

# La quercetina inhibe la replicación y el ensamblaje del virus de la hepatitis C, modula la capacidad infectiva y los niveles de ARN viral.

Ángela Rojas<sup>1</sup>, Sophie Clement<sup>2</sup>, Jose A. Del Campo<sup>1</sup>, Matthieu Lemasson<sup>4</sup>, Marta García-Valdecasas<sup>1</sup>, Antonio Gil-Gómez<sup>1</sup>, Isidora Ranchall<sup>1</sup>, Lourdes Rojas<sup>1</sup>, Juan Bautista<sup>5</sup>, Arielle R. Rosenberg<sup>4</sup>, Francesco Negro<sup>3</sup>, Manuel Romero-Gómez<sup>1</sup>

1 UG Médico-Quirúrgica de Enfermedades Digestivas & CIBERehd. Hospital Universitario de Valme, Sevilla, España. 2 Division of Clinical Pathology and Gastroenterology and Hepatology, University Hospital, Geneva, Suiza. 3 Division of Gastroenterology and Hepatology, University Hospital, Geneva, Suiza. 4 Hepatitis C virology. University Paris Descartes. Paris, Francia. 5 Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Sevilla, España.

## INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS:

El ciclo de vida del virus de la hepatitis C (VHC) se compone de diversas etapas: (i) entrada de las partículas virales, (ii) traducción de proteínas, (iii) replicación de genoma viral en la cual NS3 juega un papel esencial, y (iv) ensamblaje de la particular viral infecciosa, donde la co-localización de la proteína core y las gotas lipídicas ocurre por acción de la diacilglicerol aciltransferasa-1 (DGAT1). Previamente hemos demostrado que la quercetina impide la co-localización de core con las gotas lipídicas, inhibiendo la replicación del VHC (Rojas et al., AASLD 2013). El objetivo de este estudio es evaluar la quercetina como fármaco antiviral y definir aún más su mecanismo (s) en el ciclo de vida del virus de la hepatitis C.

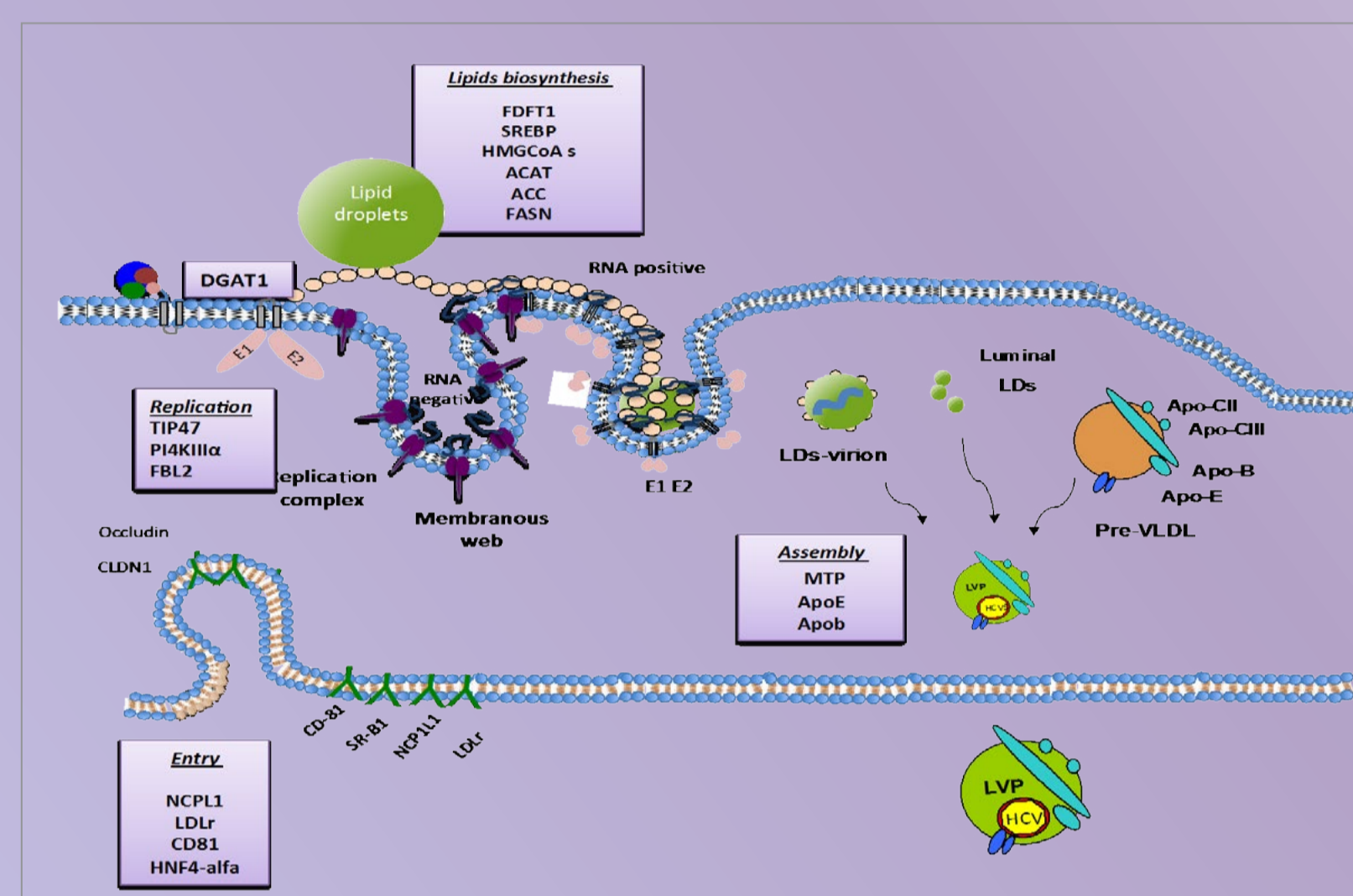


Figura 1. Metabolismo lipídico y ciclo de vida del virus de la hepatitis C.

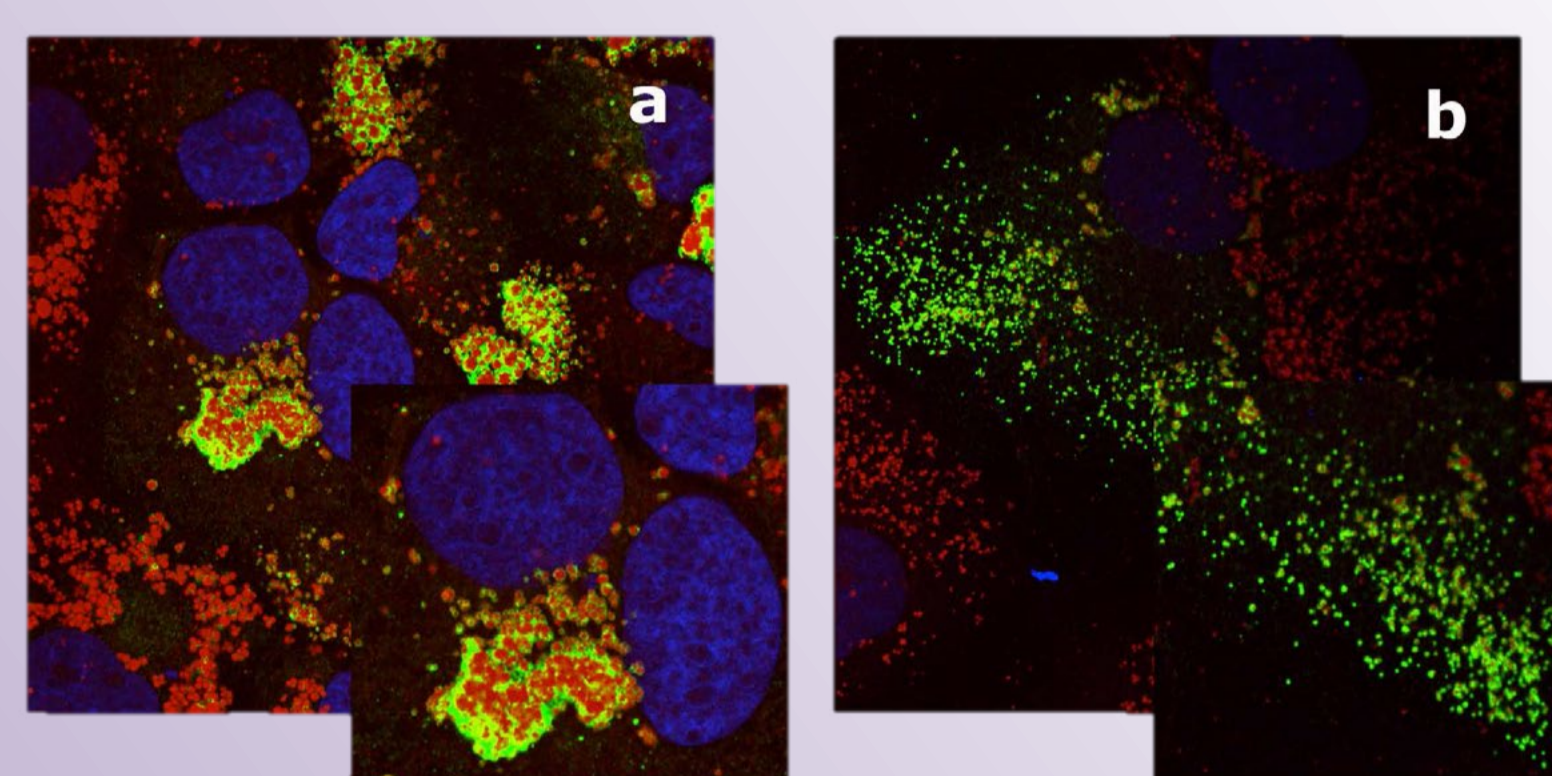


Figura 2. Huh7 (a) infectadas por el lentivirus core genotipo 3 a y tratadas con quercetina 50 (b). Lipid droplets (rojo), core (verde) y núcleo (azul).

## MATERIAL Y MÉTODO:

Las células Huh7.5 fueron cultivadas en medio DMEN suplementado con FBS 10%, antibióticos, L-glutamina y aminoácidos no esenciales. Los hepatocitos primarios se aislaron de pacientes con serología negativa para VHC/VHB y se cultivaron según lo descrito por *Podevin en 2010*, ambas se infectaron con JFH1 (1Moi) y fueron tratadas con quercetina 50 μM. La actividad de NS3 in vitro fue determinada mediante el kit SensoLyte® 520 HCV Protease Assay, y para analizar la actividad DGAT nos basamos en el protocolo descrito previamente por *McFie y cols. (2011)*. El ARN viral del sobrenadante, fue cuantificado por la técnica COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0. La capacidad infectiva de las partículas virales tratadas se determinó tras la infección de células naïves y el ARN-VHC intracelular mediante rt-PCR.

## RESULTADOS:

La quercetina a dosis 50μM disminuyó la actividad de NS3, in vitro, un 45,4 ± 1,15% respecto a el control (DMSO) (Fig-3). La infección por JFH1 incrementó la actividad de DGAT total de forma significativa (p=0,015) y fue inhibida un 63,6 ± 2,93% (p=0,012) tras la infección y tratamiento con quercetina 50μM (Fig-4).

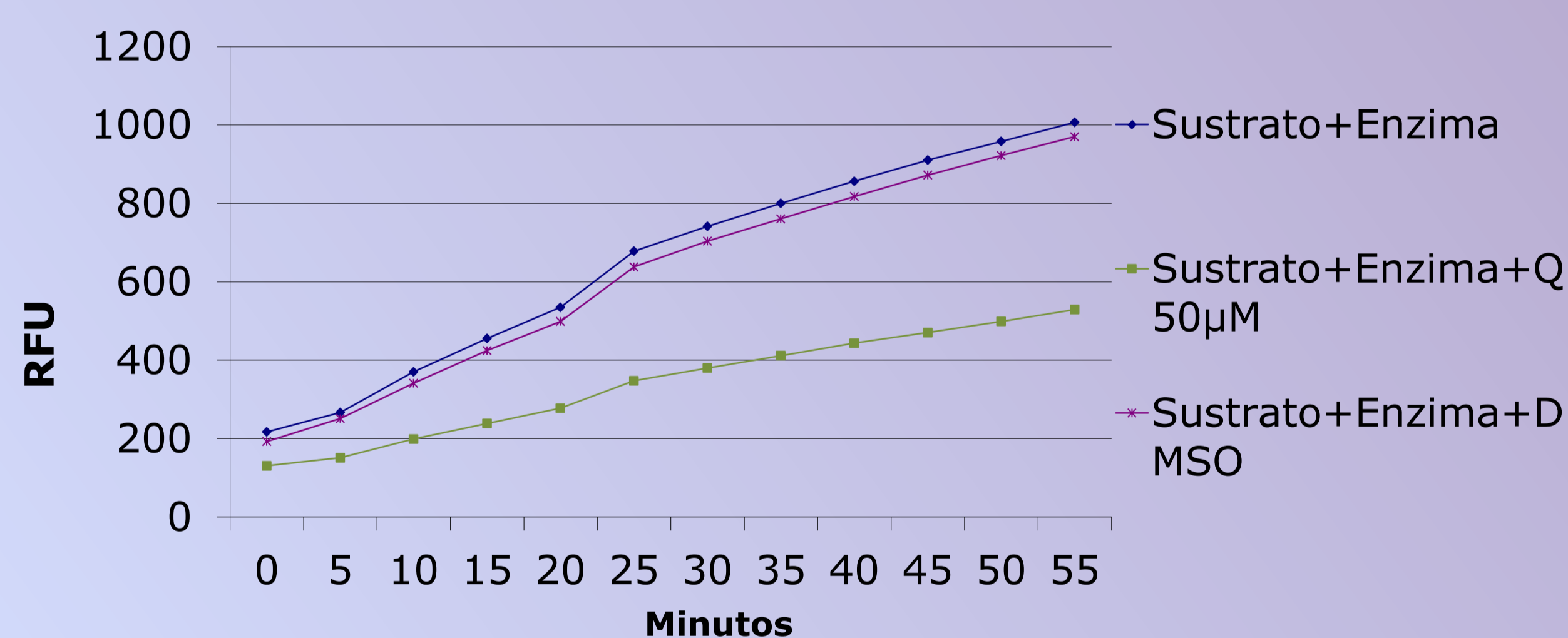


Figura 3. Actividad NS3 medida con el kit SensoLyte® 520 HCV Protease Assay.

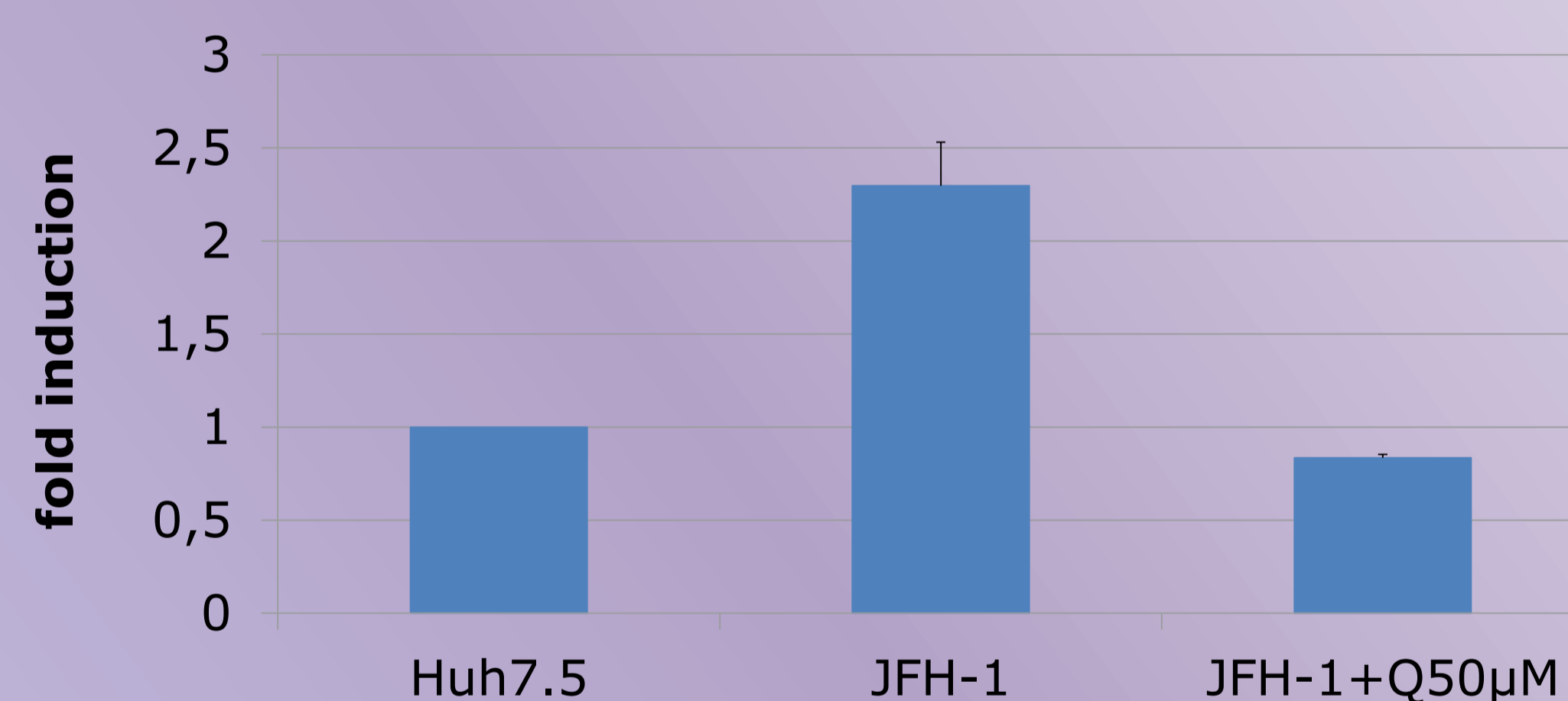
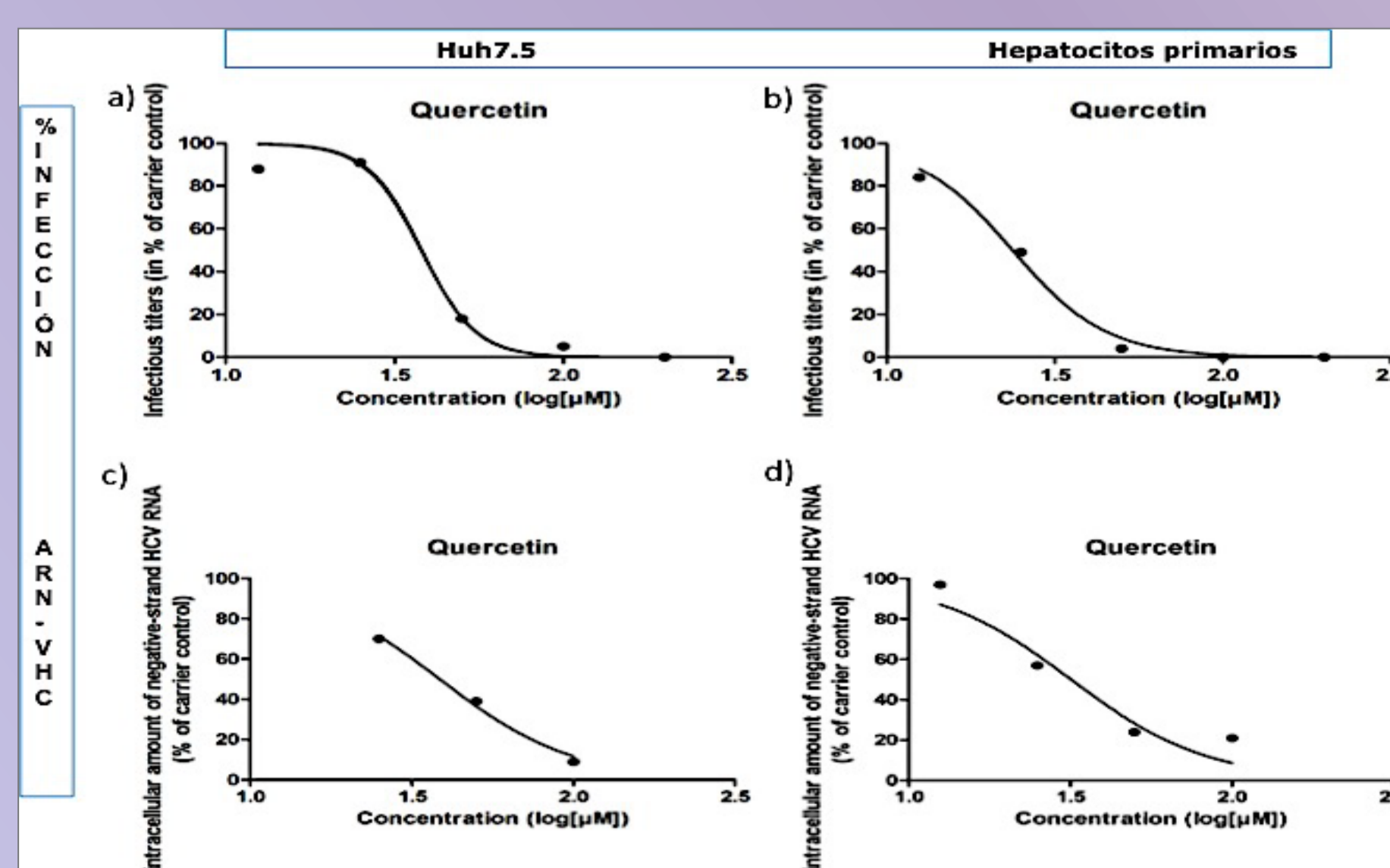


Figura 4. Actividad de DGAT en células Huh7.5 infectadas con el replicón JFH-1 y tratadas con quercetina 50μM.

Tras 72 horas de tratamiento, el ARN-VHC en el sobrenadante disminuyó hasta un 60 ± 25.16% (p<0,05) respecto a la infección por JFH-1 (1MOI).

En presencia de quercetina solo un 18% de las Huh7.5 (a) y un 40% de hepatocitos primarios (b) fueron infectados. Los niveles de ARN-VIRAL intracelular disminuyeron un 39% en Huh7.5.1 (c) y un 24 % en hepatocitos primarios (d) Fig-5.

Figura 5. Efecto de la quercetina sobre la capacidad infectiva de JFH.1 en células Huh7.5 (a) y hepatocitos primarios (b). Niveles de ARN-viral intracelulares en Huh7.5 (c) y hepatocitos primarios (d) infectados por JFH-1.



## CONCLUSIONES:

La quercetina modula la replicación y el ensamblaje viral mediante la inhibición de la actividad NS3 y de DGAT. Disminuye los niveles de ARN viral a nivel intracelular y extracelular interfiriendo en la capacidad infectiva del virus. Por lo tanto, la actividad antiviral de este flavonoide es prometedora, actuando sobre mecanismos tanto virales como del propio huésped.

angela\_rojas@hotmail.com

