

Análisis funcional de la respuesta inmunológica específica contra el virus de la hepatitis B (VHB) en individuos sanos inmunizados e infectados crónicos

RESUMEN.

La respuesta inmunológica específica contra el Virus de la Hepatitis B (VHB) es muy compleja y aunque existen muchos grupos de trabajo dedicados a la elucidación de los mecanismos biológicos que la controlan, no es del todo comprendida. Es muy bien conocido que el daño tisular que prevalece durante la infección viral depende principalmente de la respuesta inmunológica desarrollada por el hospedador contra este agente infeccioso y que en los portadores crónicos del VHB existe una aparente ineficiencia del sistema inmunológico para limitar y erradicar la infección. Por otro lado, si bien es cierto que la vacuna recombinante contra la hepatitis B conduce al desarrollo de inmunidad protectora en más del 90% de los individuos vacunados, existe un grupo de donantes que no responden a la inmunización (4%-10%) y probablemente esta ausencia de respuesta inmunológica, pueda compararse además con la respuesta inmunológica deficiente durante la fase de cronicidad. Debido a que la respuesta inmunológica celular específica contra el VHB es determinante para limitar y erradicar la infección por este virus, se decidió estudiar en forma sistemática la respuesta específica de los linfocitos T, de individuos inmunizados contra el VHB y explorar además señales coestimuladoras de la activación de estas células en infectados crónicos por el virus, a través de ensayos de proliferación, expresión y modulación de receptores de activación, expresión de citoquinas intracitoplasmáticas y análisis de fosforilación en residuos de tirosina; parámetros estos que fueron evaluados en células mononucleares de sangre periférica (PBMC), y los linfocitos T fueron identificados mediante citometría de flujo. Se observó que las células de los individuos inmunizados respondedores a la vacuna anti-VHB, muestran una respuesta proliferativa, expresión de citoquinas (IL-2, INF- γ , IL-4, IL-13 y TGF- β) y expresión de receptores de activación (CD25, CD69 y CD40L), específica contra el antígeno recombinante de la envoltura del VHB ($p < 0,05$); mientras que en los donantes no respondedores esta respuesta está disminuida o ausente ($p < 0,05$). Por otra parte, los estudios preliminares realizados en infectados crónicos por el VHB, que permitieron evaluar las señales generadas como consecuencia de la estimulación a través del receptor de coestimulación CD28, evidencian una secreción deficiente de IL-2, INF- γ e IL-13, sumado a un incremento en la expresión de IL-4 y TGF- β ($p < 0,05$). Estos resultados sugieren que los

linfocitos T colaboradores de los individuos inmunizados no respondedores a la vacuna recombinante no son estimulados adecuadamente debido a un posible defecto en las señales coestimuladoras, especialmente a la no inducción específica de la molécula CD40L en los linfocitos T. Esta observación puede compararse además con la señalización deficiente vía CD28, observada en los infectados crónicos, lo cual sugiere un defecto en las señales tempranas de activación a través del circuito modulador CD40-CD40L/CD28 durante la respuesta contra el VHB en infectados crónicos.

SUMMARY.

Specific immune response against hepatitis B virus (HBV) is a very complex system, not totally understood, regardless of the intense studies devoted to explore the biological mechanisms, underlying the pathogenesis of hepatitis B infection and disease progression. Tissue damage during ongoing infection is attributed almost entirely to the host immune response against the virus, with the consequent persistent inflammatory response, which is unable to eradicate the virus during chronic infection. Although, it is well known that vaccination using recombinant derivatives against HBV, confers more than 90% of protection against the infection, a small proportion of donors (4-10%) do not produce protective anti-HBV antibodies. It is likely that this absence of response may be comparable to the inefficient immune response observed during chronic hepatitis B infection. Because a central role for specific immune response, limiting and eradicating the virus, has been previously proposed, we conducted a study to explore the specific T cell response against recombinant hepatitis B surface antigen (HBsAg) in immunized and non-immunized donors and performed a preliminary investigation of costimulatory signals triggered upon ligation of CD28 receptor on T cells, from HBV carriers, by measuring cell proliferation, expression and modulation of activation receptors, intracellular expression of cytokines and analysis of tyrosine phosphorylation. These parameters were evaluated in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and, T cells were identified by flow cytometry. We observed that T cells from responders individuals show a remarkable proliferative response, increase of cytokines expression such as IL-2, INF- γ , IL-4, IL-13 and TGF- β , and elevated density of CD25, CD69 and CD40L, upon specific HbsAg stimulation. In contrast, these same parameters were diminished or absent on T cells from non-responders donors, particularly the CD40L receptor ($p < 0,05$). Our preliminary results about the role of CD28 costimulatory molecule during HBV infection, showed a deficient expression of IL-2, INF- γ , and IL-13 upon CD28 ligation, adding PMA as a secondary signal. Furthermore, an increase of IL-4 and TGF- β ($p < 0,05$), was also demonstrated, in this group of patients. These results show an inappropriate early activation signal in T helper cells, attributed to diminished CD40L induction, which could explain the absence of anti-HBV antibodies following HBV vaccination. We also propose a

defect of costimulatory signals via the CD40-CD40L/CD28 regulatory loop during immune response against HBV in chronic carriers.