

# La respuesta inmune T1 inducida durante el tratamiento con PEG-IFN $\alpha$ más ribavirina controla la replicación viral en pacientes con hepatitis crónica C

M. Trapero, L. García-Buey, C. Muñoz<sup>1</sup>, M. Vitón<sup>1</sup>, J. A. Moreno-Montea-gudo, M. J. Borque<sup>2</sup>, N. E. Quintana<sup>1</sup> y R. Moreno-Otero

Unidad de Hepatología. <sup>1</sup>Servicio de Inmunología. <sup>2</sup>Unidad de Biología Molecular. Hospital Universitario de La Princesa. Universidad Autónoma. Madrid

## RESUMEN

**Objetivos:** analizar el perfil de citocinas T1/T2 producidas por los linfocitos T CD8+ de sangre periférica en pacientes con hepatitis crónica C (HCC) y genotipo 1 durante el tratamiento con interferón pegilado (Peg-IFN)  $\alpha$ 2a y ribavirina (RBV) y compararlos con controles sanos. Correlacionar el balance T1/T2 con la respuesta virológica al tratamiento combinado.

**Pacientes y métodos:** en este estudio prospectivo longitudinal se incluyeron 28 pacientes *naïve* con HCC genotipo 1 tratados con Peg-IFN $\alpha$ 2a (180  $\mu$ g/semana) más RBV (1-1,2 g/día) durante 48 semanas. Los 28 pacientes (edad media 45  $\pm$  8 años) finalizaron el tratamiento y seguimiento: 12 (43%) presentaron respuesta viral sostenida (RVS), 13 recidivaron (47%) y sólo 3 fueron no respondedores (10%). Se estudiaron 16 controles sanos (edad media de 39  $\pm$  17 años). Se analizó mediante citometría de flujo la producción intracitoplásmica de IL-4, IFN $\gamma$  y TNF $\alpha$  por los linfocitos T CD8+ en reposo y tras ser estimulados con un éster de forbol. Análisis estadístico: t de Student, test de  $\chi^2$  y ANOVA; se agrupan los pacientes recidivantes y no respondedores para obtener mayor potencia estadística.

**Resultados:** no se encontraron diferencias significativas entre los niveles de citocinas de controles sanos y pacientes con HCC. Al tercer mes de tratamiento, los niveles de IL-4 inducidos tendían a ser menores en los pacientes que obtuvieron una RVS que en el resto de pacientes (0,97 vs. 2,58; p = 0,1); tampoco se encontró significación estadística en relación a los niveles de IFN $\gamma$  y de TNF $\alpha$ . Al final del tratamiento, la producción de IFN $\gamma$  estimulado fue significativamente mayor en los pacientes que obtuvieron una RVS (20 vs. 8; p < 0,05). Por el contrario, la producción de IL-4 fue mayor en los pacientes no respondedores, aunque estos datos no alcanzaron significación estadística (p < 0,1). No se encontraron diferencias en relación con los niveles de TNF $\alpha$  (14 vs. 7; p < 0,2).

**Conclusiones:** el mantenimiento de la respuesta inmune tipo T1 durante el tratamiento combinado, medida en función de la síntesis de IFN $\gamma$  por los linfocitos T CD8, se asocia con RVS y sugiere el control de la replicación y el aclaramiento posterior de los pacientes infectados con el genotipo 1 del VHC.

**Palabras clave:** Virus de la hepatitis C. Hepatitis crónica. Interferón pegilado. Ribavirina. Citocinas. Linfocitos.

## INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) se caracteriza por la persistencia de la replicación viral, la cro-

nificación, y en algunos pacientes, por el desarrollo con el tiempo de cirrosis y hepatocarcinoma. Los mecanismos subyacentes del daño celular así como de la persistencia del virus, no están claramente establecidos, aunque se conoce la implicación de factores virológicos y de la respuesta inmune (1).

Algunos factores virológicos que pueden desempeñar un papel lesivo son la carga viral, el genotipo y las cuasiespecies. Pero sobre todo, se estima que la respuesta inmune del huésped es decisiva desde el punto de vista patogénico, principalmente en el control de la replicación del VHC y en el daño hepatocelular. Se ha demostrado la existencia de linfocitos T CD4+ y CD8+ específicos para el VHC en sangre periférica y en el tejido hepático de pacientes con infección crónica por el VHC. La producción de citocinas por estos linfocitos puede ser clave en la patogénesis de las lesiones típicas de la HCC y a la vez tener un importante impacto en el control de la replicación viral (1,2).

Los linfocitos CD4+ Th1 y Th2 tienen funciones diferentes, secretando distintas citocinas. Mientras que los Th1 producen IL-2, IFN $\gamma$  y TNF $\alpha$  y estimulan la respuesta inmune celular, los Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-10 y estimulan la inmunidad humoral. Se ha demostrado en distintas patologías que la activación de la respuesta inmune en uno u otro sentido puede controlar o perpetuar la infección por diversos agentes. Por otra parte, los linfocitos T CD8+, menos estudiados, también poseen funciones tipo T1 y T2, secretando en cada caso IFN $\gamma$  e IL-4 (3,4). Los pacientes con HCC tienen un predominio de síntesis de citocinas tipo Th1 (5-7) a nivel intrahepático, que también parece mantenerse según algunos autores en sangre periférica (8,9). Sin embargo, otros estudios demuestran un predominio de citocinas tipo Th2 o, incluso, ausencia de tales diferencias (10,11).

No se conoce la modulación que produce el tratamiento combinado con Peg-IFN $\alpha$  y ribavirina en los niveles de citocinas circulantes en sangre periférica ni en el tejido hepático. Existen pocos estudios y se han evaluado sólo en pacientes en tratamiento con interferón recombinante asociado o no a ribavirina, pero casi ninguno con

interferón pegilado. En algunos estudios se detectó un descenso de las citocinas Th2 (IL-4, IL-10) o aumento de las Th1 (IL-2) durante el tratamiento con IFN (12,13). En cuanto al posible factor predictivo de respuesta terapéutica, son pocos los estudios realizados y presentan datos no concluyentes (14-16).

La función de los linfocitos T CD8+ apenas ha sido evaluada. Existen algunos estudios en relación con la expresión de moléculas de activación de linfocitos CD8+ en el tejido hepático (8-11), pero no se han analizado las cifras y sus posibles funciones efectoras en sangre periférica.

El objetivo de este estudio ha sido analizar el perfil de citocinas T1/T2 en linfocitos T CD8+ de sangre periférica de pacientes con hepatitis crónica por el VHC genotipo 1 durante el tratamiento con Peg-IFN $\alpha$ 2a más RBV y compararlos con controles sanos. Un segundo objetivo ha sido correlacionar el balance de citocinas secretadas por los linfocitos CD8+ T1/T2 con la respuesta virológica sostenida.

## PACIENTES Y MÉTODOS

En este estudio prospectivo longitudinal se han incluido consecutivamente 28 pacientes *naïve* con hepatitis crónica por el VHC y genotipo 1. Todos los pacientes presentaban cifras serológicas de ALT dos veces superiores al límite alto de la normalidad, además de positividad en suero para anticuerpos contra el VHC analizados por técnicas de enzimoimmunoanálisis (ELISA) y ARN-VHC detectado por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se excluyeron del estudio los pacientes con cualquier otra posible causa de hepatitis crónica (hereditarias, metabólicas, tóxicos, fármacos u otros virus), así como los que presentaban coinfección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Se estudiaron además 16 controles sanos (H/M = 9/7; 39  $\pm$  17 años) con función hepática normal. Los médicos a cargo del tratamiento de los pacientes desconocían los datos obtenidos del análisis de las citocinas. No se realizó biopsia hepática de los pacientes por no aceptación de los mismos. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado.

Se analizaron los siguientes parámetros: edad, sexo, plaquetas, transaminasas (alanino -ALT- y aspartato -AST- aminotransferasas), fosfatasa alcalina (FAL),  $\gamma$  glutamil-transpeptidasa (GGT) y el cociente GGT/ALT. La carga viral VHC-ARN, determinada por PCR cualitativa y cuantitativa, se analizó por HCV-Amplicor<sup>®</sup> y HCV-Monitor<sup>®</sup> (Roche Diagnostic System, Basel, Switzerland), con sensibilidad de 10<sup>2</sup> (Amplicor<sup>®</sup>) y 10<sup>3</sup> (Monitor<sup>®</sup>). El genotipo del VHC se analizó basalmente por hibridación en reverso (INNO-LiPA HCV; *Innogenetics*, Zwijndrecht, Belgium).

Se realizaron determinaciones periódicas de todas las variables antes del inicio del tratamiento (basal), en los meses 1, 3, 6, 9, 12, y en los meses 3 y 6 de seguimiento tras la finalización del tratamiento.

## Determinación de citocinas secretadas por los linfocitos T CD8+

Se recogieron las muestras de sangre en tubos con heparina de litio. Para la estimulación linfocitaria se añadió a la sangre periférica 25 ng/mL de 12miristato-13acetato de forbol (PMA) y 1  $\mu$ g/mL de ionomicina (ionóforo de calcio) durante 4 horas a 37 °C y 7% de CO<sub>2</sub> con la adición de brefeldina A (Sigma Chemical Co. St. Louis, Missouri, USA). La producción intracitoplásmica de IL-4, IFN $\gamma$  y TNF $\alpha$  de los linfocitos T CD8+ de las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) se analizó mediante citometría de flujo (*FACScan fluorescent cell sorter*; *Becton Dickinson and Company*). Estos valores se obtuvieron de los linfocitos en estado de reposo y tras ser estimulados por PMA. Brevemente, se realizó en primer lugar un marcaje de superficie de las CMSP con anticuerpos monoclonales antiCD4 conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) y anticuerpos antiCD8 conjugados con ficoeritrina (PE). Como control de estimulación de linfocitos T se marcaron las células con anticuerpos antiCD3 conjugados con PE y antiCD69 conjugados con FITC. A continuación se permeabilizaron las células con el *kit* de solución de lisis siguiendo las instrucciones de la casa comercial.

Para el marcaje intracelular de los linfocitos T se utilizaron anticuerpos monoclonales conjugados con FITC frente al IFN $\gamma$  humano, anticuerpos monoclonales conjugados con PE frente a IL-4 humana y anticuerpos monoclonales conjugados con FITC frente a TNF $\alpha$  humano. Todos ellos comercializados por Becton Dickinson (San Jose, California, USA) (14).

Se cuantificaron dichas citocinas en los pacientes y en los controles sanos antes de iniciar el tratamiento (mes 0), durante el tratamiento (meses 1, 3, 6, 9, 12) y en el seguimiento (meses 15 y 18). Los niveles de citocinas se expresan como el porcentaje de linfocitos T de sangre periférica CD8+ que expresan cada citocina.

## Tratamiento

Los pacientes recibieron tratamiento combinado con Peg-IFN  $\alpha$ -2a (PEGASYS<sup>®</sup>, Roche), a la dosis de 180  $\mu$ g/semana por vía subcutánea, más ribavirina (COPEGUS<sup>®</sup>, Roche) por vía oral a la dosis de 1-1,2 g/día (según el peso corporal fuera menor o mayor a 75 kg), durante un periodo de 48 semanas. Este tratamiento fue aprobado por el comité de ética hospitalario. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

Al tercer mes de tratamiento se evaluó la respuesta virológica precoz (RVP). Se definió la respuesta al final de tratamiento (RFT) como el aclaramiento del ARN-VHC junto con la normalización de las cifras de transaminasas al finalizar la semana 48, y la respuesta virológica sostenida (RVS) cuando se mantenía la misma respuesta a los 6 meses de seguimiento (semana 72). Se consideró como

no respondedores a los pacientes sin RVS, incluyendo recidivantes (pacientes con RFT sin RVS) y los que no obtuvieron RFT. Se analizaron todos los datos comparando ambos grupos.

### Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar (DE). Las cualitativas como porcentajes. Se analizaron las posibles diferencias entre ambos grupos con el test de Mann Whitney, test exacto de Fisher o el test de Chi cuadrado. Se consideró  $p < 0,05$  como estadísticamente significativa. Para mejorar la potencia estadística del estudio, se agrupan los pacientes recidivantes y no respondedores.

### RESULTADOS

Los controles sanos (edad media  $39 \pm 17$  años) presentaban similar edad y distribución por sexos que los pacientes con HCC. Los niveles de plaquetas eran superiores en los controles ( $256.000 \pm 62.000$  vs.  $182.000 \pm 42.000$ ;  $p < 0,05$ ) y los niveles de ALT, AST, GGT y FAL se encontraban dentro de los rangos normales. No se pudieron encontrar diferencias estadísticamente significativas en los niveles en reposo y estimulados de IL-4, IFN $\gamma$  y TNF $\alpha$  en linfocitos de sangre periférica entre los controles sanos y los pacientes con HCC (Tabla I).

Los 28 pacientes (edad media  $45 \pm 8$  años) cumplieron el tratamiento de 48 semanas y los 6 meses de seguimiento. Al final de este periodo (72 semanas), 12 de 28 pacientes presentaron RVS (43%), 13 de 28 recidivantes (47%) y 3 de 28 (10%) no respondedores. A la hora de realizar el análisis estadístico, se han agrupado los pacientes recidivantes y no respondedores para aumentar la potencia estadística.

### Comparación entre el estado previo al inicio del tratamiento y tras finalizar el seguimiento de los pacientes tratados

En la tabla II se pueden apreciar las características de los pacientes antes de iniciar el tratamiento (basales) y al finalizar el mismo. La tabla III muestra dichas características basales en función de la respuesta al tratamiento antiviral: se observa que los pacientes respondedores (RVS) y no respondedores (incluidos los recidivantes) (NR) eran homogéneos en las características basales y, por tanto, comparables. No se produjo ningún abandono del mismo. Es destacable que todos eran pacientes *naïve* y portadores del genotipo 1 del VHC.

### Perfil de citocinas durante el tratamiento antiviral

No se pudieron encontrar diferencias estadísticamente significativas en la producción en reposo y estimulada por PMA de IL-4, IFN $\gamma$  y TNF $\alpha$  por los linfocitos de sangre periférica entre los controles sanos y los pacientes con HCC (Tabla I). Sin embargo, la media de IL-4 estimulada por PMA en los controles sanos tendía a ser menor que en los pacientes con HCC ( $1,3 \pm 1,2$  vs.  $2,7 \pm 3,7$ ;  $p < 0,1$ ) así como la media de IFN $\gamma$  estimulado tendía a ser mayor en los controles sanos que en los pacientes con HCC ( $28 \pm 18$  vs.  $23 \pm 18$ ;  $p < 0,3$ ).

Durante el tratamiento combinado con Peg-IFN $\alpha$ 2a más ribavirina, la producción intracitoplásmica de IL-4, IFN $\gamma$  y TNF $\alpha$  disminuyó irregularmente en todos los pacientes. En los análisis del primer mes de tratamiento, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de citocinas de pacientes con RVS y los NR; aunque los niveles de IL-4 estimulada tendían a ser menores en los pacientes con RVS que en los NR ( $0,8 \pm 0,8$  vs.  $1,9 \pm 2$ ;  $p < 0,1$ ). Al tercer mes de tratamiento, los niveles de IL-4 estimulada fueron menores

Tabla I. Características basales de los controles sanos y de los pacientes con hepatitis crónica C (HCC) antes de iniciar el tratamiento

	GPT	GOT	GGT	FAL	GGT/ALT	Plaquetas*	IL-4	IFN $\gamma$	TNF $\alpha$	Viremia**
Control	23 $\pm$ 7	23 $\pm$ 4	25 $\pm$ 8	59 $\pm$ 26	1,2 $\pm$ 0,6	256 $\pm$ 62	1,3 $\pm$ 1,2	28 $\pm$ 18	28 $\pm$ 27	0
HCC	91 $\pm$ 52	60 $\pm$ 21	53 $\pm$ 37	68 $\pm$ 25	0,7 $\pm$ 0,9	182 $\pm$ 42	2,7 $\pm$ 3,7	23 $\pm$ 18	22 $\pm$ 16	925 $\pm$ 153
p	0,05	0,05	0,05	NS	NS	0,05	0,1	0,3	NS	0,001

\*Plaquetas: x 1000. \*\*Viremia: x 1000 IU/mL. P: probabilidad. NS: no significativo.

Tabla II. Variables de laboratorio y niveles de citocinas séricas inducidas (media  $\pm$  DE) en situación basal (previa al inicio del tratamiento) y al final del tratamiento antiviral combinado en 28 pacientes con HCC

	GPT	GOT	GGT	FAL	GGT/ALT	Plaquetas*	IL-4	IFN $\gamma$	TNF $\alpha$	Viremia**
Basal	91 $\pm$ 52	60 $\pm$ 21	53 $\pm$ 37	68 $\pm$ 25	0,7 $\pm$ 0,4	182 $\pm$ 42	2,5 $\pm$ 3,6	23 $\pm$ 17	22 $\pm$ 16	925 $\pm$ 153
EOT	39 $\pm$ 56	34 $\pm$ 30	44 $\pm$ 62	68 $\pm$ 15	1,1 $\pm$ 0,6	144 $\pm$ 52	1,3 $\pm$ 1,7	15 $\pm$ 13	11 $\pm$ 10	5,6 $\pm$ 3,6
p <	0,05	0,05	NS	NS	0,02	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

SD: standard deviation. EOT: end of treatment. \*Platelets: x 1000. \*\*Viremia: x 1000 IU/mL.

**Tabla III. Características basales (previas al inicio del tratamiento) de los pacientes y valores de laboratorio en función de la respuesta obtenida al tratamiento antiviral combinado en 28 pacientes con HCC**

	SVR	NR	p
N (%)	13/28 (43%)	16/28 (57%)	NS
Edad (media $\pm$ DE)	44 $\pm$ 8	45 $\pm$ 9	NS
Sexo (H/M)	10/6	6/6	NS
ALT (UI/L)	66 $\pm$ 34	74 $\pm$ 32	NS
AST (UI/L)	52 $\pm$ 16	57 $\pm$ 17	NS
GGT (UI/L)	46 $\pm$ 25	59 $\pm$ 38	NS
ALP (UI/L)	64 $\pm$ 28	75 $\pm$ 34	NS
GGT/ALT	1,1 $\pm$ 1,8	0,8 $\pm$ 0,4	NS
Viremia (x 10 <sup>3</sup> IU/ $\mu$ L)	383 $\pm$ 375	435 $\pm$ 493	NS
Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> / $\mu$ L)	203 $\pm$ 48	183 $\pm$ 47	NS

N: número de pacientes. RVS: respuesta virológica sostenida. NR: no respondedores y recidivantes. DE: desviación estándar. H/M: hombre/mujer.

**Tabla IV. Niveles\* de citocinas séricas estimuladas por PMA de los pacientes con RVS y NR al tratamiento con Peg-IFN $\alpha$ 2a más ribavirina**

	RVS	NR	p
<i>Previo al tto. (mes 0)</i>			
IL-4	1,7 $\pm$ 2	2,4 $\pm$ 2,5	NS
IFN $\gamma$	19 $\pm$ 15	21 $\pm$ 21	NS
TNF $\alpha$	13 $\pm$ 10	16 $\pm$ 19	NS
<i>Mes 1</i>			
IL-4	0,8 $\pm$ 0,8	1,9 $\pm$ 2	< 0,1
IFN $\gamma$	13 $\pm$ 14	12 $\pm$ 13	NS
TNF $\alpha$	13 $\pm$ 14	11 $\pm$ 15	NS
<i>Mes 3</i>			
IL-4	0,97 $\pm$ 1	2,6 $\pm$ 3	< 0,1
IFN $\gamma$	34 $\pm$ 19	18 $\pm$ 19	NS
TNF $\alpha$	27 $\pm$ 14	29 $\pm$ 21	NS
<i>Mes 6</i>			
IL-4	1,5 $\pm$ 2	2,7 $\pm$ 3	< 0,3
IFN $\gamma$	13,6 $\pm$ 10	20 $\pm$ 8	< 0,1
TNF $\alpha$	11 $\pm$ 9	19 $\pm$ 9	< 0,07
<i>Mes 12 (final tratamiento)</i>			
IL-4	0,7 $\pm$ 0,8	1,4 $\pm$ 1,6	NS
IFN $\gamma$	20 $\pm$ 14	8 $\pm$ 9	< 0,05
TNF $\alpha$	14 $\pm$ 13	7 $\pm$ 10	< 0,3
<i>Mes 18 (final seguimiento)</i>			
IL-4	0,04 $\pm$ 0,05	0,15 $\pm$ 0,06	< 0,05
IFN $\gamma$	15 $\pm$ 13	2,3 $\pm$ 4	< 0,07
TNF $\alpha$	8 $\pm$ 9	0,5 $\pm$ 1	< 0,1

\*Unidades: porcentaje de linfocitos T CD8+ que expresan la citocina analizada (media  $\pm$  DE). DE: desviación estándar. Tto: tratamiento.

en los pacientes que no respondieron, aunque sin alcanzarse significación estadística (0,97  $\pm$  1 vs. 2,58  $\pm$  3; p = 0,1). Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con los niveles de IFN $\gamma$  ni de TNF $\alpha$ . Tampoco al sexto mes de tratamiento se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles intracitoplásmicos de citocinas en re-

poso o estimuladas por PMA.

En el análisis al final del tratamiento, la producción de IFN $\gamma$  estimulado fue significativamente mayor en los pacientes que obtuvieron una RVS (20  $\pm$  14 vs. 8  $\pm$  8; p < 0,05). Por el contrario, la producción de IL-4 fue mayor en los pacientes NR, aunque estos datos no alcanzaron significación estadística (p < 0,1). No se encontraron diferencias en relación con los niveles de TNF $\alpha$  (14  $\pm$  13 vs. 7  $\pm$  10; p < 0,3). Al final del seguimiento (6 meses tras la finalización del tratamiento), los pacientes con RVS mantenían cifras más elevadas de IFN $\gamma$  que los NR (al límite de la significación estadística) y los niveles de IL-4 eran inferiores en los pacientes con RVS que en los NR (0,04  $\pm$  0,05 vs. 0,15  $\pm$  0,06; p < 0,05). En cuanto a los niveles de TNF $\alpha$ , no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

## DISCUSIÓN

La respuesta inmune frente al VHC es compleja y utiliza tanto la vía celular como la humoral para tratar de erradicarlo. La interacción de diferentes poblaciones celulares del sistema inmune, entre ellas linfocitos B, linfocitos T y otras células accesorias, inhibe la replicación viral a la vez que puede ser responsable de la lesión histológica (17). Se ha demostrado que hay una distribución anormal de las subpoblaciones de linfocitos T y de células *natural killer* (NK) en la sangre periférica de los pacientes infectados por el VHC (18-21). La activación de linfocitos T específicos y de las células B es clave para dicha eliminación, pero en muchas ocasiones no es efectiva. Además, el desequilibrio puede originar daños a las células del huésped y perpetuar la persistencia del VHC (16). Se han realizado estudios para averiguar si la respuesta proliferativa a un mitógeno de las células mononucleares de sangre periférica está relacionada con la capacidad para eliminar el virus (17).

Otros autores han estudiado la implicación de las células del sistema inmune y distintas citocinas con la respuesta al tratamiento antiviral, centrándose principalmente en los linfocitos T CD4+ (15-17). Los linfocitos T CD8+ presentan un papel predominantemente citolítico, reconociendo los antígenos virales unidos a moléculas del HLA clase I. Se sabe que estas células juegan un papel determinante en el control de la infección viral (19) y que la actividad citolítica observada en el tejido hepático se atribuye principalmente a los linfocitos T CD8+ intrahepáticos. Además, tienen una capacidad de síntesis y secreción de citocinas, entre las que se encuentran el IFN $\gamma$ , IL4 y TNF $\alpha$ , que van a modular las funciones de otras poblaciones linfocitarias, tanto de fenotipo CD8+ como CD4+ (22-24). No existen estudios concluyentes que analicen la producción de estas citocinas por los linfocitos CD8+ en sangre periférica durante el tratamiento con Peg-IFN $\alpha$  más ribavirina (16). Tanto el Peg-IFN como la



ribavirina poseen efectos inmunomoduladores, facilitando una respuesta inmune vigorosa que sea capaz de eliminar el VHC.

En este estudio se ha evaluado el perfil de citocinas T1/T2 en sangre periférica secretadas por los linfocitos T CD8+ durante el tratamiento antiviral con Peg-IFN $\alpha$  más ribavirina en pacientes con HCC *naïve* genotipo 1. Además, hemos correlacionado dichos parámetros con los patrones de respuesta al tratamiento antiviral con el fin de establecer posibles factores predictivos de respuesta. Los hallazgos de este estudio sugieren que los pacientes con RVS tienen una polarización de la respuesta inmune específica a cargo de los linfocitos CD8+ hacia el tipo T1 (similar funcionalmente al tipo Th1 de los linfocitos T CD4+), con niveles más elevados de IFN $\gamma$  al final del tratamiento y durante el periodo de seguimiento. Sin embargo, los pacientes NR tienen un predominio de la respuesta de citocinas T2 (similar funcionalmente al tipo Th2 de los linfocitos T CD4+), caracterizada por niveles más elevados de IL-4 en sangre periférica al final del tratamiento, los cuales van disminuyendo a lo largo del seguimiento.

El tratamiento combinado con Peg-IFN $\alpha$  más ribavirina tiene una acción inmunomoduladora y antiviral, aunque no se conocen los mecanismos íntimos (25). Los hallazgos de este estudio sugieren que la respuesta al

tratamiento con Peg-IFN $\alpha$  más ribavirina está parcialmente determinada por el tipo de subpoblación linfocitaria T CD8+ que se active con la consiguiente síntesis de diferentes tipos de citocinas: T1 conseguiría una RVS, mientras que T2 sería ineficaz para eliminar el virus y se perpetuaría por tanto la infección.

En resumen, el mantenimiento de la respuesta inducida de citocinas tipo T1 durante el tratamiento antiviral combinado, medida en función de la producción de IFN $\gamma$  por los linfocitos T CD8+, se asocia con RVS y sugiere el control de la replicación y el aclaramiento posterior del VHC genotipo 1. Dado el pequeño tamaño muestral y las características de la enfermedad, serían necesarios estudios con un mayor número de pacientes que corroboraran estos resultados. Además, el estudio de otras poblaciones linfocitarias permitiría delimitar las interacciones entre las distintas funciones de las células T en la respuesta inmune global de los pacientes con HCC.

#### AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con el patrocinio del Instituto de Salud Carlos III (C03/02) y del Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF 2001-1414).