

E. Moreno-Cubero, E. Sanz-de-Villalobos, J. Míquel, R. Borobia, S. García-Garzón, A. Lázaro, A. González-Praetorius, C. Perna, M. Torralba, T. Hocine, J.R. Larrubia

Unidad de Hepatología Translacional. Hospital Universitario de Guadalajara. Universidad de Alcalá.

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

Durante la infección persistente por el virus de la hepatitis C (VHC), la respuesta celular citotóxica-VHC específica está dañada y se caracteriza por una baja expresión del receptor de IL-7 (CD127). La IL-7 podría modular la reactividad de los linfocitos T citotóxicos (LTC)-VHC específicos al regular la expresión del adaptador de señal de co-estimulación positiva de 4-1BB (TRAF1). En este estudio, se analizó la expresión de TRAF1 en los LTC-VHC específicos en función del grado de control viral y el papel de IL-7 sobre la reactividad de estos LTC-VHC específicos, a través de la modulación de la vía 4-1BB/TRAF1.

METODOLOGÍA

Se estudiaron un total de 28 pacientes HLA-A2+ con hepatitis C crónica por VHC genotipo 1 y se clasificaron en dos grupos: Infección Resuelta (IR) e Infección Persistente (IP). Para cuantificar los LTC-VHC específicos se obtuvieron CMSP (células mononucleares de sangre periférica) y se tiñeron con un anticuerpo monoclonal anti-CD8 y con los complejos pentaméricos HLA-A2/péptido. La proliferación de los LTC-VHC específicos se estudió en presencia y ausencia de IL-7 y CD137L (ligando del receptor 4-1BB). Se midieron los niveles de CD127 y TRAF1. Todas las células teñidas se analizaron por citometría de flujo.

RESULTADOS

Los LTC-VHC específicos de los pacientes con IP mostraron menor expresión de CD127 y TRAF1 que los de los pacientes con IR ($p=0.008$ y $p=0.025$, respectivamente) (Fig. 1A, 1B, 1C). Además, se encontró una correlación positiva entre CD127 y TRAF1 en los LTC-VHC específicos ($r=0.401$, $p=0.006$) (Fig. 1D). La estimulación específica *in-vitro* en presencia de IL-7/CD137L mejoró la capacidad proliferativa de los LTC-VHC específicos en los pacientes con IP ($p=0.048$) (Fig. 2A y 2B).

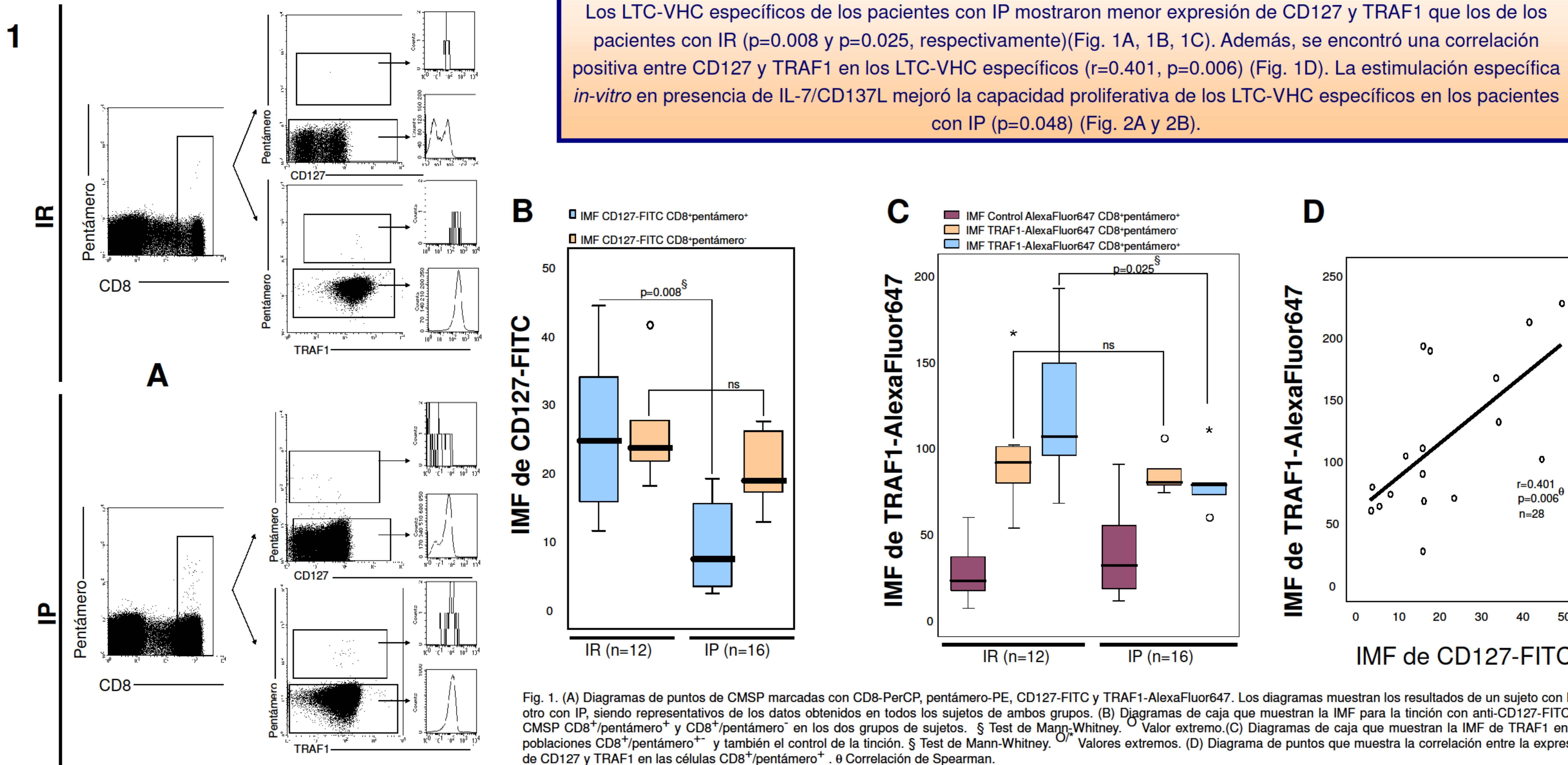


Fig. 1. (A) Diagramas de puntos de CMSP marcadas con CD8-PerCP, pentámero-PE, CD127-FITC y TRAF1-AlexaFluor647. Los diagramas muestran los resultados de un sujeto con IR y otro con IP, siendo representativos de los datos obtenidos en todos los sujetos de ambos grupos. (B) Diagramas de caja que muestran la IMF para la tinción con anti-CD127-FITC en CMSP CD8+/pentámero+ y CD8+/pentámero- en los dos grupos de sujetos. § Test de Mann-Whitney. ○ Valor extremo. (C) Diagramas de caja que muestran la IMF de TRAF1 en las poblaciones CD8+/pentámero+ y también el control de la tinción. § Test de Mann-Whitney. ○ Valores extremos. (D) Diagrama de puntos que muestra la correlación entre la expresión de CD127 y TRAF1 en las células CD8+/pentámero+. θ Correlación de Spearman.

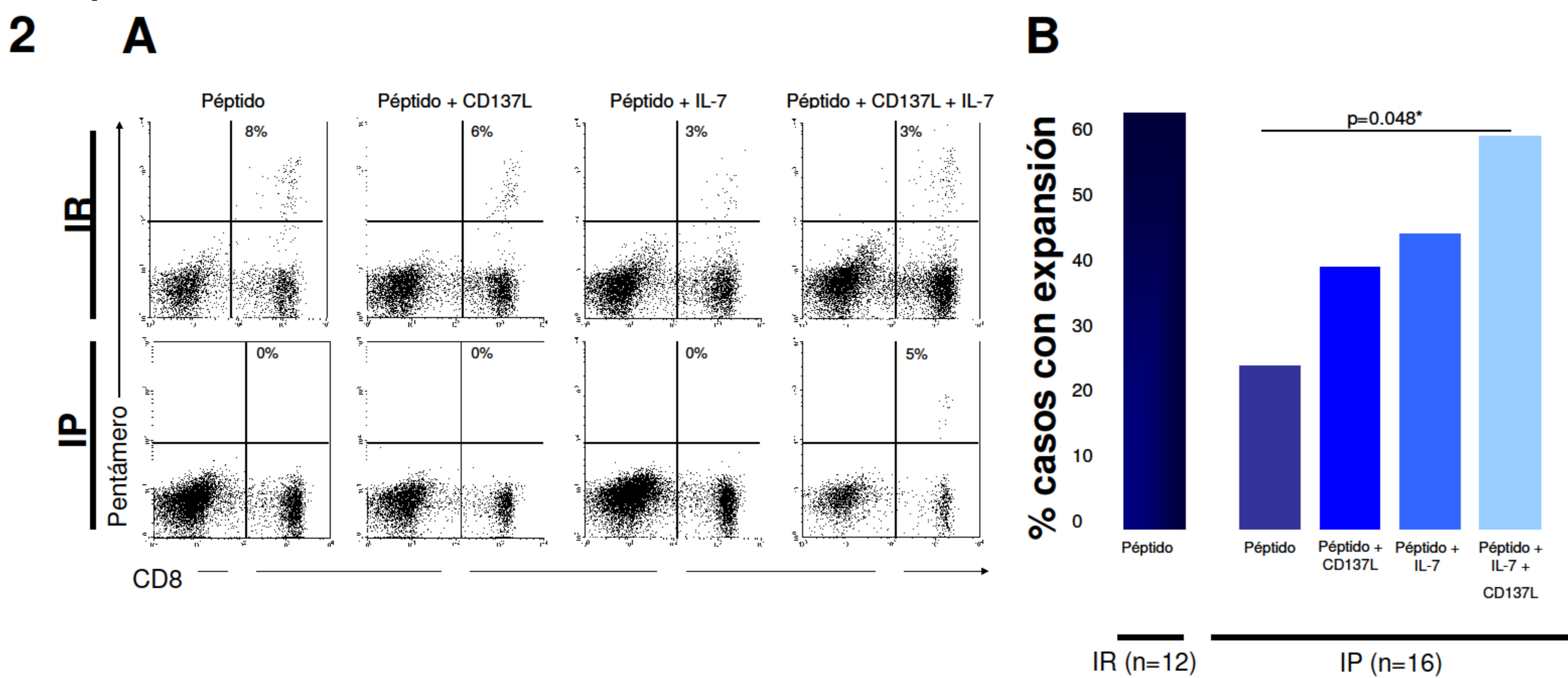


Fig. 2. (A) Diagramas de puntos de citometría de flujo de CMSP marcadas con pentámero-PE y CD8-PerCP tras estimulación antigénica específica en presencia o ausencia de IL-7 y/o CD137L. Los valores situados en la parte superior derecha representan el porcentaje de células CD8+/pentámero+ respecto al total de CD8+. (B) Diagramas de barras mostrando el porcentaje de experimentos con proliferación de las células VHC específicas tras estimulación antigénica específica en presencia o ausencia de IL-7 y/o CD137L. * Test de Friedman.

CONCLUSIONES

- Durante la infección crónica por el VHC existe una menor expresión de CD127 y TRAF1 en las células T CD8+ VHC específicas, asociada a una menor reactividad celular.
- El tratamiento con IL-7+CD137L mejora la respuesta celular citotóxica VHC específica al restaurar la señalización positiva 4-1BB/TRAF1.

