inmunoclínica, molecular e inmunopatológica similar a lo reportado mundialmente, incluyendo los efectos colaterales documentados hasta el presente. Como ilustración, las Figuras 3 y 4 representan las características inmunoclínicas, e inmunopatológicas de 2 pacientes infectados crónicamente con el VHC. Las figuras incluyen los resultados obtenidos aplicando el algoritmo inmunodiagnóstico y las tecnologías de Biología Molecular e Inmunología Celular (Figura 1). La

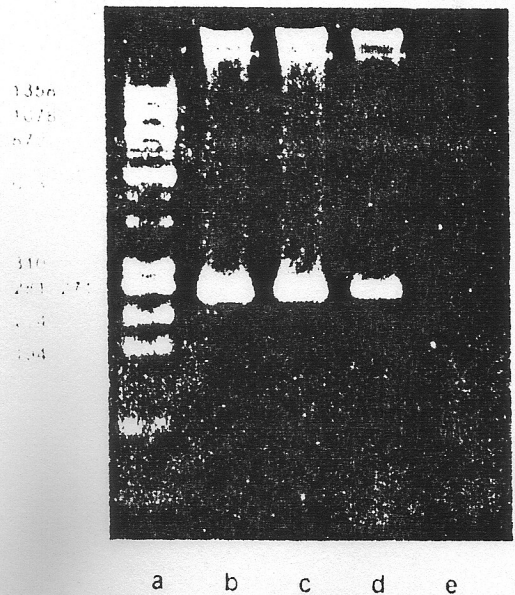


Figura 2. Identificación de secuencias genómicas del VHC e muestras de suero mediante PCR. Los fragmentos de ARN viral, amplificados por PCR fueron visualizados mediante electroforesis en geles de agarosa al 3% y tinción con bromuro de etidio. a) marcador de peso molecular, ADN del fago X174 digerido con Hae III. b) a d) muestra de suero provenientes de 3 pacientes infectados con el VHC. e) muestra de suero de individuo control sano. La flecha indica las secuencias virales de 260 pares de bases (pb) amplificadas por PCR.

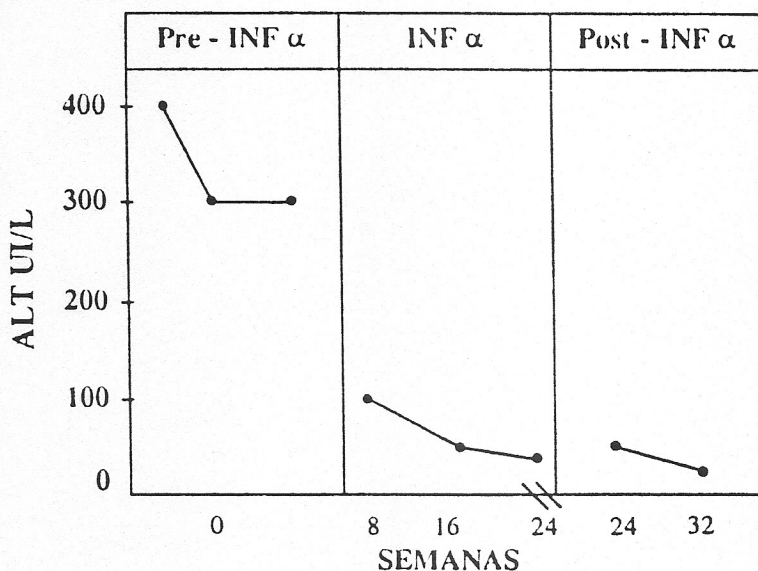


FIGURA 3. RESPUESTA COMPLETA PROLONGADA AL INF-alfa EN HVC.

Figura 3 corresponde a un paciente masculino de 37 años de edad con anticuerpos anti - VHC (+) repetidamente, pruebas de autoinmunidad negativas e histopatología con características compatibles con hepatitis crónica por VHC, con moderada actividad inflamatoria. Pre-INF alfa: ALT = 335 UI/L (promedio de 3 determinaciones). Diagnóstico Molecular. ARN-VHC (+) genotipo II Investigación Inmunopatológica. ARN- VHC (-) en células mononucleares de sangre periférica. Durante terapia con INF-alfa: ALT = 35 UI/L (promedio de determinaciones a las 8 - 16 - 24 semanas). Post-INF-alfa: ALT = 32 UI/L (promedio de determinaciones a las 24 y 32 semanas de finalizado el tratamiento). Diagnóstico Molecular ARN-VHC (-). Investigación Inmunopatológica ARN-VHC(-) en células mononucleares de sangre periférica.

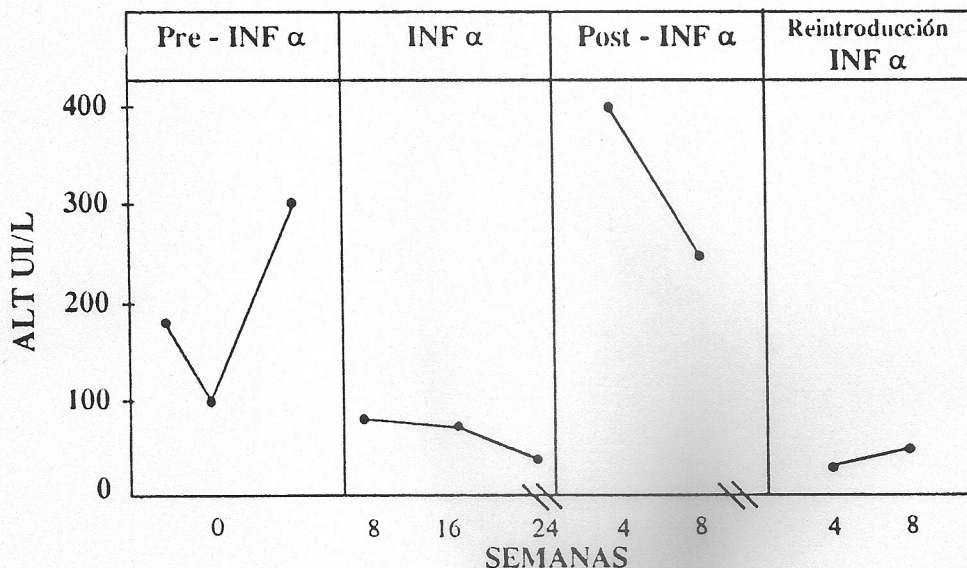


FIGURA 4. RESPUESTA COMPLETA DE CORTA DURACION AL INF - alfa EN HVC.

La Figura 4 corresponde a paciente masculino, de 36 años de edad con anticuerpos anti-VHC (+) repetidamente, pruebas de autoinmunidad negativas e histopatología con características compatibles con hepatitis crónica por VHC, con moderada actividad inflamatoria. Pre-INF alfa: ALT = 185 UI/L (promedio de 3 determinaciones). Diagnóstico Molecular ARN - VHC (+) genotipo II. Investigación Inmunopatológica ARN- VHC (+) genotipo II en células mononucleares de sangre periférica (CMSP). Durante terapia con INF - alfa: ALT = 33 UI/L. (promedio de determinaciones a las 8 - 16 - 24 semanas). ALT Post-INF - alfa = 273 UI/L (promedio de determinaciones a las 4 y 8 semanas de finalizado el tratamiento). Diagnóstico Molecular ARN-VHC(+) genotipo II. Investigación Inmunopatológica ARN-VHC (+) genotipo II en CMSP. Respuesta proliferativa de CMSP a través de la vía CD3yCD28; expresión de receptores de IL-2 en linfocitos T. Ambas exploraciones preservadas pre y post INF-alfa. ALT luego de reintroducción de INF-alfa = 34 UI/L (promedio de determinaciones durante las 4 y 8 semanas de re-introducción).

descripción se complementa con la respuesta al abordaje terapéutico, ejemplificada por dos de las respuestas características descritas en los diferentes ensayos clínicos con interferón alfa en HVC.

DISCUSION:

En Venezuela, como en el resto de Latinoamérica, la hepatitis viral es considerada un problema mayor de salud pública¹⁵. Los segmentos poblacionales de nivel socio-económico crítico, así como aquellos pacientes politransfundidos y en hemodiálisis crónica, demuestran ser comunitariamente de alto riesgo para las infecciones inducidas por el VHB, el VHC ó la combinación de ambos¹⁵. Siguiendo un protocolo clínico sistematizado para estas dos infecciones, intentamos definir ciertas características inmunoclínicas de la Hepatitis Crónica por VHB ó por VHC mediante la integración de un abordaje inmunoserológico, molecular e inmunopatológico de ambas infecciones.

Mundialmente, en la infección por VHB se reporta la existencia de portadores crónicos con carga virémica variable. Esta variación del grado infectivo real encontrado en los pacientes parece relacionarse con el patrón de contagio que puede prevalecer en las diferentes áreas geográficas así como con la proporción de aparición de hepatocarcinoma¹⁵⁻¹⁷. Así, en los países asiáticos, donde la infección por el VHB es endémica, la carga virémica detectable es de alto tenor; los portadores del VHB en su mayoría mantienen el AgsHB y el AgeHB circulantes, prevaleciendo el patrón de transmisión perinatal¹⁶. A diferencia de estos portadores considerados infectados con el tipo "silvestre" del VHB, en otras regiones como Grecia y en el resto de la faja geográfica del Mediterráneo se ha documentado, repetidamente, la existencia de portadores de mutantes o variantes naturales del VHB, tipo pre-core: core la cual se manifiesta, serológicamente, por la presencia de AgsHB, antieHB(+) y ADN-VHB(+) asociados a hepatitis crónica severa y/o a infección de carácter fulminante¹⁸. En nuestro grupo en estudio, sólo una minoría manifiesta actividad replicativa viral detectable a través de la antigenemia e y de los tenores cuantificables de ADN-VHB³. La mayoría de los portadores expresan baja viremia o viremia indetectable con presencia de anticuerpo e del VHB¹⁹. Ambos grupos confirman la existencia de infección por el VHB tipo "silvestre" ("wild type" o "nativo"). El grupo AgsHB(+), antie HB(+), ADN-VHB(-), representa al prototipo del portador "sano" ó asintomático del VHB, cuya infección ha sido adquirida habitualmente por contagio horizontal¹⁵, clasificado mundialmente como portador "no virémico", en quien puede ocurrir eventualmente la integración de secuencias del ADN-VHB en el genoma de la célula hospedera²⁰. En nuestro

estudio, estos portadores presentan hiper-reactividad funcional de sus linfocitos T cuando esta población es estimulada a través de la vía clásica de activación de linfocitos T, el complejo TCR/CD3 (receptor antigénico de células T)^{9,21}. Esta hiper-reactividad, dependiente de señales accesorias del monocito, pareciera estar relacionada con un proceso inmunológico persistente que intenta erradicar la carga viral, proceso asociado a niveles detectables de anticuerpo "e" del VHB²¹. Por el contrario, el paciente positivo para AgsHB pero con antigenemia e y ADN-VHB demostrables en alto tenor, presenta linfocitos T hipo-reactivos cuando son estimulados en iguales condiciones, hiporespuesta que se presume dependiente de la carga antigénica elevada (AgeHB+) que induce supresión parcial de la respuesta proliferativa²¹. La Tabla 1 relaciona la inmunoserología descrita con los hallazgos inmunopatológicos obtenidos en nuestras investigaciones en ambos tipos de portadores de antigenemia de superficie. Aún cuando el período de máximo estudio de estos pacientes ha sido de 8 años es pertinente hacer notar que, en los portadores "no-virémicos" no hemos encontrado elevación de la actividad de alfa-feto proteína ni alteraciones de la imagen del hígado que indiquen eventual transformación maligna.

Por otra parte, la aplicación de este extenso abordaje al paciente infectado crónico con el VHC nos ha permitido confirmar que la asociación de altos niveles de ALT con anticuerpo anti-VHC, generalmente, conduce a la presencia de dinteles detectables de ARN-VHC a nivel del suero^{6,22}. Geográficamente se ha determinado la existencia de diferentes genotipos del VHC, genotipos cuya clasificación y nomenclatura final aún se encuentra en discusión^{7,23}. Nuestros estudios preliminares indican que el genotipo II ó 1b del VHC prevalece entre nuestros pacientes, siendo también frecuente la infección múltiple, con más de un genotipo²⁴. Es más la detección de secuencias genómicas del VHC identificables genotípicamente a nivel de células mononucleares de sangre periférica resulta un hallazgo frecuente no necesariamente inductor de alteraciones funcionales de esta población celular^{6,22,24,25}.

En varias regiones geográficas se ha comprobado la existencia de asociación del VHC con enfermedad autoinmune, incluyendo hepatitis crónica autoinmune, subclasificada en este caso como subtipo 2b, es decir, pacientes en edad adulta, con autoanticuerpos anti-microsomales de hígado y riñón y dinteles moderadamente elevados de inmunoglobulinas²⁶. En nuestro segmento de pacientes VHC positivos con enfermedad hepática crónica comprobada clínica e histopatológicamente, encontramos asociación en 3 casos, de auto-anticuerpos con valores normales de inmunoglobulinas. El seguimiento continuo y prolongado

Tabla 1. INMUNODIAGNOSTICO DE LA HVB Y RESPUESTA INMUNOLÓGICA

MARCADORES HVB	RESPUESTA INMUNOPATOLÓGICA*
<p>PORTADOR VIREMICO</p> <p>AgsHB(+) AgeHB(+) Anti-e-HB(-) ADN - VHB(+) ALT > Limite Normal</p> <p>PORTADOR NO VIREMICO</p> <p>AgsHB(+) AgeHB(-) Anti-HB(+) ADN-VHB (-)** ALT Normal ó ></p>	<p>Hipo-reactividad de linfocitos T dependiente de sobrecarga antigénica (AgsHB/AgeHB). Tolerancia Inmunológica (AgeHB)</p> <p>Hiper-reactividad de linfocitos T dependiente de señales accesorias del monocito posiblemente relacionada con el proceso de erradicación viral y la persistencia de niveles séricos de anti-HB. Tolerancia Inmunológica (AgsHB)</p>

*Fuente: (21)

** Puede asociarse a replicación viral baja (ADN-VHB < 5pg)

de los mismos nos permitirá concluir si se trata de "fenómenos autoinmunes" asociados a la infección por VHC o, si llega a manifestarse una enfermedad autoinmune identificable. Es importante hacer notar que, en ocasiones, observamos elevación de la IgA en pacientes portadores del VHC, no necesariamente acompañando la presencia de auto-anticuerpos. Niveles elevados de IgA anti-VHC han sido recientemente reportados en los pacientes con enfermedad hepática activa por VHC²⁷, más aún se ha documentado que linfocitos T aislados del hígado de pacientes con anticuerpos anti-VHC positivos pueden inducir "in vitro" la producción de cantidades elevadas de IgA por parte de las células B²⁷.

Desde el punto de vista terapéutico tanto en pacientes infectados con el VHB como con el VHC, nosotros tratamos de utilizar como primera alternativa al interferón alfa. Este abordaje terapéutico lo indicamos en el portador crónico del VHB con actividad viral replicativa (AgeHB(+), ADN-VHB(+)), signos bioquímicos de inflamación hepática (ALT) e histopatología compatible con necroinflamación activa del hígado. Los pacientes infectados con el VHC seleccionados para recibir interferón alfa, son aquellos que presentan anticuerpos anti-VHC repetidamente positivos, autoanticuerpos negativos con ALT elevada, presencia de ARN-VHC en suero e histopatología compatible con actividad inflamatoria hepática. Dentro de este contexto, se han considerado múltiples factores predictivos de respuesta a la terapia con interferón alfa en pacientes infectados con el VHC²⁸, por ejemplo la presencia del genotipo II⁷, también llamado 1b²³, la demostración de co-infección con más de un genotipo del VHC²⁹ y, más recientemente

la presencia de carga viral circulante en alto tenor (> 10⁷ copias/ml)³⁰. El grupo infectado con el VHC estudiado por nosotros, que hasta ahora ha recibido terapia antiviral e inmunomoduladora con interferón alfa ha respondido siguiendo patrones ya descritos a nivel mundial^{12, 13}. Hemos observado respuestas clasificadas como respuesta completa, la cual incluye la persistencia de aminotransferasas normales y ARN-VHC no detectable, así como el patrón de respuesta de corta duración con aminotransferasas normales sólo durante el tratamiento. Sin embargo, una extensión del número de pacientes incluidos en este ensayo clínico es requerida para obtener observaciones adicionales.

CONCLUSIONES

La aplicación prospectiva de tecnologías de Inmunoquímica, Biología Molecular e Inmunología Celular como parte significativa de la implantación de un protocolo sistematizado dirigido a la investigación clínica, serológica, molecular e inmunopatológica de la Hepatitis Crónica inducida por el VHB ó por el VHC, permite adelantar las siguientes conclusiones basadas en resultados acumulados en este estudio piloto en continuo progreso:

- En Venezuela, el portador crónico de antigenemia de superficie con actividad replicativa viral baja o ausente parece ser predominante dentro del grupo de portadores adultos del VHB.
- La posible presencia de mutantes naturales tipo pre-core: core del VHB en portadores AgsHB (+), antiHB(+), ADN-VHB(+), requiere ser investigada, aunque la misma parece ser, clínica e inmunoserológicamente, poco frecuente.

- La respuesta inmunopatológica del portador "no virémico" de AgsHB es distinta a la demostrada por el portador virémico.
- Similar a lo reportado mundialmente, es posible documentar la presencia de ARN-VHC tanto en suero como en células mononucleares de sangre periférica en nuestro grupo de portadores crónicos del VHC.
- La identificación de variantes genéticas (genotipaje) del VHC se encuentra en progreso, observándose predominio del genotipo II ó 1b en la población estudiada.
- El paciente infectado por VHC puede presentar autoanticuerpos sin necesaria asociación con hipergammaglobulinemia y con presencia de viremia activa (ARN-VHC+). Niveles incrementados de IgA pueden ser demostrados independientemente de la presencia de autoanticuerpos.
- El abordaje terapéutico de las infecciones por VHB y VHC en Venezuela requiere el establecimiento de un fondo especial que permita la continuidad de dicha intervención en el segmento poblacional de recursos económicos escasos y sin garantía de seguridad social.
- La utilización de la epidemiología en su contexto más moderno asociada a la investigación inmunoclínica e inmunoserológica integral aplicada a cada paciente en particular permite la extensión del conocimiento molecular e inmunopatológico de las infecciones crónicas por VHB y por VHC en Venezuela.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Dunhart F. Human Viral Hepatitis: Hypothesis to Fact. En: Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS Ed. *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991; 5-11.
- 2.- Choo Q-L, Kuo G, Winer AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-61.
- 3.- Zabaleta ME, Toro FI, Ruiz ME, Colmenares CJ, Bianco NE, Machado IV. Assessment of former and newly developed HBV assays in a third world setting. *J Med Virol* 1992; 38: 240-5.
- 4.- Muller GL, Zabaleta ME, Arminio A, Colmenares CJ, Capriles FI, Bianco NE, Machado IV. Risk Factors for dialysis-associated hepatitis C in Venezuela. *Kidney Internat* 1992; 41: 1055-58.
- 5.- Toro FI. Biología Molecular del Virus de la Hepatitis B. Técnicas de Biología Molecular para el diagnóstico de Hepatitis Virales. En: Bianco NE Ed. *Perspectivas Actuales y Futuras de la Inmunología*. Caracas: Fondo Editorial Acta Científica Venezolana, 1993; 165-79.
- 6.- Toro FI, Corado JA, Bianco NE, Machado IV. Hepatitis C virus replication in activated peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1993; 18: 259A.
- 7.- Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S. Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers: application to clinical surveys and tracing infections sources. *J Gen Virol* 1992; 73: 673-9.
- 8.- Blanca I. Identificación y aislamiento de poblaciones mononucleares humanas. En: Contreras CE, Feo E, Ramírez R, Blanca I Ed. *Manual de Métodos en Inmunodiagnóstico*. Caracas: Fondo Editorial Acta Científica Venezolana 1985, 217-32.
- 9.- Baroja ML. Señales accesorias en la activación de linfocitos T humanos. En: Bianco NE Ed. *Perspectivas Actuales y Futuras de la Inmunología*. Caracas: Fondo Editorial Acta Científica Venezolana, 1993; 81-98.
- 10.- Corado J. Eventos intracelulares en la activación de linfocitos T. En: Bianco NE Ed. *Perspectivas Actuales y Futuras de la Inmunología*. Caracas: Fondo Editorial Acta Científica Venezolana. 1993; 101-28.
- 11.- Abdi, Miller JC, Mezey E. Sampling Variability of percutaneous liver biopsy. *Arch Intern Med* 1979; 139: 667-69.
- 12.- Schiff ER. The patient with chronic hepatitis C. *Hospital Practice* 1993; August 15: 25-33.
- 13.- Muller R. Interferons in chronic viral hepatitis. *Hepatology* 1991; 38: 4-9.
- 14.- Brown JL, William F, Carman F, Thomas HC. The clinical significance of molecular variation within the hepatitis B virus genome. *Hepatology* 1992; 15: 144-8.
- 15.- Torres JR, Machado IV. Special aspects of Hepatitis B Virus and Delta virus infection in Latin America. *Infectious Disease Clinics of North America* 1994; 8: 13-27.
- 16.- Ding-Shinn C. Control of Hepatitis B in Asia: Mass Immunization Program in Taiwan. En: Hollinger FB, Lemon SM, Margolis HS. Ed. *Viral Hepatitis and Liver Disease* Baltimore: Williams & Wilkins 1991; 716-19.
- 17.- Popper H. Pathobiology of Hepatocellular carcinoma. En: Zuckerman A J Ed. *Viral Hepatitis and Liver Disease*. New York: Alan R. Liss Inc. 1988; 719-22.
- 18.- Carman WF, Hadziyannis S, Karayiannis P, Fagan EA, Tassopoulos NC, Williams R, Thomas HC. Association of the precore variant of HBV with acute and fulminant Hepatitis B infection. En: Hollinger FB, Lemon SN, Margolis HS Ed. *Viral Hepatitis and Liver Disease* Baltimore: Williams & Wilkins, 1991; 216-19.
- 19.- Machado IV. Inmunopatogenia de la infección crónica por virus de Hepatitis B: una visión integrativa. En: Bianco NE Ed. *Perspectivas Actuales y Futuras de la Inmunología*. Caracas: Fondo Editorial Acta Científica Venezolana 1993; 201-14.
- 20.- Hoofnagle JH, Shafritz DA, Popper H. Chronic type B Hepatitis and the "healthy" HBsAg carrier state. *Hepatology* 1987; 7: 158-63.
- 21.- Baroja ML, Sirit FI, Caldera DJ, Toro FI, Zabaleta ME, Colmenares CJ, Bianco NE, Machado IV. Anti-CD3 - Activated T cells from chronic nonviremic HBV carriers are hyperreactive to monocytic accessory signals. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 69: 180-88.
- 22.- Corado JA, Toro FI, Baroja ML, Bianco NE, Machado IV. CD3 and CD28 activating pathways in HCV infection. *Viral Immunol* 1993; (en prensa).
- 23.- McOmish F, Yap PL, Dow BC, Follet EAC, Seed C, Keller AJ, Cobain TJ, Krusius T, Kolhot T, Naukkarinen R, Lin C, Lai C, Leon S, Medgyesi GA, Héjjas M, Kiyokawa H, Fukada K, Cuypers T, Saeed AA, Al-Rashed AM, Lin M, Simmonds P. Geographical Distribution of Hepatitis C Virus Genotypes in blood donors: An International Collaborative Survey. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 864-92.

- 24.- Toro FI, Corado JA, Bianco NE, Machado IV. Hepatitis C Virus genetic variants in serum and peripheral blood mononuclear cells of Venezuelan HCV- chronic carriers. *Hepatology* 1994; 19:386.
- 25.- Corado JA, Toro FI, Baroja ML, Bianco NE, Machado IV. CD3 and CD28 activation pathways in HCV patients with active viremia and HCV infected circulating mononuclear cells. *Hepatology* 1993; 18: 227A.
- 26.- Johnson PJ, McFarlane IG, Eddleston ALWF. The natural course and heterogeneity of autoimmune - type chronic active hepatitis. *Sem Liv Dis* 1991; 11: 187-96.
- 27.- Taliani G, Duca F, Clemnti L, Grimaldi F, Furlan C, Pallaria MR, Bravo S, Martuscelli S, Livoli D, Merolle A, De Bac C. Serum IgA to Hepatitis C Virus (IgA-antiHCV). *J Hepatol* 1993; 18: S176.
- 28.- Garassini MA, Alvarado MC. Hepatitis Viral C. *GEN* 1993; 47:257-73.
- 29.- Okada SI, Akahane Y, Suzuki H, Okamoto H, Mishiro S. The degree of variability in the amino terminal region of the E2/NS1 protein of hepatitis C virus correlates with responsiveness to interferon therapy in viremic patients. *Hepatology* 1992; 16: 619-24.
- 30.- Sato Y, Ikeda Y, Morishita S, Nakamura A, Inomoto T, Hozumi M, Kariya T. Alfa interferon Treatment of chronic hepatitis C: influence of the amount and subtypes of HCV RNA. *Hepatology* 1994; 19:340.

AGRADECIMIENTO: A Productos Roche, S.A., Caracas por la provisión de Interferón alfa 2a. A Enaly Pachano por la Asistencia secretarial.

Correspondencia: Irma V. Machado, Instituto de Inmunología U.C.V. Apartado 50109 Caracas 1050A. Venezuela