

## ASPECTE CONTROVERSATE IN REALIZAREA UNEI PROFILAXII SPECIFICE ÎMPOTRIVA HEPATITEI C

### CONTROVERSIAL ASPECTS OF PROPHYLAXIS AGAINST HEPATITIS C.

*Elena Mihaela Constantinescu<sup>1</sup>, Cristian - Adrian Constantinescu<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania din Braşov

*Autor corespondent: Cristian-Adrian Constantinescu, email mconstantinesco@yahoo.com*

#### **Abstract:**

The overall annual incidence of acute HCV infection is difficult to estimate, especially when most of the patients are asymptomatic. Hepatitis C is estimated to infect 71 million people worldwide, with approximately 55-85% of them evolving into a chronic infection with a 15-30% risk of developing cirrhosis within two decades. Specific prophylaxis against hepatitis C would lead to a better management of the financial resources currently used to treat the infection. The delay in developing a vaccine, despite the efforts of researchers around the world, is due to both the unique viral structure and the difficulty of enrolling people at risk in vaccination trials but also to the lack of a specific marker that offers protection.

**Key-words:** *hepatitis C, effective prophylaxis*

#### **Introducere**

Infecția cu virusul hepatitic C (VHC) a atras atenția lumii medicale, acesta infectând aproximativ 71 de milioane de oameni din întreaga lume [23], boala putând să evolueze către cronicizare, ciroză hepatică, cancer hepatocelular și moarte [12].

Cu toate că în ultima perioadă s-au făcut progrese remarcabile în privința tratării pacienților cu hepatită C, o profilaxie eficientă a bolii ar contribui nu numai la scăderea numărului de cazuri de infecție ci și la posibilitatea folosirii resurselor financiare în alte scopuri. Utilizarea tratamentelor antivirale extrem de eficiente care pot conduce chiar la vindecarea bolii în cazul majorității pacienților, se face în contextul unor bugete mari alocate din fondurile de sănătate și a limitării utilizării acestora din diferite cauze. Acești factori care sunt luați în calcul în momentul inițierii tratamentului sunt reprezentați de tipul interacțiunilor medicamentoase (adesea existând și comorbidități), de posibilitatea dezvoltării în timp a rezistenței la acestea, precum și a unor eventuale reacții adverse care pot apare [20, 22]. Toate aceste posibile inconveniente ar putea fi prevenite prin utilizarea unei profilaxii specifice care ar conduce la o ținare sub control a acestei epidemii globale de hepatită C.

Impedimente în calea realizării unui vaccin eficient împotriva infecției VHC

Lumea medicală este preocupată de

găsirea explicațiilor pentru care nu se poate realiza un vaccin eficient împotriva infecției cu VHC în contextul existenței unei profilaxii specifice împotriva celorlalte 2 tipuri de hepatita A respectiv B.

Eforturile de a dezvolta un vaccin împotriva hepatitei C au început acum mai bine de 20 de ani în momentul în care VHC a fost identificat. Cercetările s-au derulat de atunci trecând prin diferite stadii, de la studii experimentale eşuate pe animale, până în prezent când se testează vaccinurile cu genotipul 1 VHC bazate pe tehnologia vectorilor virali care urmăresc să inducă un răspuns de mare magnitudine a celulelor T capabil să vizeze antigeni VHC multipli [1, 2].

De-a lungul timpului datele obținute din diverse studii au sugerat faptul că realizarea unui vaccin care să prevină apariția hepatitei C este perfect realizabil cu toate impedimentele care nu au permis încă dezvoltarea acestuia. Enumerarea unora dintre acestea ne face să înțelegem mai bine de ce apariția unui vaccin împotriva hepatitei C se lasă așteptată.

1. Caracterul unic al virusului hepatitic C

VHC este un agent patogen caracterizat printr-o varietate genetică remarcabilă, fiind clasificat în 7 genotipuri majore și 67 subtipuri [18] distribuite diferit în funcție de zona geografică: astfel genotipul-1 VHC este genotipul dominant global [10], în timp ce genotipul-3VHC este în prezent infectant major

în UK și în diferite părți din Asia, India, Orientul Îndepărtat și Australia. În aceste zone genotipul 3 VHC a infectat aproximativ 53 de milioane de persoane având ca modalitate de transmitere consumul de droguri prin injectare și practică medicală intervențională [11, 15, 16]. Genotipul 4 este cel mai frecvent în Africa și în Orientul Mijlociu.

2. Numărul limitat al animalelor ce pot fi infectate cu VHC

Virusul hepatitei C poate infecta cimpanzeii, această infecție fiind similară cu cea de la om. De aceea cercetarea medicală este limitată având în vedere preocupările legate de etică și costurile crescute. Ultimele animale folosite în studiile privitoare la hepatită C sunt șoarecii modificați genetic cărora li s-au greșat celule hepatice umane și care s-au dovedit a fi modele valoroase .

3. Dificultatea de înscriere a persoanelor cu risc în studiile de vaccinare

Singura modalitate de a afla dacă un vaccin este eficient este ca acesta să fie testat la persoanele expuse riscului. Acestea au fost identificate ca fiind consumatoare de droguri injectabile, fiind greu de urmărit în cadrul unor trialuri clinice. Suplimentar, țările în curs de dezvoltare, unde numărul cazurilor crește alarmant nu sunt dotate cu clinici unde aceste studii să se desfășoare corespunzător.

4. Lipsa unui marker clar pentru protecție

Spre deosebire de infecția cu VHA sau VHB, în urma cărora sistemul imunitar este dotat cu memorie imunologică împiedicând reinfecția, în cazul infecției VHC mecanismul este diferit. VHC scapă timp îndelungat de apărarea imunitară a organismului care limitează în mod normal cursul infecției și protejează împotriva reinfectării, boala evoluând uneori chiar asimptomatic. La 30% dintre persoanele infectate sistemul imunitar ajută la vindecare în decurs de 6 luni fără a se cunoaște exact mecanismele care stau la baza acestei evoluții. Dacă acestea ar fi cunoscute producerea unui vaccin ar fi mai accesibilă în timp mult mai scurt.

În primul rând mecanismele apariției imunității în cazul acestui tip de boală sunt slab înțelese, aceasta fiind extrem de adaptativă în situația existenței numeroaselor genotipuri (GT)

de virus C. În acest context se ridică serioase dezbateri cu privire la posibilitatea dezvoltării vaccinurilor cu celule T care să fie eficiente împotriva a numeroase GT de virus hepatic C.

De altfel rezultatele studiilor au ca numitor comun ideea conform căreia imunitatea încrucișată este slabă față de alte genotipuri, concluzie nuanțată în funcție de numeroși factori. Astfel:

- unele studii efectuate pe oameni și cimpanzei care s-au vindecat după o infecție primară au demonstrat o formă de imunitate protectoare care ar fi apărut în aceste cazuri. Spre exemplu s-a demonstrat o oarecare imunitate (reliefață printr-o durată și un nivel al viremiei mai scăzut față de o infecție primară) apărută împotriva genotipului 4 sau 2 și 3 după o infecție cu genotipul 1.
- alte studii au scos în evidență faptul că după vaccinarea (folosind ca vectori virali adenovirusuri împotriva proteinelor nestructurale ale unei tulpini GT1b a virusului C) unui lot de voluntari infectați cu VHC genotipul 1b, celulele T au fost capabile să țintească secvențele GTs 1a, 3a și 4a suplimentar față de GT1b, cu o amplasare a răspunsurilor încrucișate menținută, dar cu o mărime mai redusă a răspunsului cu 40%, 70% și 71% față de peptidele GT1a, 3a și 4a specifice [21].

Totuși o analiză cuprinzătoare și extinsă furnizează date importante asupra răspunsurilor încrucișate ale celulelor T împotriva țintelor antigenice GT1 și GT3. Rezultatele sugerează că celulele T CD4 + și CD8 + recunosc epitopii specifici ai fiecărui genotip (mai ales specificitatea celulelor T pentru VHC GT3, o tulpină răspândită în Asia de Sud și Marea Britanie), reactivitatea încrucișată fiind extrem de limitată atât în cazul bolii cronice cât și la a celei vindecate [21].

Pe de altă parte la pacienții vindecați după o infecție primară cu hepatită C care au continuat expunerea (de exemplu în cazul celor care își administrau droguri injectabile), s-a constatat:

- a. apariția unui răspuns crescut al celulelor T (spre deosebire de infecția cronică), observația sugerând posibilitatea fabricării unui vaccin în care un rol important să-l aibă răspunsul celulelor T. Cercetările au demonstrat faptul că amplasarea unui răspuns al celulei T nu

este neapărat un marker al unei funcții pertinente și că trebuie luați în calcul și alți factori pentru a evalua evoluția unui răspuns imun eficient ca de exemplu: citotoxicitatea, proliferarea sau polifuncționalitatea [9]. În ciuda inducerii răspunsurilor eficiente ale celulelor T specifice VHC și modificării cineticii de replicare virale, în cele mai multe cazuri prevenirea infecției cronice nu s-a putut realiza nici după o infectare omoloagă [4].

Reactivitatea încrucișată a celulelor T față de tulpinile virale heterologe poate fi de asemenea evaluată în contextul studiilor observaționale a reinfectării umane și al experimentelor pe cimpanzei. Rezultatele studiilor sugerează că ambii reușesc să aibă o imunitate la reinfecție în condițiile evoluției spontane către vindecare a infecției acute cu VHC [8, 13]. Cu toate acestea, rolul reactivității încrucișate în prevenirea bolii cronice la reinfectare nu este clar și în timp ce clearance-ul heterolog de reinfectare VHC este prezent, persistența infecțiilor precum și recăderile cu tulpini heterologice sunt de asemenea obișnuite. Mai mult decât atât aceste studii nu au evaluat reactivitatea încrucișată la nivelul epitopilor a celulelor T și alți factori implicați cum ar fi răspunsul imun înăscut favorabil și amprenta genetică a gazdei. [8, 14]

Țintele celulelor T în infecția cu genotipul 3 al VHC sunt distincte comparativ cu cele vizate în situația genotipului 1 al VHC atât în cazul bolii acute cât și a celei cronice.

b. apariția anticorpilor neutralizanți. În timpul infecției acute, anticorpii neutralizanți împotriva pseudoparticulelor virale heterologice au fost detectați la 60% dintre subiecții reinfectați, aceste reacții încrucișate fiind rareori prezente la pacienții la care infecția progresează până la cronicizare. Infecția naturală induce în principal o reactivitate încrucișată limitată realizată de către cu celulele T.

c. nivelului maxim și durata viremiei pentru evaluarea protecției după reinfecție a scos în evidență faptul că în timpul episoadelor ulterioare de reinfectare acestea au fost semnificativ mai scăzute comparativ cu cele ale infecției primare la aceiași subiecți.

Clearance-ul viral apare la aproximativ 25% dintre pacienții cu infecții primare, în timp ce clearance-ul spontan viral la pacienții reinfectați fost de 83%.

Concluzia studiului sugerează faptul că reinfecția cu VHC este asociată cu o reducere a amplitudinii și duratei viremiei (comparativ cu infecția inițială), a răspunsurilor imune celulare lărgite și generarea unor reacții umorale încrucișate precum și de dezvoltarea unei imunități adaptive care deși nu este sterilizantă protejează împotriva bolilor cronice.[8,15,17]

d. deși ARN-ul VHC poate fi detectat în aceste infecții secundare, cinetica este diferită datorită controlului rapid al replicării virale care are în general rezultate mai mici și clearance-ul mai rapid (acesta reprezentând o altă necunoscută în lupta cu descoperirea unui vaccin bazat pe markeri imuni pentru că încă nu cunoaștem cum ar trebui să funcționeze un răspuns imun ideal generat de acest posibil vaccin).

#### Concluzii:

Ideea care trebuie să se ia în calcul în principal atunci când se va urmări fabricarea unui vaccin împotriva hepatitei C este legată de posibilitatea realizării unei protecții încrucișate pertinente cu conservarea secvențelor epitopilor dominanți precum și a păstrării țintelor celulelor T. Atenția următoarelor teste experimentale se va îndrepta spre cunoașterea diferitelor tipuri de epitopi pentru a înțelege complet cum funcționează celulele T în acest mecanism al protecției încrucișate și a potențialului acestora pentru memoria pe termen lung.[7].Până în prezent datele sunt contradictorii pentru că a fost descrisă o reacție încrucișată generată de celulele T față de diferite genotipuri VHC [3, 6], deși mai multe studii la scară mică efectuate pe pacienți cu infecții multiple au arătat lipsa reactivității încrucișate a răspunsului celulelor T CD4 + între diferitele genotipuri.[5, 19].

#### Bibliografie:

- [1] Barnes E, Folgori A, Capone S, et al. Novel adenovirus-based vaccines induce broad and sustained T cell responses to HCV in man. *Sci Transl Med* 2012;4:115ra1
- [2] Folgori A, Capone S, Ruggeri L, et al. A T-cell HCV vaccine eliciting effective immunity against heterologous virus challenge în chimpanzees. *Nat Med* 2006;12:190–7.
- [3] Giugliano S, Oezkan F, Bedrejowski M, et al. Degree of cross-genotype reactivity of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells directed against NS3. *Hepatology*

- 2009;50:707–16.
- [4] Harcl D, Feinstone S, Major M- Meta-Analysis of Hepatitis C Virus Vaccine Efficacy in Chimpanzees Indicates an Importance for Structural Proteins *Gastroenterology* 2010;139:965–974.
- [5] Harcourt GC, Lucas M, Godkin AJ, et al. Evidence for lack of cross-genotype protection of CD4+ T cell responses during chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 2003;131:122–9.
- [6] Humphreys IS, Von Delft A, Brown A, et al. HCV genotype-3a T cell immunity: specificity, function and impact of therapy. *Gut* 2012;61:1589–99.
- [7] Karina Yusim, William Fischer, Hyejin Yoon, James Thurmond, Paul W. Fenimore, Georg Lauer, Bette Korber, Carla Kuiken Genotype 1 and global hepatitis C T-cell vaccines designed to optimize coverage of genetic diversity *Journal of General Virology* (2010),91, 1194–1206.
- [8] Lanford RE, Guerra B, Chavez D, Bigger C, Brasky KM, Wang XH, Ray SC, Thomas DL. Cross-genotype immunity to hepatitis C virus. *J Virol.* 2004 Feb;78(3):1575-81.
- [9] Major M- Hepatitis C: new clues to better vaccines? *Gut* 2016;65:4-5.
- [10] Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, et al Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2015 Jan;61(1):77-87. doi: 10.1002/hep.27259. Epub 2014 Jul 28.
- [11] Morice Y, Cantaloube J-F, Beaucourt S, et al. Molecular epidemiology of hepatitis C virus subtype 3a in injecting drug users. *J Med Virol* 2006;78:1296–303.
- [12] Negro F, Alberti- The global health burden of hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2011;31(Suppl 2):1–3.
- [13] Osburn WO, Fisher BE, Dowd KA, Urban G, Liu L, Ray SC, Thomas DL, Cox AL.- *Gastroenterology.* 2010 Jan;138(1):315-24. doi: 10.1053/j.gastro.2009.09.017. Epub 2009 Sep 24.
- [14] Prince AM, Brotman B, Lee D-H, et al. Protection against chronic hepatitis C virus infection after rechallenge with homologous, but not heterologous, genotypes in a chimpanzee model. *J Infect Dis* 2005;192:1701–9.
- [15] Pybus OG, Cochrane A, Holmes EC, et al The hepatitis C virus epidemic among injecting drug users. *Infect Genet Evol* 2005;5:131–9.
- [16] Roman F, Hawotte K, Struck D, et al. Hepatitis C virus genotypes distribution and transmission risk factors in Luxembourg from 1991 to 2006. *World J Gastroenterol* 2008;14:1237–43.
- [17] Schulze zur Wiesch J, Lauer GM, Timm J, et al. Immunologic evidence for lack of heterologous protection following resolution of HCV in patients with non-genotype 1 infection. *Blood* 2007;110:1559–69.
- [18] Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment Web resource. *Hepatology* 2014;59:318–27.
- [19] Sugimoto K, Ikeda F, Stadanlick J, et al. Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. *Hepatology* 2003;38:1437–48.
- [20] Sulkowski M, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, et al Daclatasvir plus Sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2014;370:211–21. doi:10.1056/NEJMoa1306218
- [21] Von Delft A, Humphreys IS, Brown A, et al The broad assessment of HCV genotypes 1 and 3 antigenic targets reveals limited cross-reactivity with implications for vaccine design. *Gut* 2016;65:112-123.
- [22] Wendt A, Adhoute X, Castellani P, et al Chronic hepatitis C: future treatment. *Clin Pharmacol* 2014;6:1–17. doi:10.2147/CPAA.S30338 .
- [23] WHO H. WHO -Hepatitis C. WHO. 2014