

EL VIRUS DE LA HEPATITIS C: RETOS ASOCIADOS A SU CONTROL EPIDÉMICO

*Lucia Sánchez Sánchez
Juan Carlos Ortega Lázaro
IES Las Musas, Madrid*

*Amelia Nieto Martín
Centro Nacional de Biotecnología-CSIC*

RESUMEN

La hepatitis C es una enfermedad producida por el virus de la Hepatitis C que afecta en la actualidad a 71 millones de personas. Las terapias basadas en interferón pegilado y ribavirina fueron de las primeras utilizadas en el control de la enfermedad. Estos compuestos constituyen tratamientos inespecíficos que debido a su baja efectividad (~40%) y graves efectos secundarios, han sido reemplazados por los antivirales de acción directa. Estos antivirales tienen dianas específicas (NS3/4A, NS5A y NS5B) y gracias a ello cuentan con una efectividad superior al 96% y pocos efectos secundarios. El desarrollo de estos antivirales constituyó un avance importantísimo en el control de la enfermedad, no obstante, distintas investigaciones han abierto un debate sobre la relación entre estas estrategias y el desarrollo de hepatocarcinoma. Por ello, numerosos científicos defienden la necesidad de síntesis de una vacuna para garantizar una correcta profilaxis. A pesar de los múltiples prototipos y estrategias testados ninguna vacuna terapéutica o preventiva ha sido aprobada hasta la fecha. Las principales causas son la falta de modelos animales inmunocompetentes, la gran diversidad genética vírica y los múltiples mecanismos de evasión del sistema inmune.

1. INTRODUCCIÓN

La hepatitis C es una enfermedad vírica que afecta en la actualidad a 71 millones de personas, de las cuales cada año fallecen 800.000 principalmente por la aparición de cirrosis o hepatocarcinoma (HCC). El virus de la hepatitis C (HCV) tiene una prevalencia de 2% de la población mundial. Estas cifras son principalmente debidas a tres razones: la ausencia de síntomas hasta estadios más graves e irreversibles, la gran capacidad de contagio del HCV y la ausencia de una vacuna efectiva.

La falta de síntomas produce una alta tasa de cronificación del 80-85%, mientras que en el 15-20% restante el sistema inmune de los pacientes es capaz de eliminar al virus eficazmente, a esto se le conoce como enfermedad aguda. Solo es en algunos casos donde se puede producir extraordinariamente hepatitis fulminante. El HCV es hepatotrópico, siendo el hígado el órgano más afectado y la diana de los 7 genotipos existentes del virus. Los síntomas de una infección aguda acaban derivando en un malestar general y en una disfunción general (ictericia, dolor en articulaciones, etc) que sin ser tratada derivará en una hepatitis crónica que puede finalizar en la muerte del paciente.

El HCV es altamente contagioso de forma que puede contraerse de múltiples formas, la mayoría parenterales, es decir, a través de la sangre, lo que engloba desde la utilización de jeringuillas de drogadictos, hasta una inadecuada esterilización del material sanitario. También puede transmitirse por relaciones sexuales y por vía vertical desde madres a hijos, siendo esta una vía muy

poco habitual (Castro, 2021).

1.1. Estadíos de la hepatitis

La patogénesis de la infección es una consecuencia de una respuesta ineficaz del sistema inmunitario, que no solo no consigue la eliminación de los virus, sino que además somete al hígado a un estado de estrés constante. La infección hace que las células segreguen interferón (INF), citoquinas pro-inflamatorias de respuesta innata, respuestas celulares adaptativas de células inmunitarias especializadas y producción de anticuerpos. Esta acción resulta ineficaz y da como resultado la inflamación del hígado, de ahí el nombre *hepatitis*, de *hepar* (hígado) e *itis* (inflamación).

La enfermedad de la hepatitis C tiene varias etapas:

- Inflamación del hígado.
- Esteatosis y estrés del hígado.
- Fibrosis.
- Cirrosis.
- Hepatocarcinoma.

Uno de los más frecuentes indicadores de la hepatitis C es la esteatosis hepática, también llamada hígado graso, la cual se encuentra en un 50% de los pacientes, sobre todo en el genotipo 3. La esteatosis hepática consiste en la acumulación de triacilglicéridos o ésteres de colesterol en el parénquima hepático. Además, es uno de los factores de riesgo para el desarrollo de hepatocarcinoma.

Por otro lado, la fibrosis hepática es la cicatrización de las heridas del hígado causadas por la lisis que los virus provocan sobre los hepatocitos durante su ciclo reproductivo. Esto deriva en un daño inflamatorio, en un depósito abundante de matriz extracelular y en la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos). La inflamación crónica provoca una fibrogénesis descontrolada, en la que se sintetizan fibras de colágeno de forma desmesurada para la reparación tisular. En este proceso se produce un depósito grande de matriz extracelular en el parénquima hepático y se forma el tejido conectivo cicatrizal. A medida que se desarrolla la enfermedad, dicho tejido cicatrizal acaba rodeando a todo el hígado destruyendo su estructura interna, lo que se conoce como cirrosis. El tejido fibrótico se mezcla con nódulos hepáticos en regeneración, masas de células en división para la regeneración de las zonas dañadas del hígado. La cirrosis es silenciosa y solo presenta sus síntomas en una etapa tardía que es calificada como *procarcinogénica*. De los pacientes con hepatitis crónica entre el 15-25% desarrollan cirrosis, de los cuales el 75% de los casos derivan en hepatocarcinoma (Wilkins et al., 2015). El HCV es la principal causa de HCC, raras veces ocurre sin un estado de fibrosis avanzada o cirrosis. La cirrosis y el hepatocarcinoma constituyen los estadíos de cronificación irreversibles y son además, las causas más comunes del trasplante hepático a nivel mundial (Castro, 2021). En la figura 1 se muestra un esquema de las fases de la enfermedad sobre el hígado descritas anteriormente.

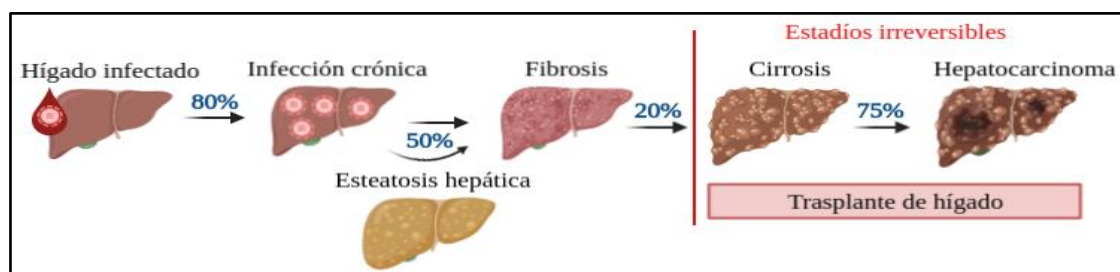


Figura 1: Fases de la enfermedad. Se muestran las distintas fases que tiene la enfermedad sobre el hígado. Primero tiene lugar una inflamación del hígado debido a la acción de citoquinas pro-inflamatorias. Después, en un 50% de los casos se desarrolla la esteatosis hepática. Más adelante, se presenta la fibrosis, caracterizada por un gran depósito de material extracelular y por la síntesis descontrolada de fibras de colágeno. Cuando el tejido conectivo alcanza todo el hígado se pasa a la fase de cirrosis que puede desembocar en un hepatocarcinoma.

2. ESTRUCTURA DEL VIRUS Y ORGANIZACIÓN DEL GENOMA

El virus de la hepatitis C pertenece a la familia *Flaviviridae* y al género *Hepacivirus*. El HCV tiene un diámetro de 50 nm, se trata de un virus icosaédrico pequeño. La estructura básica de un virus maduro se compone de una bicapa lipídica, una cápside compuesta por la proteína Core y un genoma de RNA de cadena sencilla y polaridad positiva formado por 10^4 nucleótidos (ViralZone, 2017). Gracias a su asociación con lipoproteínas de baja densidad (LDL) y muy baja intensidad (VLDL), los viriones tienen una baja y heterogénea densidad (1.003-1.15 g/ml). El virus circula como lipovirionpartículas (LVPs), y esta asociación facilita su entrada en la célula hospedadora y a la vez protege a las partículas de anticuerpos neutralizantes (Castro, 2021). En la figura 2 se presenta un esquema de la estructura del HCV.

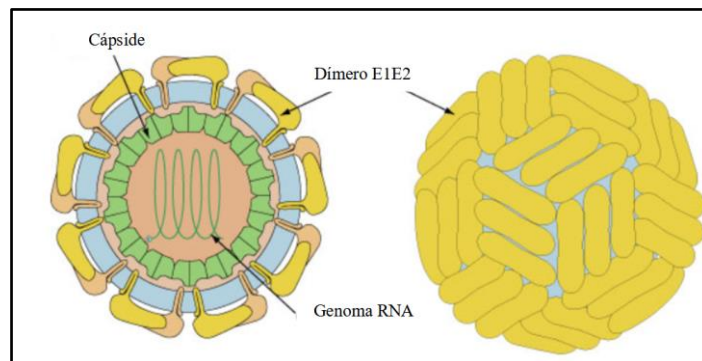


Figura 2: Estructura básica del virus de la hepatitis C. El HCV se compone de una bicapa lipídica (azul) donde se encuentran los heterodímeros E1E2, una cápside ensamblada por Core y un material genético de RNA (Swiss Institute of Bioinformatics, 2017).

El genoma contiene un único marco de lectura abierto (ORF), flanqueado por regiones 5' y 3' no codificantes y altamente conservadas (UTRs), que son fundamentales para la replicación y traducción del RNA. La región 5' es la mejor conservada, con menos variaciones y analogías superiores al 98%. Gracias a la estructura IRES presente en el extremo 5', su traducción a proteínas es enormemente eficaz, así como la protección del RNA viral.

El ORF codifica una poliproteína de 3000 aminoácidos que es escindida en 10 proteínas por proteasas virales y celulares. Estas proteínas pueden clasificarse según su función en estructurales y no estructurales. En la figura 3 se representa la estructura del genoma.

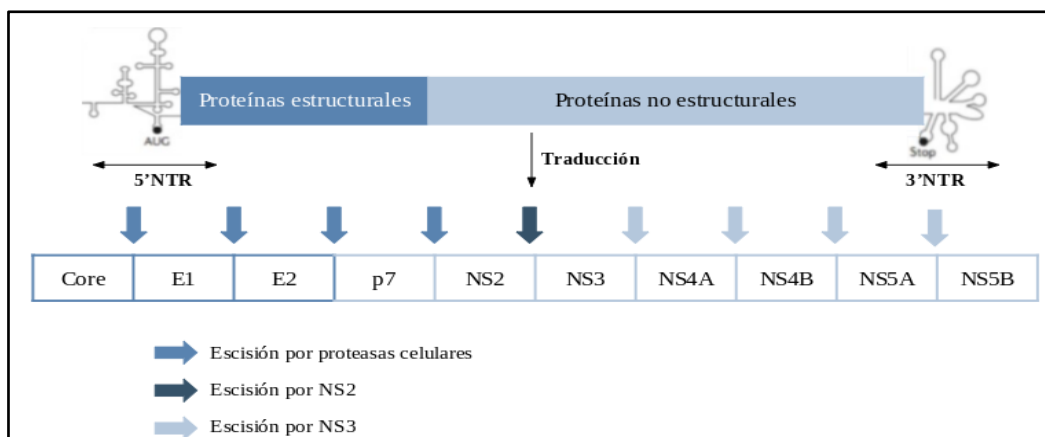


Figura 3: Estructura del genoma del HCV y topología de sus proteínas virales. Esquema del genoma de HCV donde se representan las proteínas estructurales y no estructurales. Además de los codones de iniciación y terminación de los extremos 5' y 3'.

2.1. Proteínas estructurales

Una vez formada, la poliproteína comienza a ser hidrolizada por las proteasas celulares dando lugar y de forma progresiva a las proteínas estructurales (Sanz, 2016).

La proteína *Core*, que consta de 191 aminoácidos, es la primera molécula en ser codificada y es el mayor componente estructural del virus. De entre todas las proteínas estructurales es la más conservada y desempeña un papel fundamental en la patogénesis. Cuando *Core* es escindida del resto de la poliproteína se dirige a la membrana del retículo endoplasmático para ser convertida en una proteína madura por las péptido proteasas de señal (SPP). En esta última forma la proteína contiene tres dominios. El primero presente en el extremo N-terminal participa en la unión al RNA vírico, el segundo se encarga de establecer relaciones con las LDs y el tercero provoca la transferencia de la proteína E1 de la membrana del retículo (Reyes, 2021).

Por otro lado, *E1* y *E2* son glicoproteínas presentes en forma de heterodímero en la superficie del HCV. *E2* es descrita como la proteína principal mientras *E1* es la proteína acompañante implicada en el correcto plegamiento de la primera (Lombana, 2015). *E2* ha sido ampliamente estudiada pero el completo funcionamiento de *E1* no se conoce en profundidad. Ambas son las principales responsables de la introducción del virus en los hepatocitos gracias a su capacidad de fijarse a sus receptores (Teimourpour et al., 2016). Al contrario que *Core*, estas proteínas tienen una gran variabilidad entre genotipos especialmente en las regiones hipervariables de *E2* conocidas como HVR1 y HVR2. Esta variabilidad está relacionada con la no eliminación del virus y con la resistencia a las terapias antivirales principalmente por anticuerpos (Hussein et al., 2014).

2.2. Proteínas no estructurales

La molécula *p7* es la primera proteína no estructural en ser sintetizada, la cual cuenta con 63 aminoácidos. A pesar de ser clasificada como proteína no estructural, no está claro que no sea un componente del virión y es por ello que algunos estudios (Castro, 2021; Quirós, 2019; Lombana, 2015) la consideran estructural. Es una viporina y por tanto su función principal es la de formar canales iónicos que regulan las concentraciones de potasio, sodio y calcio para controlar los niveles de acidez y favorecer el ensamblaje del virión (Lombana, 2015). Además, sirve de señal para la translocación de N2S al lumen del retículo endoplasmático donde sufrirá proteólisis adicional siendo esencial para el ensamblaje y liberación de los viriones.

El polipéptido *p7* es la única proteína no estructural escindida por proteasas celulares, el resto (región NS2- NS5B) es procesado por 2 enzimas virales NS2 y NS3, que generan cortes autocatalíticos en las regiones NS2-NS3 y NS3-NS4A. Esto permite la formación del complejo de la proteasa NS3/4A que procesa al resto de proteínas no estructurales NS4B, NS5A y NS5B (Aguirre, 2008).

NS2 es una proteína transmembrana importante para el ensamblaje de los viriones gracias a sus interacciones con *p7* y *E2*, además de actuar como proteasa como se ha mencionado anteriormente (Lombana, 2015).

La proteína *NS3/NS4A* del HCV es una enzima multifuncional, ya que en el primer tercio de su estructura (281 aminoácidos del extremo N-terminal) tiene actividad serín proteasa y el resto función de helicasa que desenrolla las cadenas dobles de RNA formadas durante la replicación viral (Aguirre, 2008), estas dos regiones están diferenciadas y conectadas por un dominio de enlace denominado *flexible linker* (Sanz, 2016). También tiene función como trifosfatasa de nucleósidos (NTPasa), estimuladora del desarrollo de fibrosis (Patil et al., 2022) y alteradora de la señalización antiviral celular, lo que favorece la cronificación de la enfermedad (Sanz Raya, 2016). El complejo

NS3/4A favorece el desarrollo del virus al unirse y posteriormente inhibir al supresor de tumores p53 (Patil et al., 2022).

NS4B es una proteína altamente hidrofóbica cuya función principal es alterar las membranas intracelulares durante el proceso de replicación viral para así formar las membranas tipo “andamio” presentes en la formación del complejo de replicación. NS4B también puede unirse al RNA y tiene actividad ATPasa y GTPasa además de estar involucrada en el reclutamiento de otras partículas virales (Lombana, 2015).

NS5A es una fosfoproteína multifuncional formada aproximadamente por 447 aminoácidos (genotipo 1). Existe en estado defosforilado e hiperfosforilado, esta hiperfosforilación regula sus diferentes funciones, específicamente la replicación y la formación de viriones (Janardhan & Reau, 2015). NS5A se ancla al retículo endoplasmático y a las membranas derivadas de él mediante un enlace que se establece con su extremo N-terminal. Tras este extremo se encuentran tres dominios y dos regiones de enlace, se cree que esta estructura es pangénotípica (Issur & Götte, 2014). El dominio 1 tiene un sitio de unión a Zinc que interviene en la formación de los homodímeros NS5A. Por otro lado, los dominios 2 y 3 son menos estructurados y se caracterizan por una mayor flexibilidad lo que les permite interactuar con una gran variedad de moléculas virales y celulares. En la figura 4 se muestra la estructura de NS5A y las proteínas con las que interactúa.

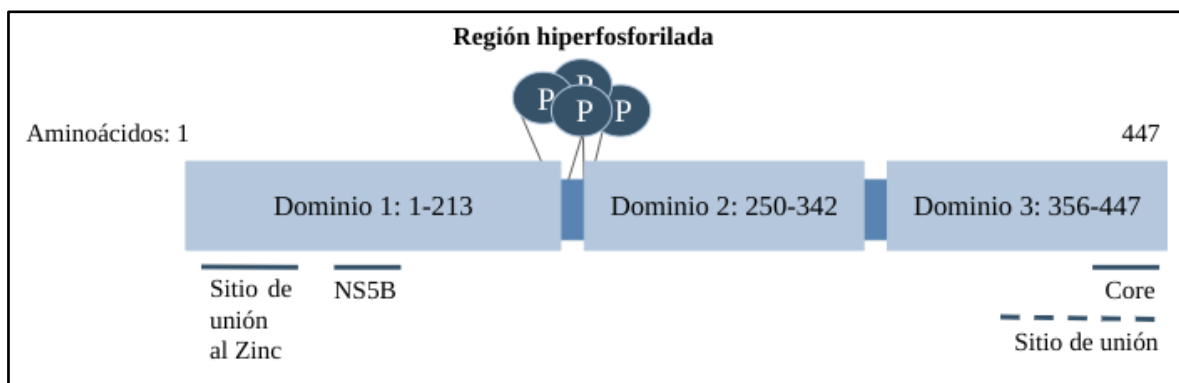


Figura 4: Estructura de NS5A. Se muestra la división en tres dominios, dos regiones de enlace, la región hiperfosforilada, y los sitios de interacción de la proteína con otras moléculas. Adaptado de Janardhan & Reau, 2015.

Las interacciones que NS5A establece, tienen una gran importancia en el ciclo viral. Así se ha descrito que su interacción con NS4B facilita la formación de redes membranosas, con NS5B favorece la replicación de RNA y con la proteína central (core) la formación de partículas virales. En la figura 5 se muestra la estructura del complejo de replicación formado por NS3/4A, NS5B y NS4B unidos por los homodímeros NS5A que actúan a modo de andamio. Todos los dominios de NS5A presentan sitios de unión a RNA. Los dominios 1 y 2 parecen ser fundamentales para la replicación de RNA, mientras que el dominio 3 es importante para el ensamblaje de viriones debido a sus interacciones con la proteína Core. Por otro lado, NS5A ejerce una función muy importante en contrarrestar la respuesta inmune del hospedador interfiriendo en procesos mediados por interferón y procesos apoptóticos como los mediados por TNF o p53 (Janardhan & Reau, 2015).

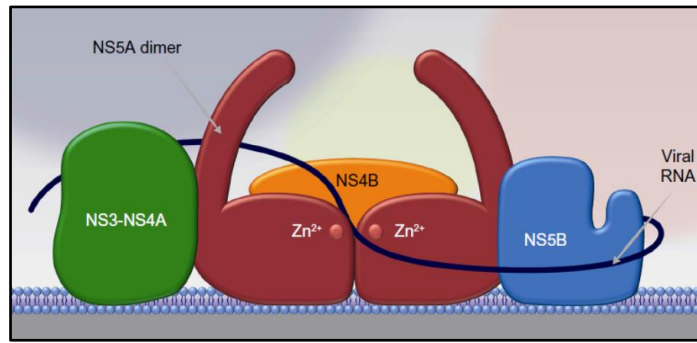


Figura 5: Estructura del complejo de replicación. Sus constituyentes son NS3/4A, NS5B y NS4B unidos por los homodímeros NS5A que actúan a modo de andamio (Janardhan & Reau, 2015).

Por último, NS5B es la RNA polimerasa RNA dependiente encargada de la replicación del material genético vírico (Preciado et al., 2014).

3. GENOTIPOS DEL HCV

El virus de la hepatitis C es uno de los virus con mayor grado de diversidad genética de entre aquellos que son patológicos para los humanos. Esta diversidad da origen a distintos genotipos, término utilizado para virus cuyos genomas tengan un grado de homología entre un 66-69%, habiéndose descrito 7 principales genotipos distintos. Dentro de un mismo genotipo se encuentran a su vez variaciones; cuando estas se sitúan entre un 77-80% constituyen los denominados subtipos. A su vez, dentro de un subtipo se habla de aislado cuando los grados de homología oscilan entre 91-95%. Cuando se trata de una homología con un grado superior al 98% se denomina cuasiespecie.

Esta heterogeneidad genética es debida a la alta tasa de replicación viral y a la baja fidelidad de la RNA polimerasa dependiente de RNA (polimerasa NS5B) que se encarga de replicación del RNA vírico. Ambos factores están interrelacionados. El HCV tiene una vida media en la sangre de 2,5 h y la tasa de proliferación del virus es alta, aproximadamente 10^{12} en pacientes con infección crónica. A esta gran rapidez de multiplicación se le suma la incapacidad de la polimerasa de corregir errores durante la replicación, lo que provoca una tasa de error de 10^{-4} . Al no existir modelos experimentales para el cultivo de virus se dificulta la obtención de datos, pero basándose en otros virus se ha estimado que la probabilidad de una mutación puntual es de 10^{-4} y de una mutación doble 10^{-11} , lo que lleva a la producción diaria de 3.300 virus distintos respecto al virus que infectó inicialmente a la célula. Atendiendo a estas cifras, se ha estimado que el virus parental del que se originaron todas las variantes apareció hace 2000 años y que la diversidad genética existente es el resultado de la acumulación de mutaciones.

Los genotipos se nombran con números arábigos y se han descubierto un total de 11 genotipos, siendo 7 de estos los más extendidos. En la figura 6 se muestran los porcentajes de homología y nomenclatura de variantes.

| Categorías | Homología (%) |
|-----------------|---------------|
| • Genotipo | 66-69 |
| • Subtipo | 77-80 |
| • Aislado | 91-95 |
| • Cuasiespecies | >98 |

| | |
|-------------------|---|
| 1 a _ hcv1 | 1: genotipo a: subtipo hcv1: aislado |
|-------------------|---|

Figura 6: Porcentajes de homología y nomenclatura de variantes. (Maroto y García, 2010).

Las técnicas para la identificación de genotipos son complejas y se pueden dividir en moleculares, que utilizan técnicas de secuenciación y serológicas que determinan el serotipo. Las pruebas moleculares se basan en la secuenciación de determinadas secciones del genoma (NS5B, E1, core). Sin embargo, debido a la alta variabilidad de estas regiones y a la complejidad que esto conlleva en su análisis, se opta por la secuenciación de la región 5' UTR, que como se ha remarcado en el apartado anterior está mucho más conservada (Maroto y García, 2010).

La gran variabilidad genética del HCV no solo condiciona el desarrollo de vacunas y antivirales, sino también la patogenicidad viral, el diagnóstico médico, la resistencia al tratamiento y la epidemiología. Identificar el genotipo es uno de los primeros pasos a la hora de tratar a un paciente infectado por hepatitis C. Debido a esta complejidad es necesaria una correcta identificación del genotipo y subtipo responsables de la infección.

Los genotipos más comunes son el 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5 y 6 su distribución geográfica es la siguiente:

- En Europa y Norteamérica predomina el tipo 1 (75%), seguido del 2 y 3 (25%)
- En África se originaron los genotipos 4 y 5. El 4 predomina en el Norte, mientras que el 5 es más prevalente en Sudáfrica. El genotipo 7 también se originó en África, aunque es mucho menos frecuente.
- En India predomina el genotipo 3.
- En China e Indonesia cobra más importancia el 6 y se encuentra una mayor diversidad de genotipos (Quirós, 2019).

En la figura 7 se muestra la distribución global de genotipos.

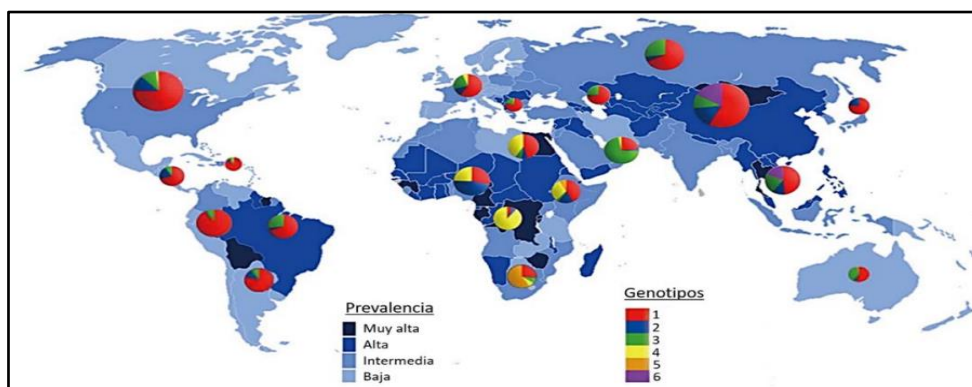


Figura 7: Prevalencia y distribución global de genotipos de HCV. Se muestra como Mongolia, la República del Congo y Egipto son de los países con mayor prevalencia (azul oscuro), mientras que otros como España, Canadá o Austria tienen una muy baja. Por otro lado, el genotipo más distribuido es el 1, salvo en África donde priman más el 2, 4 o 5 (Quirós, 2019).

4. CICLO REPLICATIVO DEL HCV

El ciclo replicativo del HCV es citoplasmático. Todo comienza con la unión del virus a receptores específicos de la membrana plasmática de la célula hospedadora. Como ya se ha mencionado antes, esta adsorción es favorecida por la naturaleza lipídica del virus. Como resultado, se produce una endocitosis mediada por clatrina en la que el virus queda envuelto en forma de vesícula por la membrana plasmática, lo que se conoce como endosoma (Castro, 2021). Más tarde, la proteína dineína traslada el endosoma hacia el retículo endoplasmático donde se produce una acidificación de la vesícula provocando la fusión de su membrana con la membrana vírica. Acto seguido, el RNA vírico se desencapsida y es liberado al citoplasma (Reyes, 2021). Gracias a la presencia del IRES que interacciona con el complejo de iniciación de la traducción reclutando ribosomas al RNA del virus, este es traducido

muy eficazmente. Desde que el virus entra en la célula se hace con el control del metabolismo del hepatocito, concretamente de todo su sistema de membranas.

Tras la traducción de la poliproteína viral y la escisión de esta en otras 10, las proteínas NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B formarán complejos de replicación dentro de vesículas de doble membrana formadas por el retículo endoplasmático (DMVs) (Castro, 2021). También se han encontrado, aunque son menos comunes, vesículas con una sola membrana (SMVs,) en células de cultivo (Li et al., 2021). Dentro de las DMVs, los complejos de replicación, se encargarán de la replicación del genoma.

La proteína NS5B, tiene actividad de polimerasa de RNA, dependiente de RNA y por tanto es la principal responsable de la replicación del genoma. Primero el RNA de polaridad positiva, es decir, codificante (RNA+) se copia para generar un RNA no codificante de polaridad negativa (RNA-) que es utilizado como molde para generar más copias de RNA+. El genoma sintetizado se encapsidará para formar partículas virales o se utilizará como molde para la traducción secundaria de más proteínas virales.

Por otro lado, se está produciendo la síntesis de la nucleocápside en plataformas de ensamblaje. Estas plataformas están compuestas por gotas lipídicas citoplasmáticas (LDs), cubiertas por Core y NS5A que se encuentran envueltas por membranas del retículo endoplasmático. Cabe resaltar la acción de p7 y NS2 en la organización de estas estructuras. Las plataformas de ensamblaje se encuentran muy cerca de los complejos de replicación, lo que es una ventaja ya que mejora la coordinación espacial con el complejo de replicación.

Por último, las partículas virales se forman al introducir las copias de RNA vírico en las cápsides formadas. Más tarde los viriones saldrán del ER por gemación, adquiriendo una envuelta membranosa. Durante el proceso se incorporarán las glicoproteínas E1 y E2. Finalmente, las partículas virales maduran en su vía por el aparato de Golgi hasta su secreción. En la figura 8 se muestra un esquema del ciclo replicativo del HCV (Castro, 2021).

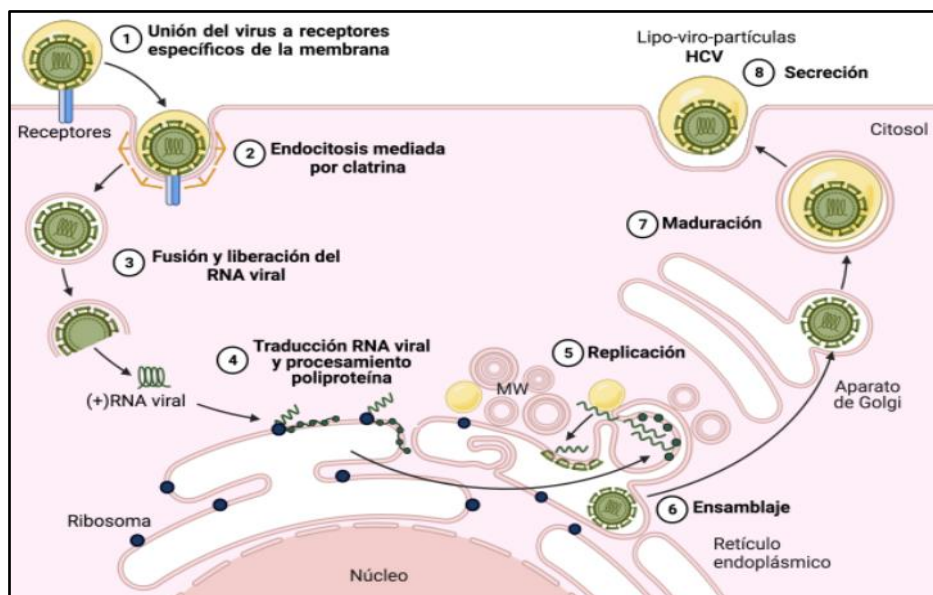


Figura 8: Ciclo replicativo del HCV. El virión se fija al receptor del hepatocito (1) y entra en la célula por endocitosis mediada por clatrina (2). Se fusionan la membrana plasmática del endosoma con la membrana lipídica del virus y el genoma se desencapsida y libera (3). El RNA es traducido en la membrana del ER y la gran poliproteína es dividida en 10 proteínas mediante proteasas (4). Las proteínas del complejo de replicación junto con gotas lipídicas forman estructuras de membrana donde se replica el genoma viral (5). El genoma es encapsidado con la proteína core e incorporado a vesículas del ER que contienen las glicoproteínas de la envuelta (6). Finalmente, el virión madura en su vía secretora por el aparato de Golgi (7), se asocia a lipoproteínas y es secretado (8). (Castro, 2021).

5. TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN EL CONTROL DE LA HEPATITIS C

El principal objetivo de este trabajo es la caracterización de los distintos fármacos para el tratamiento del HCV con la meta final de realizar un posterior análisis sobre los efectos secundarios de estos. En la actualidad existen tratamientos inespecíficos y específicos, siendo los inespecíficos los primeros en haberse desarrollado y los más generales, y los específicos los más efectivos en la erradicación de la viremia (presencia de virus en el torrente sanguíneo). En ambos casos existen distintos tipos de respuesta durante y después del tratamiento:

- *Respuesta virológica precoz*: es la significativa disminución de la carga viral tras 3 meses de tratamiento.
- *Respuesta al fin del tratamiento*: es la ausencia de viremia al final del tratamiento.
- *Respuesta virológica sostenida (SVR)*: es la ausencia de viremia en pacientes crónicos tras seis meses de la finalización del tratamiento.
- *Recaída*: es la reaparición de la viremia seis meses después de la finalización del tratamiento, habiendo sido negativa al final de este.
- *Respuesta parcial*: es la disminución de la carga viral durante el tratamiento sin dar lugar a su completa eliminación.
- *No respuesta*: es la persistencia sin cambios significativos de la carga viral durante el tratamiento (Brahm B., 2008).

La respuesta virológica sostenida es la respuesta más buscada por los investigadores y la forma de medir el grado de efectividad de las drogas antivirales.

5.1. Tratamientos inespecíficos: Interferón y Ribavirina

5.1.1. Interferón

El interferón es una proteína que sintetizan las células cuando un patógeno infecta a una célula. Se trata de una respuesta inmune innata, que tiene lugar antes que la respuesta inmune adaptativa. Concretamente, el interferón (IFN) es un inmunomodulador que provoca, mediante la expresión de cientos de genes celulares, un estado antiviral en la célula, con la finalidad última de evitar la proliferación y dispersión de dichos patógenos, mayoritariamente virus, en las células vecinas. Es capaz de detener su multiplicación gracias a que estos genes expresados afectan prácticamente a todas las etapas y procesos vitales del ciclo viral, aunque dependiendo del virus y tipo celular estos genes desempeñarán un papel más o menos importante en el bloqueo de la infección. A diferencia de los antivirales que se estudiarán más adelante, esta respuesta es inespecífica, es decir, no ataca a virus o microorganismos en concreto.

La activación del sistema IFN comienza con el reconocimiento del patógeno dentro de una célula. El sistema inmunológico reconoce estos patógenos gracias a moléculas propias de ellos que se encuentran ausentes en la célula hospedadora. Estas moléculas se conocen como inmunoestimulantes asociados a patógenos (PAMPs). En el caso de los virus estos inmunoestimulantes son moléculas de RNA bicatenario (dsRNA) producidas en la replicación viral. Los PAMPs son reconocidos por receptores específicos que se encargan de unirse a los PAMPs y activar el sistema del interferón. Esta activación del sistema consiste en una cascada de señales que termina con la expresión de IFN- β o IFN- α .

Una vez sintetizado el IFN, la célula infectada por el patógeno lo libera al exterior donde actuará de forma autocrina, influyendo a la misma célula que lo ha sintetizado, y paracrina, influyendo a células cercanas para “avisarlas” de la presencia del patógeno. La unión del IFN sintetizado a receptores específicos, activa la expresión de determinados genes (ISGs) tanto de la misma célula como de las

células vecinas todavía sin infectar, creando un estado antiviral generalizado (Sanz Esteban, 2016). En la figura 9 se resume el mecanismo de acción del interferón sobre la primera célula infectada y la célula adyacente.

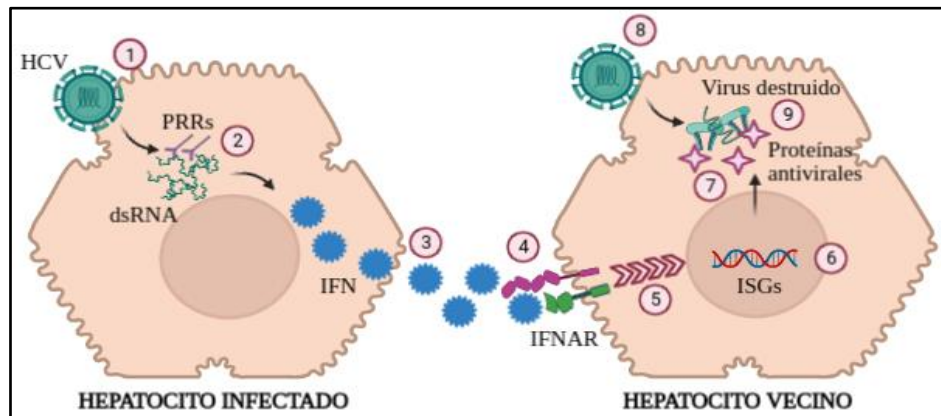


Figura 9: Mecanismo de acción del interferón. Entrada del virus en célula hospedadora y comienzo de la infección (1). Reconocimiento de las PAMPs por los receptores (2). Síntesis y liberación de interferones (3). Reconocimiento de los interferones por receptores específicos (4) que mandan señales al núcleo (5) para activar los ISGs (6). Síntesis de proteínas antivirales (7). Cuando se produzca una nueva infección (8), las proteínas antivirales destruirán a los virus impidiendo su proliferación (9).

5.1.2. Ribavirina

La ribavirina (RBV) es un análogo de nucleósido que actúa impidiendo la replicación viral. Ha sido aprobado como antiviral de amplio espectro y se utiliza sobre muchos otros virus como los adenovirus, citomegalovirus y otros virus de la hepatitis. Existen diferentes mecanismos de acción pero el más importante es la guanilación del RNA mensajero viral.

Un análogo es cualquier molécula que guarda una cierta semejanza química y estructural con otra. Concretamente, la ribavirina es un análogo del nucleósido guanosina. En la figura 10a se muestra la estructura de la ribavirina y en la figura 10b la estructura de la guanosina, se aprecia la semejanza estructural de ambas.

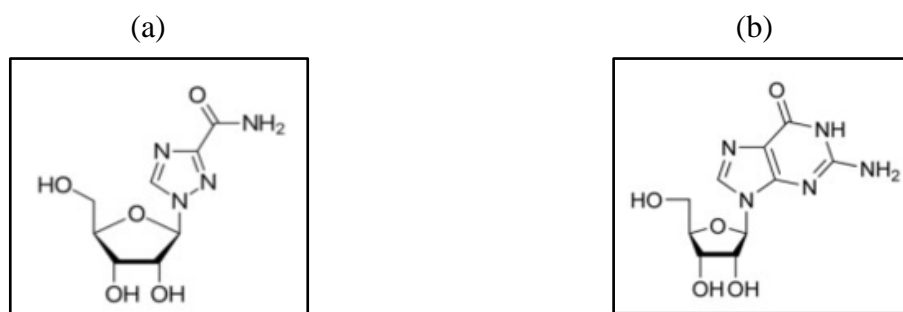


Figura 10: Estructura de la ribavirina (a) y de la guanosina (b). (Fernández, 2019).

La ribavirina al ser un análogo de nucleósido debe ser fosforilado por quinasas para actuar correctamente. Como trifosfato (RBV-PPP), constituye el estado más activo en la inhibición de la RNA polimerasa NS5B. Otro mecanismo de acción es la mutagénesis del RNA mensajero. Este efecto mutagénico tiene lugar cuando la polimerasa al copiar el RNA vírico introduce por error la ribavirina en las cadenas de RNA naciente y se producen sustituciones A-G, G-A, U-C o C-U. Cuando este RNA vírico formado se dirija a un ribosoma para su traducción, no será leído a causa de las sustituciones y la presencia de la ribavirina. Asimismo, la RBV difosfato (RBV-PP) regula positivamente los genes estimulados por interferón y la respuesta inmunitaria adaptativa por linfocitos T colaboradores y

citotóxicos (Fernández, 2019).

5.1.2 Interferón y ribavirina como tratamiento para la hepatitis C

La patogénesis del virus de la hepatitis C surge por una respuesta ineficiente del sistema inmunológico del paciente. El curso de la infección dependerá de un equilibrio entre la tasa de replicación del HCV y la especificidad, rapidez y eficacia de la respuesta inmunológica. Una vez que el virus penetra en la célula hospedadora, comienza a replicarse rápidamente induciendo la síntesis de interferones tipo I. Sin embargo, estas citoquinas no consiguen provocar una eficaz respuesta del sistema inmune adaptativo y como consecuencia, después de un corto periodo de exposición al virus, la carga viral aumenta exponencialmente. Esta relación entre el sistema inmunológico y la patogenicidad del HCV está ampliamente demostrada. Se ha comprobado que en pacientes que desarrollan una insuficiente respuesta de células T (CD4+ y CD8+) el RNA vírico persiste multiplicándose durante más tiempo en los hepatocitos. De hecho, los pacientes que se recuperan de una infección aguda muestran una mayor respuesta de linfocitos CD4+ en comparación con aquellos pacientes que desarrollarán una enfermedad crónica (Reyes & Kershenovich, 2008).

El HCV tiene muchas formas de esquivar el sistema inmunitario. Una es debida al gran número de cuasiespecies cuyas mutaciones pueden atribuirles capacidades beneficiosas como eludir las células T y los anticuerpos generados por los linfocitos B. Otra forma es bloqueando los mecanismos antivirales, impidiendo en algunos casos la producción de interferones. El virus también induce células T reguladoras que frenan la respuesta inmunitaria (Crawford & Otero-Piñero, 2020). Además, una vez comenzada la producción de ISGs, las proteínas NS3, NS3/4A y NS5A alteran la señalización del sistema inmunitario dificultando su actuación.

Debido a esta relación entre la respuesta inmune y el desarrollo de la patogenicidad, cuando se descubrió oficialmente el virus de la hepatitis C, todavía sin tratamientos específicos, se propuso el uso del IFN como un inmunoestimulante capaz de generar una respuesta bloqueadora de la proliferación vírica. El primer tratamiento desarrollado fue una monoterapia con interferón- α (IFN- α). La cual tuvo un éxito bajo, ya que tras 12 meses de tratamiento solo el 16-20% de los pacientes presentaban respuesta virológica sostenida. Diez años más tarde, el IFN- α se complementó con ribavirina y el porcentaje de pacientes con SVR aumentó hasta el 35-40%.

Más tarde, se cambió el IFN- α por una dosis oral diaria de interferón pegilado (peg-IFN- α), que era administrado con una inyección semanal de ribavirina durante 24-48 semanas (Castro, 2021). El interferón pegilado se consigue, en un proceso llamado pegilación que consiste en la unión de un polietilenglicol a una molécula de interferón. Este tipo de fármacos son muy estables y reducen la velocidad de absorción y eliminación del cuerpo. El interferón alfa tras su administración intramuscular o subcutánea se absorbe, distribuye y elimina rápidamente, lo que provoca bruscas oscilaciones en las concentraciones del tratamiento. Esto puede resultar en momentos de eficacia reducida donde se permita la replicación viral. Gracias a que la pegilación retrasa la eliminación de los fármacos desde el organismo, se pudo aumentar el intervalo de administración del interferón (Aranza, 2002). Esta combinación tenía un éxito medio de SVR del 54-67%. En los genotipos 2 y 3 aumentaba hasta el 80% mientras que en el genotipo 1 la cifra era mucho menor.

Durante la administración de terapias con IFN, el RNA viral disminuye de forma bifásica. En la primera fase (durante los primeros días de tratamiento) se distingue una disminución de RNA no completa y sin causar muerte celular. La segunda fase es más paulatina ya que está relacionada con la eliminación de células por linfocitos citotóxicos. La respuesta adaptativa ha sido parcialmente restaurada y activada gracias a la acción inmunomoduladora del IFN en la primera fase. La disminución de la carga viral es directamente proporcional a la dosis del IFN administrada e inversamente proporcional a la tasa estimada de muerte celular. El resultado de la segunda fase depende estrechamente del desarrollo de la primera (Castro, 2021).

No obstante, al ser tratamientos inespecíficos, sus mecanismos de acción no se reducen a los hepatocitos infectados, sino que conllevan a la larga efectos secundarios graves que en algunos casos pueden impedir la continuación del tratamiento. Un ejemplo claro es la acción que ejerce la ribavirina sobre la síntesis de DNA y RNA de la célula hospedadora, ya que por ser inespecífica realiza una mutagénesis del RNA vírico y del RNA mensajero que la célula transcribe para realizar su propio metabolismo (Fernández, 2019). La administración del IFN y RBV implica un proceso largo de inyecciones con efectos secundarios graves, parecidos a los de la gripe junto con depresión. Alrededor del 15% de los pacientes se muestran incapaces de completar el tratamiento (Crawford & Otero- Piñeiro, 2020). Debido a esta falta de especialidad, la baja tasa de curación y los efectos secundarios de estas drogas, se comenzó la búsqueda de tratamientos específicos: los antivirales de acción directa.

5.2. Tratamientos específicos: Antivirales de acción directa

Como se ha descrito en el apartado anterior, la falta de especificidad, la baja tasa de curación y los graves efectos secundarios propulsaron la búsqueda de antivirales. Un antiviral es un medicamento específico para tratar infecciones víricas. Mientras que el interferón provoca un estado generalizado de alerta, y la ribavirina provoca una guanilación sin discernir entre RNA vírico o celular, los antivirales están destinados a inhibir receptores específicos de entrada, genes determinados o proteínas vitales para el ensamblaje del virus, lo cual disminuye considerablemente los efectos secundarios para el paciente.

Gracias a los avances en el estudio de HCV, se han podido identificar determinadas dianas a las que atacar a nivel de entrada y replicación viral. Las investigaciones científicas se han centrado en la proteasa NS3/4A, en la polimerasa NS5B y en el complejo NS5A.

Los antivirales pueden ser clasificados de acuerdo a sus objetivos proteicos y según estos reciben los siguientes sufijos:

- Inhibidores de la proteasa: “previr”.
- Inhibidores de la polimerasa: “buvir”.
- Inhibidores de la proteína NS5A: “asvir” (ASSCAT, 2018).

Desarrollo histórico de antivirales específicos

En 2011 se aprobó la combinación del peg-IFN- α y RBV con un antiviral de acción directa (DAA) inhibidor de la proteasa NS3/NS4A, telaprevir o boceprevir para tratar el genotipo 1. La respuesta virológica sostenida aumentó hasta el 70%, pero a costa de efectos secundarios más graves que no eran tolerables. Más tarde, en 2013 se aprobó el sofosbuvir (SOF), el primer DAA frente a la polimerasa viral NS5B. Este compuesto es un análogo de nucleótido que aumentó la SVR hasta un 90% en las terapias en combinación de peg-IFN- α y RBV. En el mismo año se aprobó también el simeprevir, un inhibidor de la síntesis de la proteasa NS3/NS4A.

Los antivirales más potentes son aquellos que afectan a la NS5A como el daclatasvir/BMS-790052 y el ledipasvir/GS-5885. Sin embargo, no empezaron a prescribirse terapias libres de IFN hasta 2014 cuando se aprobó la combinación de sofosbuvir y ledipasvir para pacientes con genotipo 1. Esta combinación conseguía aumentar la tasa de SVR a 95%. Otra terapia aprobada es la combinación de sofosbuvir con daclatasvir que tiene una tasa efectiva en clínica del 99% (Castro, 2021).

La importancia en la combinación de antivirales radica en que un único DAA no es capaz de evitar la reproducción del HCV. La baja fiabilidad de la polimerasa y la rápida tasa de replicación viral crea variantes resistentes al tratamiento aplicado (RAVs). Esto provoca que a los pocos días de tratamiento las variantes se extiendan ampliamente, hasta el punto de llegar a convertirse en la variante predominante. Si esto ocurre, lo cual es favorecido por la presión ejercida por el antiviral, el tratamiento

fracasará y no se alcanzará la respuesta virológica sostenida. Esto es un problema que amenaza a la mayoría de los antivirales (Preciado et al., 2014). Es por ello que, como mínimo, un tratamiento debe constar de dos fármacos de diferente familia de inhibidores (Castro, 2021). En la figura 11 se muestra un eje cronológico que comprende los hitos más importantes en el estudio del HCV y sus tratamientos desde 1975 hasta 2017.

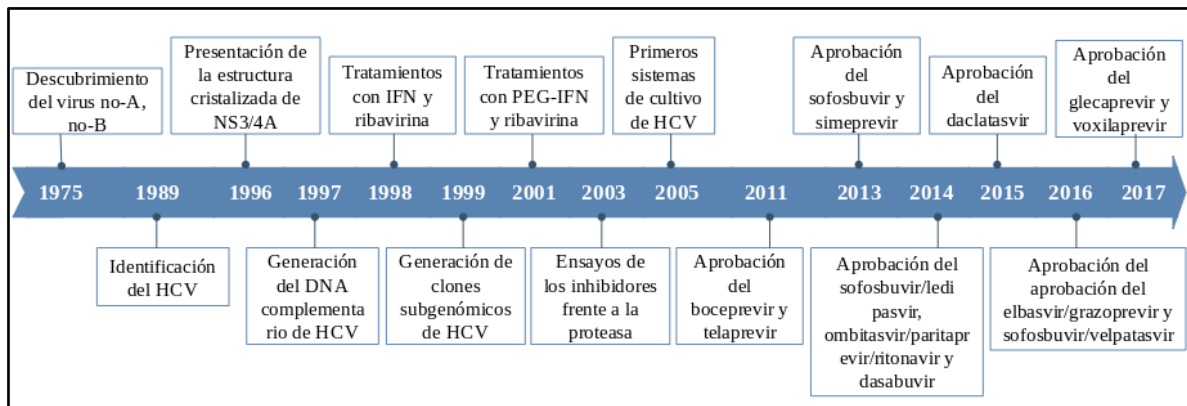


Figura 11: Eje cronológico sobre los hitos más importantes en el estudio del HCV y sus tratamientos. Adaptado de (Dash et al., 2020).

Clasificación de antivirales según sus dianas

La identificación del genotipo es fundamental para escoger un tratamiento, no obstante, actualmente los tratamientos más utilizados son aquellos eficaces frente a todos los genotipos, también llamados pangénóticos. Aún así, es el hepatólogo el que decidirá el tratamiento teniendo en cuenta el genotipo y características personales del paciente. Por sus papeles fundamentales en el desarrollo del HCV en los hepatocitos, la proteasa NS3/4A, la polimerasa NS5B y la proteína NS5A son las principales dianas para la investigación de antivirales.

5.2.1 Inhibidores de la proteasa NS3/4A

La proteasa NS3 ha sido analizada en numerosos proyectos debido al papel fundamental que desempeña en el procesamiento de la poliproteína viral, y por ser codificada por uno de los genes con menor variabilidad dentro del genoma. Sin embargo, el sitio activo de esta enzima presenta una peculiar estructura que dificulta el desarrollo de inhibidores (Goudreau & Llinàs-Brunet, 2005). De entre las dos principales funciones que desempeña NS3, se han desarrollado muchos más antivirales para la inhibición de la proteasa. La estructura de la helicasa también ha sido estudiada, pero puesto que su actividad NTPasa es común a otras proteínas celulares, los tratamientos producen una alta toxicidad (Sanz, 2016).

Los inhibidores de la proteasa pueden ser divididos en tres grupos desde un punto de vista químico. Se encuentran los de primera clase, peptidomiméticos lineales que se adhieren mediante enlaces covalentes a la enzima bloqueándola. En segunda clase, se encuentran los peptidomiméticos lineales no covalentes. Y en tercera clase, los peptidomiméticos cíclicos no covalentes.

En 2011, los antivirales de primera clase telaprevir y boceprevir fueron aprobados por la FDA como tratamientos para el genotipo 1. Aunque telaprevir tenga efecto sobre el genotipo 2 y boceprevir sobre el genotipo 3, su uso no fue autorizado para el tratamiento de estos.

Los antivirales de segunda y tercera clase que no establecen enlaces covalentes con sus dianas presentan numerosas ventajas respecto a los de primera clase. Algunos de segunda clase son: faldaprevir, asunaprevir, y sovaprevir, y de tercera clase: simeprevir, danoprevir y vaniprevir. Estos antivirales tienen un espectro más amplio de acción aunque no llegan a ser pangénóticos. Por ejemplo, el simeprevir

alcanza altos resultados sobre los genotipos 2, 4, 5, y 6 mientras que no se ha observado ningún efecto en el 3 (Preciado et al., 2014).

De entre todos los inhibidores de la proteasa NS3 destacan boceprevir, telaprevir y simeprevir. El boceprevir fue el primer inhibidor de la proteasa NS3 aprobado por la Agencia Europea del Medicamento, su nombre comercial es Victrelis® y fue desarrollado por la empresa Schering-Plough. Se administraba en forma de triple terapia junto con peg-IFN y ribavirina hasta que fue descatalogado en 2015 por efectos secundarios graves. Su funcionamiento consistía en unirse a la proteasa para inhibir su función. El boceprevir utilizado como monoterapia proporcionaba una rápida disminución de los niveles de RNA vírico en sangre. Sin embargo, debido a la rápida manifestación de genes de resistencia, era recomendable su administración combinada con peg-IFN y ribavirina. Estas terapias triples aumentaron la respuesta virológica sostenida del 40-50% al 65-70%.

El telaprevir es otro de los primeros inhibidores de la proteasa, pero al igual que el boceprevir, solo era eficaz contra el genotipo 1 y fue retirado en 2015 debido a numerosos efectos secundarios como severas reacciones cutáneas. Se comercializaba bajo el nombre de Incivek e Incivo y ha sido desarrollado por Vertex y Johnson & Johnson (Cervera, 2012). El Simeprevir fue el tercer inhibidor comercializado frente a la proteasa. Fue aprobado en 2013 en EE.UU pero en 2018 sería retirado voluntariamente por el desarrollo de otros antivirales más eficientes, además de su vinculación con efectos secundarios ocasionales como descompensación hepática en pacientes con cirrosis preexistente. Actúa uniéndose al sitio activo de la proteasa. Se administraba junto con peg-IFN y ribavirina, y era efectivo frente a infecciones de los genotipos 1 y 4. Se comercializaba con el nombre de Olysio® y su dosis recomendada eran cápsulas diarias de 150 mg durante 12 semanas (NIDDK, 2012).

5.2.2 Inhibidores de la polimerasa NS5B

Debido a su vital importancia en el proceso de replicación, la polimerasa NS5B es la diana de numerosos antivirales. Los inhibidores pueden diferenciarse en dos tipos: los análogos de nucleósido, y los no-análogos de nucleósido.

Los antivirales son administrados como profármacos, es decir como nucleósidos, una vez que entran en los hepatocitos y son activados mediante fosforilaciones, atacan al sitio activo de la polimerasa compitiendo contra el sustrato natural. Es entonces cuando los antivirales que ahora constituyen moléculas análogas a los nucleósidos trifosfato celulares son incorporadas a la cadena nascente de RNA por la polimerasa, lo que detiene la síntesis de la cadena y por tanto la formación de nuevos viriones. Debido a ello los análogos de nucleósido son comúnmente conocidos como “inhibidores de terminación de cadena”. Generalmente, los análogos de nucleósido inhibidores de la polimerasa, funcionan contra una gran variedad de genotipos, y gracias a que el sitio activo de la polimerasa se mantiene altamente conservado por ser muy susceptible al cambio de aminoácidos, presenta poca resistencia vírica. Los análogos de nucleósidos poseen un grupo hidroxilo en el carbono 3' de la ribosa que permite la continuación de la formación de la cadena de RNA, pero para provocar su interrupción se utilizan sustituyentes específicos, como es el caso de un grupo metilo en el carbono 2' que genera un impedimento estérico (Eltahla et al., 2015; Preciado et al., 2014).

Por otro lado, los análogos no nucleósidos son una clase más diversa de inhibidores que no compiten contra otras moléculas como en el caso de los análogos de nucleósido. Se organizan en tres categorías según su sitio de unión: inhibidores del sitio activo, inhibidores del sitio alostérico e inhibidores de sitios misceláneos. Los sitios inhibidores misceláneos no tienen un sitio de unión específico. En concreto, la NS5B presenta 5 sitios de unión alostéricos (Eltahla et al., 2015). Una limitación de estos inhibidores es que los sitios de unión están menos conservados que el sitio activo. Aún así, los antivirales de primera generación como Dasabuvir, que se une a un sitio alostérico, mostraron una baja tasa de resistencia a mutaciones. (Preciado et al., 2014). Estas mutaciones se encontraron tanto *in vitro* como *in vivo*. Sin embargo, cabe señalar que *in vivo* solo se encontraron en

pacientes infectados por distintos genotipos e incluso antes de haber sido tratados (Eltahla et al., 2015).

Existen numerosos antivirales inhibidores de la polimerasa aprobados o en fase experimental, de entre los cuales destacan el sofosbuvir (SOF), el velpatasvir y el ledipasvir.

El sofosbuvir es el antiviral diseñado para ser utilizado contra la polimerasa viral de uso más extendido. Es un análogo de nucleótido que presenta una potente acción inhibitoria frente a la polimerasa. Fue aprobado por la FDA en 2013, y se administra oralmente como profármaco. Sofosbuvir es un derivado del nucleótido de uracilo que contiene un único grupo fosfato, el cual está protegido por un grupo alaninato que facilita la absorción de la molécula por los hepatocitos. Tras ser absorbido es hidrolizado y después activado al añadirse otros dos grupos fosfatos por quinasas intracelulares. Una vez convertido en trifosfato, el sofosbuvir compite con otros nucleótidos de uracilo para ser incorporado por la polimerasa y terminar la cadena de RNA naciente (Jockusch et al., 2020). En la figura 12 se presentan las estructuras moleculares de un nucleótido monofosfato de uracilo, del sofosbuvir monofosfato, y del sofosbuvir en su forma activa (trifosfato).

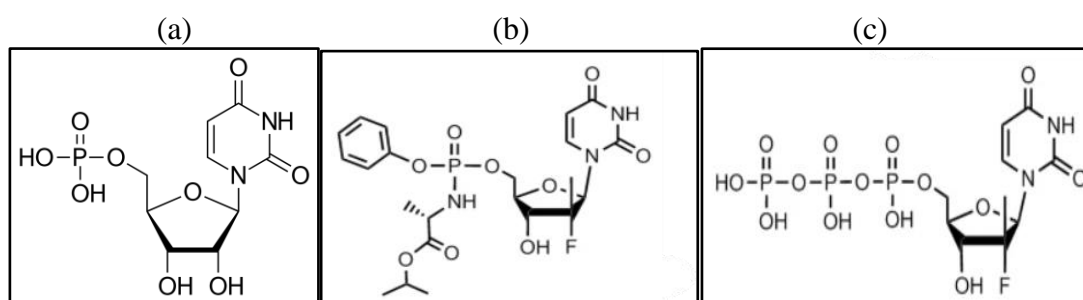


Figura 12. Estructura molecular del nucleótido monofosfato con uracilo (a). Estructura molecular de sofosbuvir monofosfato (b). Estructura molecular del sofosbuvir en su forma activa (trifosfato) (c). (Jockusch et al., 2020).

En un principio, el sofosbuvir fue aprobado para ser usado en combinación con ribavirina y con peg-IFN más ribavirina para atacar a los genotipos 1, 2, 3 o 4. Actualmente es vendido en pastillas de 400 mg bajo la marca Sovaldi®. La dosis recomendada es de 400 mg diarios con ribavirina (1000-1200 mg diarios durante 12 semanas si se trata del genotipo 2 y 24 semanas si se trata de genotipo 3), o en combinación con peg-IFN y ribavirina durante 12 semanas para pacientes con genotipo 1. El Sofosbuvir revolucionó la terapia frente a la hepatitis C crónica, y se transformó en uno de los tratamientos más comunes desplazando al peg-IFN- α y a la ribavirina. Gracias a su alta especificidad tiene pocos efectos secundarios como dolores de cabeza, mareos, náuseas y diarrea (NIDDK, 2012).

5.2.3. Inhibidores de NS5A

Los inhibidores de NS5A tienen varias características que los convierten en eficientes antivirales. Gracias a la multifuncionalidad de la proteína, su inhibición resulta en una paralización de numerosas funciones importantes para el desarrollo del virus, por lo que dichos antivirales tienen una gran actividad antiviral y larga duración. Por otro lado, al contrario que los inhibidores de la proteasa NS3/4A y los inhibidores NS5B no nucleósidos, los inhibidores de NS5A tienen un amplio espectro de acción gracias a la conservación de la estructura de su sitio de unión en todos los genotipos (Janardhan & Reau, 2015). Los inhibidores más importantes desarrollados han sido daclatasvir (DCV), ledipasvir y velpatasvir.

Daclatasvir es un antiviral de acción directa que en combinación con otros antivirales tuvo efectos a gran escala en el ciclo de replicación de HCV, hasta que fue retirado en 2019. Consigue inhibir la acción de NS5A al unirse a ella e interferir en su fosforilación. Como se ha mencionado anteriormente, NS5A existe en estado defosforilado e hiperfosforilado. Cuando la proteína se encuentra en estado defosforilado parece intervenir en el complejo de replicación, y cuando se encuentra hiperfosforilada en

el ensamblaje de viriones. El daclatasvir se une específicamente al extremo N-terminal de NS5A lo que provoca una inhibición en la fosforilación de la proteína, pasando de estado hiperfosforilado a estado defosforilado, lo que finalmente desemboca en una disrupción en el ensamblaje de las partículas virales, y en complicaciones a la hora de formar el complejo de replicación (Lee, 2013). En la figura 13 se muestra la estructura molecular del daclatasvir, y en la figura 14 se muestra su mecanismo de acción.

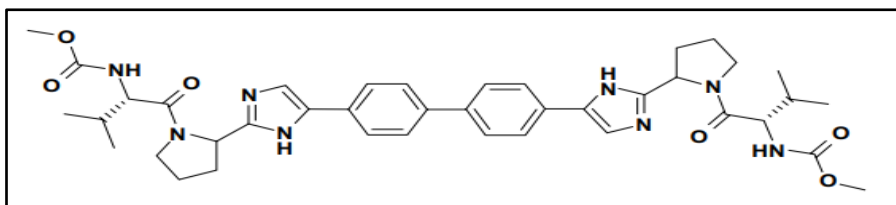


Figura 13: Estructura molecular daclatasvir. (Lee, 2013).

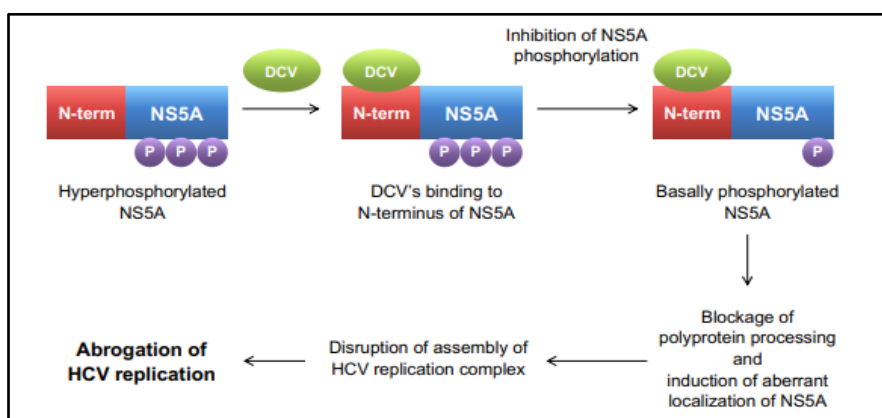


Figura 14: Mecanismo de acción del daclatasvir. DCV se une específicamente al extremo N-terminal de NS5A inhibiendo su fosforilación. (Lee, 2013).

Finalmente, en la tabla 1 se resumen los antivirales de acción directa desarrollados (aprobados y no aprobados) para tratar la infección por hepatitis C.

| Proteasa NS3/4A | | | Polimerasa NS5B | | Proteína NS5A |
|--------------------------|---------------------------------------|--|--|--|--|
| Primera clase | Segunda clase | Tercera clase | Análogo de nucleósido | No análogo de nucleósidos | |
| Boceprevir Telaprevir | Asunaprevir Faldaprevir GS-9451 | Simeprevir Vaniprevir Danoprevir Ciluprevir/ GS9256 Sovaprevir/ACH1625 ACH/2684 ABT-450 MK-5172 | Sofosbuvir ine Valopicitabine R7128 R1626 VX-135 | Deleobuvir GS-9669 Setrobuvir Lomibuvir/VX-22 Tegobuvir Dasabuvir Beclabuvir ABT-333 ABT-072 BMS-791325 BI 207127 | Daclatasvir asvir Ombitasvir Elbasvir Velpatasvir ABT-267 PPI-668 MK-8742 ACH-3102 |

1: antivirales de acción directa desarrollados (aprobados y no aprobados) para el tratamiento de HCV. (Preciado et al., 2014; Resino, 2017; Wilkins et al., 2015).

Cada uno de estos antivirales se administra de forma conjunta con otros antivirales, con peg-IFN o ribavirina para prevenir la aparición de variantes resistentes. Algunas de las combinaciones presentes en el mercado son las siguientes:

- *Harvoni*[®]: *sofosbuvir/ledipasvir*. Con este fármaco se puede tratar el genotipo 1 y el 4. Las personas con genotipo 1a y 1b que no presenten cirrosis pueden recibirlo durante 8-12 semanas, y si presentan cirrosis durante 12-24 semanas o 12 semanas con ribavirina. Es un medicamento de la empresa Gilead.

- *Zepatier*[®]: *elbasvir/grazoprevir*. El elbasvir es un inhibidor de la NS5A, mientras que el grazoprevir inhibe la proteasa NS3/4A. Este fármaco se toma con o sin ribavirina para el tratamiento de los genotipos 1 y 4. Se deberá administrar durante 12 semanas si se trata del genotipo 1b, y durante 12-16 para los genotipos 1a y 4 además de RBV. Es un medicamento de la empresa MSD.

- *Epclusa*[®]: *sofosbuvir/velpatasvir*. La duración de este tratamiento es de 12 semanas y es pangenotípico. Se trata de un medicamento de la empresa Gilead.

- *Maviret*[®]: *glecaprevir/pibrentasvir*. Se trata de una pastilla que combina la acción inhibidora de la proteasa NS3/4A por parte del glecaprevir, y la acción inhibidora de NS5A por el pibrentasvir. Se toma una vez al día, no necesita ribavirina y se administra durante 8-12 semanas. Es eficaz para pacientes no respondedores a otros antivirales. La SVR es del 98-100% para pacientes con genotipo 1 y 93-94% para el genotipo 3. Es un medicamento de la empresa Abbvie.

- *Vosevi*[®]: *sofosbuvir/velpatasvir/voxilaprevir*. Este antiviral une tres principios activos en una pastilla diaria durante 12 semanas. No necesita ribavirina y es pangenotípico. Los estudios muestran una SVR entre 98-100%. Es un medicamento de la empresa Gilead (ASSCAT, 2018).

6. EFECTOS DE LOS TRATAMIENTOS ESPECÍFICOS E INESPECÍFICOS

Los resultados de numerosos estudios clínicos en los que se trataba la cirrosis hepática con antivirales de acción directa han abierto un debate sobre su relación con la aparición o regresión de hepatocarcinoma. Muchos estudios defienden el uso de DAAs ya que en comparación con los tratamientos inespecíficos muestran una reducción en la inflamación del hígado, una desaparición de la fibrosis, además de una disminución en el número de trasplantes realizados y complicaciones extrahepáticas (Dash et al., 2020). Además, el empleo de DAAs ha permitido investigar el comportamiento del sistema inmune durante y al final del tratamiento. Hasta su implementación, estos resultados no eran fiables debido a la acción inmunomoduladora del IFN (Madejón, García-Samaniego, 2019). Sin embargo, otros estudios llevados a cabo por equipos de investigación en Europa, Asia y EE.UU, indican que el tratamiento con DAAs cura la cirrosis pero no elimina el riesgo de desarrollar HCC y por tanto se debería estudiar con mayor profundidad su empleo (Dash et al., 2020).

6.1. Hepatocarcinoma y su relación con HCV

El hepatocarcinoma (HCC) es un tipo de cáncer primario que surge en los hepatocitos. Actualmente, es el tercer cáncer con mayor tasa de mortalidad y el sexto más común, además es tres veces más propenso a desarrollarse en hombres que en mujeres. A nivel mundial, 905.677 personas fueron diagnosticadas y 830.180 fallecieron a causa de la enfermedad en 2020. En EE.UU, las muertes debidas a HCC y colangiocarcinoma (cáncer formado en los tubos biliares) están aumentando más rápidamente que las causadas por otros cánceres. El mayor factor de riesgo para el desarrollo de HCC es la infección del virus de la hepatitis C, aunque otros factores como el abuso de alcohol, obesidad, diabetes II o NAFLD (Non-alcoholic fatty liver disease) también puede propiciarlos. Como ya se mencionó, en la actualidad hay 71 millones de personas infectadas por HCV, de las cuales el 20-30% desarrollarán cirrosis, y entre 1-4% de pacientes cirróticos desarrollarán HCC cada año. En la mayoría de los casos, HCC se presenta en presencia de cirrosis, pero existe un 15% de pacientes no cirróticos en los que se desarrolla. Esto significa que HCV puede provocar directamente el desarrollo de HCC.

Durante la infección, el virus de la hepatitis C puede desencadenar un hepatocarcinoma

por dos vías distintas: mecanismos oncogénicos directos e indirectos (Dash et al., 2020).

6.1.1 Mecanismos oncogénicos directos

Los hepatocitos son células especializadas con un retículo endoplasmático (ER) muy desarrollado que forma una compleja red membranosa. El correcto funcionamiento del retículo endoplasmático es fundamental para un correcto funcionamiento del hepatocito. El ER se encarga de transportar proteínas y lípidos a las mitocondrias, al aparato de Golgi, a la membrana celular y a los lisosomas. Situaciones de estrés para el retículo pueden activar mecanismos de inflamación y de daño celular relacionados con la cirrosis y el HCC. Estas situaciones de estrés pueden ser provocadas a través de numerosos procesos:

- La continua síntesis y ensamblaje de proteínas víricas provoca un aumento en el gasto energético y con el tiempo una grave disminución en los niveles de ATP, aminoácidos y monosacáridos. Cuando esto sucede la autofagia es activada.
- Un bajo nivel de oxígeno como resultado de la replicación crea un estrés oxidativo que genera especies reactivas de oxígeno (ROS, reactive oxygen species).
- La estrecha asociación de HCV con partículas lipídicas provoca una acumulación de ácidos grasos y el desarrollo de esteatosis en el 50% de los infectados.
- La continua replicación vírica también causa un aumento en las respuestas de daño de DNA celular y un incremento en la frecuencia de reparación del DNA, originando una inestabilidad genómica.

El resultado de un estrés constante en los hepatocitos es el daño irreversible celular y la muerte celular activada por procesos apoptóticos, necróticos o autofágicos. Sin embargo, con el objetivo de evitar la muerte celular, para así aprovecharse durante más tiempo de su maquinaria, el HCV desencadena toda una serie de mecanismos que alargan la vida del hepatocito, algunos de estos son la alteración de supresores tumorales como la proteína p53, el incremento de los niveles de telomerasas, o la inducción de la angiogénesis para aumentar el abastecimiento de oxígeno y nutrientes.

6.1.2 Mecanismos oncogénicos indirectos

El hígado cuenta con una característica muy importante y es que es el órgano con mayor privilegio inmune en el cuerpo humano. Esto significa que a pesar de filtrar la mayor parte de los microorganismos patógenos que recibe por la arteria hepática, y estar expuesto a la microbiota intestinal, a metabolitos tóxicos y a alérgenos por la vena porta hepática, es capaz de soportar la presencia de sus antígenos sin desencadenar una respuesta inmune inflamatoria. El hígado está formado en su mayoría por hepatocitos primarios (80%) y el resto de células no parenquimáticas son células de Kupffer, células estrelladas, o células endoteliales sinusoides que son fundamentales para la vigilancia inmunológica innata. El hígado también contiene otras células que llevan a cabo las respuestas innatas o adaptativas como linfocitos T, linfocitos B, células NK (*natural killer*), células NKT (*natural killer T cells*) y células MAIT (*Mucosal Associated Invariant T cells*). Además, los mismos hepatocitos al reconocer las Pathogen-Associated Patterns o PAMPs del HCV pueden iniciar la respuesta inmune sintetizando interferón.

La entrada del virus genera una gran respuesta inmunológica innata que deriva en una respuesta inflamatoria severa y peligrosa. Se ha descrito que los pacientes con hepatitis C crónica tienen niveles elevados de interleuquina 1- β (Dash et al., 2020), lo que contribuye al desarrollo o progresión de numerosas enfermedades con la aparición de fiebre, dolor articular o urticaria. Un estado continuo de inflamación conlleva la muerte y daño celular, además de alterar el DNA. A su vez, un estado inflamatorio prolongado provoca una adaptación patológica que al promover la regeneración de los tejidos hepáticos causa fibrosis y posteriormente cirrosis. El papel de la inflamación es clave para el desarrollo del hepatocarcinoma. A pesar de multitud de vías por las cuales esta inflamación es claramente

oncogénica, todavía hay dudas sobre si esta inflamación actúa al mismo tiempo como supresora de tumores previniendo la aparición de HCC. Un estudio realizado mostró que existía una mayor concentración de linfocitos T y B en hígados cirróticos con hepatocarcinoma que sin él. En este caso, la presencia de linfocitos T CD8+ en el tejido cirrótico favorecería el desarrollo del tumor, lo que confirmaría el papel procarcinogénico de la inflamación. Por otro lado, la continua acumulación y reclutamiento de células inmunológicas en el hígado es fruto de la incapacidad del sistema inmune para hacer frente al virus (Dash et al., 2020), por lo que la inflamación podría ayudar a inhibir el desarrollo de hepatocarcinoma (Coussens & Werb, 2002). Asimismo, la notable elevada población de linfocitos reguladores en pacientes cirróticos y con hepatocarcinoma demuestra una estrecha relación con el carcinoma hepático.

Hay que destacar que, la presencia de otras enfermedades junto con la infección de hepatitis C aumenta el riesgo de HCC. Por ejemplo, pacientes con diabetes y hepatitis tienen entre el doble y el triple de probabilidades de desarrollar un cáncer. Otros factores como abuso de alcohol, una dieta desequilibrada, envejecimiento o NAFLD aumentan también el riesgo de aparición de hepatocarcinoma (Dash et al., 2020).

6.2 Relación entre hepatocarcinoma y tratamientos para el virus de la hepatitis C

Existen datos contradictorios sobre los efectos de los antivirales de acción directa en la aparición o progresión del hepatocarcinoma. Algunos estudios afirman que tras la curación de la hepatitis C, estos antivirales no reducen el riesgo de desarrollar hepatocarcinoma. Estos estudios demostraron que la incidencia anual de aparición de HCC tras un tratamiento con DAA es de 3-5%, mucho más alta que la incidencia en terapias con IFN. Por el contrario, otras investigaciones defienden que los antivirales reducen el riesgo de desarrollar el carcinoma hepático pero no lo eliminan (Dash et al., 2020). De hecho, un meta-análisis utilizó 16 estudios de tratamientos de 1043 pacientes con IFN y 33 estudios de tratamientos de 4876 pacientes con DAA y concluyó que las incidencias de recurrencia de HCC no diferían demasiado entre los dos, encontrándose 16,7%/año en DAA y un 14,3%/año en IFN (Rutledge et al., 2019). En otro estudio llevado a cabo por Ioannou y sus colaboradores, se compararon las tasas de curación de la infección y de aparición de hepatocarcinoma en pacientes tratados solo con interferón, solo con antivirales y una combinación de antivirales e interferón. El estudio concluyó que la erradicación de HCV fue mayor en pacientes tratados con DAAs sin interferón, y que en todos los casos se reducía el riesgo de HCC de forma similar, en el caso de los antivirales libre de IFN un 71% (Ioannou et al., 2017). En vista de estas evidencias y discrepancias, numerosos equipos de investigación comenzaron a estudiar los efectos que los antivirales de acción directa producen sobre las células.

Los DAAs realizan una rápida erradicación del virus. Esto hace que haya células que dejen de expresar rápidamente el antígeno viral, se vuelvan antígeno negativas, y eviten ser detectadas y eliminadas por el sistema inmune que se encuentra en vías de recuperación. Por tanto, podría ocurrir que estas células virológicamente curadas, al encontrarse irreversiblemente modificadas por el estrés y los fuertes cambios del ciclo replicativo del virus, sean más propensas a desarrollar enfermedades como el HCC (Castro, 2021). Otra hipótesis aportada es que tras la eliminación del virus se produzca un periodo de inmunosupresión que favorezca el desarrollo y proliferación de estas células procancerígenas (Brozzetti et al., 2021). Aunque se haya asociado la eliminación del HCV con una restauración del sistema inmune, ya que se ha confirmado la recuperación de la diversidad de las células NK en las fases tardías del sofosbuvir y del ledipasvir, también se han señalado situaciones en las que las alteraciones del sistema inmune persisten, incluso tras la respuesta virológica sostenida (Madejón y García-Samaniego, 2019). De hecho, hay evidencias de un incremento en las recurrencias de virus de herpes y hepatitis B después de la curación con antivirales, que son explicables por esta inmunosupresión (Brozzetti et al., 2021). El debilitamiento en la vigilancia del sistema inmune sería menos probable en pacientes tratados con interferón gracias a sus efectos inmunomodulador y antiproliferativo (Cidoncha et al., 2019). De hecho, hay estudios bibliográficos que sugieren un bajo pero existente efecto preventivo de HCC en las terapias con interferón (Cammà et al., 2001). Un estudio llevado a cabo por Zhuang ha

encontrado evidencias de que las terapias con interferón reducen las tasas de recurrencia de HCC en el segundo, tercer, cuarto y quinto año tras la curación de la hepatitis C (Zhuang et al., 2013).

Otro de los aspectos estudiados ha sido el efecto de los antivirales de acción directa sobre los micro-RNAs (miRs). Diversos estudios han señalado que los antivirales causan irregularidades en las concentraciones de micro-RNAs supresores de tumores, lo cual podría favorecer la aparición de un carcinoma hepático. Los micro-RNAs son pequeñas moléculas de RNA no codificante de diecinueve a veinticinco nucleótidos que regulan negativamente la expresión génica, bien por la inhibición de la traducción, bien por la desestabilización de los RNA mensajeros. Los miRs cumplen una función muy importante en la regulación tumoral. El miR-122 constituye el 70% de todos los miR hepáticos, siendo por tanto el más abundante. Hay numerosos estudios que indican que la sobreexpresión de miR-122 inhibe el crecimiento tumoral y su presencia es prácticamente nula en los casos de hepatocarcinoma (De los Santos, 2019). Santangelo et al analizó el impacto de los DAAs sobre los exosomas en muestras de plasma de pacientes con hepatitis C crónica y mostró que, aunque en un principio los exosomas derivados de células infectadas tuvieran altas concentraciones de diversos tipos de miRs (miR-122 incluido), los niveles de miRs disminuían significativamente después de un tratamiento con antivirales de acción directa (Santangelo et al., 2018). Cabe señalar que el interferón también provoca una alteración en los niveles de micro-RNAs. Se ha descubierto que la señalización intracelular del interferón no solo aumenta con el silenciamiento de miR-122, sino que además es capaz de suprimir la expresión de los micro-RNAs (Yoshikawa et al., 2012).

La eliminación súbita y potente del virus en pacientes tratados con DAAs provoca una disminución drástica en la cantidad de partículas virales que se ha mantenido durante años. Todavía se desconoce si la erradicación completa de los virus basta para volver a los niveles de expresión génica celular previos a la infección, o si algunas modificaciones en el metabolismo celular ocasionadas por la infección pueden permanecer incluso después de la eliminación del virus (Madejón y García-Samaniego, 2019).

La relación entre los antivirales y el hepatocarcinoma todavía sigue debatiéndose. No obstante, se ha concluido que los pacientes con respuesta virológica sostenida tienen un 75% menos de probabilidad de desarrollar HCC que los no respondedores. Sin embargo, las tasas de desarrollo anual de hepatocarcinoma expuestas al principio de este apartado, y estudios como el llevado a cabo a 280 personas tratadas con DAAs (con una tasa de SVR del 95%) en que el 3,2% (9 personas) desarrollaron hepatocarcinoma, hacen que no se pueda afirmar que los pacientes con SVR estén protegidos de desarrollar HCC (Madejón y García-Samaniego, 2019). Estos hallazgos hacen que sea recomendable un seguimiento de los pacientes curados con DAAs con el objetivo de detectar lo más tempranamente posible un futuro carcinoma hepático (Dash et al., 2020). Igualmente, no hay que olvidar que la implementación de los DAAs comenzó hace apenas 10 años y por tanto el seguimiento de los pacientes tratados es corto. Todavía no se puede realizar una valoración completa sobre los riesgos y beneficios de los antivirales de acción directa (Hernández-Alsina et al., 2019).

6.3 Situación española

Antes del descubrimiento del virus de la hepatitis C llevado a cabo por Harvey J. Alter, Michael Houghton y Charles M. Rice en 1989, la hepatitis C no tenía un nombre propio, conociéndose hasta entonces como hepatitis no A no B. Los pacientes enfermaban por hepatitis, pero sin conocer el patógeno o las vías de contagio, el desarrollo de un tratamiento era imposible. Tras el descubrimiento, se evidenciaron las transfusiones de sangre como principales vías de transmisión. Pero ya era tarde, estudios prospectivos realizados en los años 80 indicaron una mayor tasa de contagio en personas que habían recibido donaciones de sangre. El mayor brote hospitalario fue provocado por el anestesista Juan Maeso que contagió en Valencia a 275 pacientes. Antes de administrar la anestesia a sus pacientes, Maeso se inyectaba parte de esta sin limpiar o cambiar de jeringa. En aquella época los brotes hospitalarios eran frecuentes. De hecho, actualmente las personas de 50 a 60 años tienen una mayor incidencia

derivada de estos brotes. En aquella época sin vacuna ni cura efectiva las primeras medidas fueron de prevención. Gracias a los análisis en los bancos de sangre se redujo por completo el riesgo de contagio por transfusiones.

Los primeros tratamientos consistieron en terapias con interferón y ribavirina, los cuales al ser inespecíficos causaban numerosos efectos secundarios. Es por ello que tanto pacientes como médicos esperaban la llegada del Sovaldi (sofosbuvir). En 2015 la empresa Gilead lanzó al mercado este antiviral de acción directa. Sin embargo, al principio los costes por tratamiento eran muy elevados (50.000 euros) y no se pudo tratar a los 200.000 infectados que había entonces. Los médicos tuvieron que elegir a quién suministraban el tratamiento. Fue entonces cuando el Ministerio de Sanidad desarrolló un plan estratégico enfocado a negociar los precios con las farmacéuticas y a priorizar a los pacientes más graves con cirrosis o con descompensaciones. La incertidumbre y la indignación originaron manifestaciones a las puertas del Ministerio de Sanidad y de la sede Gilead en Madrid.

Con el surgimiento de nuevos tratamientos la incidencia disminuyó rápidamente. En el pasado los registros oficiales no distinguían entre hepatitis C y B por lo que no existe un seguimiento histórico de datos. Las estadísticas más fiables son las de nuevos tratamientos administrados. Según estos datos, entre 2015 y 2018 más de 110.000 infectados fueron curados. La sanidad pública ha invertido más de 2.000 millones de euros en los últimos siete años. Además, los precios se han rebajado considerablemente, el precio medio por tratamiento es de 7000 euros.

En 2018 el Ministerio de Sanidad llevó a cabo una encuesta en la que estima que en España hay aproximadamente 76.000 personas infectadas de las cuales 20.000 no han sido identificadas. Aunque según el responsable de la Unidad de vigilancia de HIV y Hepatitis B y C del Centro Nacional de Epidemiología, es bastante probable que estas cifras hayan disminuido gracias a los tratamientos.

El primer paso es localizar a aquellos infectados diagnosticados que no han recibido tratamiento o que este haya sido interrumpido por diversas causas, esto se hará a través de un seguimiento de sus historias clínicas. El segundo paso es identificar a esas 20.000 personas, mediante búsquedas en los grupos de población con más casos asintomáticos o colectivos con mayor riesgo mediante colaboraciones con los servicios sociales. Gregorio Barrio, profesor de Investigación de la Escuela Nacional de Sanidad, afirma que es importante reducir la circulación del virus por la posibilidad que se desarrollen cepas resistentes a los fármacos actuales (Güell, 2022).

El último estudio de vigilancia epidemiológica realizado por ISCIII fue publicado en 2020 con datos recogidos desde el 31 de diciembre de 2018 hasta el 29 de diciembre de 2019. Actualmente, la información sobre hepatitis C en España se recoge a través del Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). La notificación de casos de nuevos diagnósticos es heterogénea ya que algunas comunidades no han adoptado el nuevo protocolo de declaración de enfermedades de 2016 y solo notifican casos agudos recientes porque continúan con el antiguo protocolo de 2013. Otras comunidades como Galicia no participan en la notificación de datos, y otras como Asturias, Baleares y Cantabria no han actualizado sus datos debido a la pandemia de la Covid-19.

En 2019 se notificaron 1.386 nuevos casos de hepatitis C con una tasa de incidencia de 3,33 casos por 100.000 habitantes, siendo bastantes dispares estos datos entre las comunidades. La incidencia más baja (0 casos por 100.000 habitantes) la registraron Ceuta y Melilla y la más alta (13,82 casos por 100.000 habitantes) la Comunidad Valenciana. La incidencia más alta corresponde a los grupos de 45-54 (9,02 casos por 100.000 habitantes) y 55-64 años (7,89 casos por 100.000 habitantes), siendo mucho mayor en hombre que en mujeres. Sin embargo, en grupos de mayor edad la diferencia de casos es menor y en el grupo de 75-84 años la incidencia de las mujeres supera a la de los hombres. En la figura 15 se muestra la incidencia por 100.000 habitantes de hepatitis C por comunidad autónoma en 2019. En la figura 16 se muestra la incidencia por 100.000 habitantes de hepatitis C por grupos de edad

y sexo en 2019 (Hernando y Ruiz-Algueró, 2019).

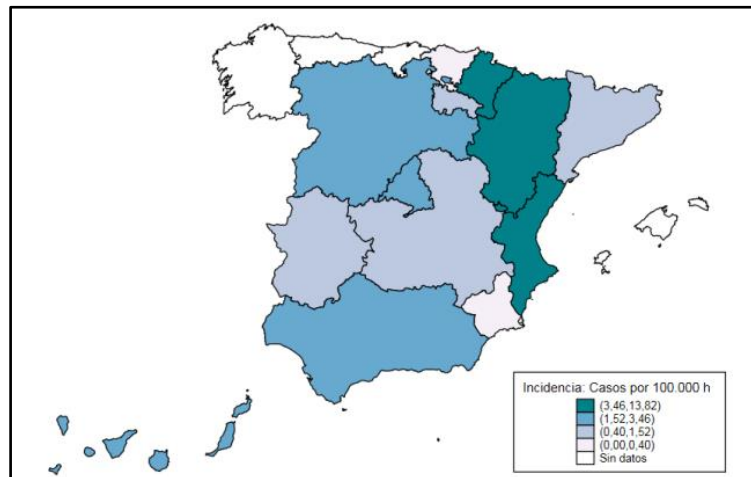


Figura 15: Incidencia por 100.000 habitantes de hepatitis C por comunidad autónoma en 2019. (Hernando y Ruiz-Algueró, 2019).

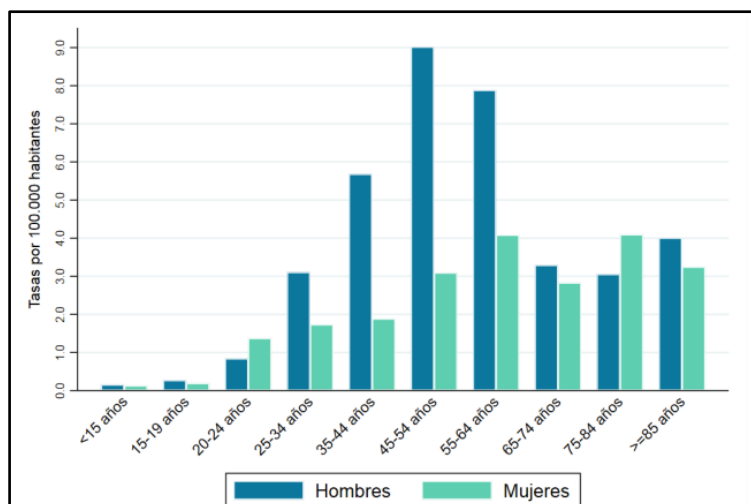


Figura 16: Incidencia por 100.000 habitantes de hepatitis C por grupos de edad y sexo en 2019. (Hernando y Ruiz-Algueró, 2019).

En 2016 la Organización Mundial de la Salud (OMS) lanzó la Estrategia mundial del sector de la salud contra las hepatitis víricas, en la que se ponía como objetivo eliminarlas como problema de salud pública, y se establecía como meta el 2030 para reducir las infecciones en un 90% y la mortalidad en un 65%. Se propusieron cinco estrategias para conseguirlo: la sensibilización, movilización de recursos, planes de acción basados en la recogida de datos, una mayor igualdad en la atención, la prevención de la transmisión y un aumento en la detección, asistencia y tratamiento. Actualmente España es el país del mundo que ha tratado y curado más pacientes por millón de habitantes, más de 152.000. Esto ha convertido a España en el segundo país con mayores posibilidades para eliminar la enfermedad, siendo el primero Islandia. Grupos como la Alianza para la Eliminación de las Hepatitis Víricas en España (AEHVE) con programas como Ciudades Libres de Hepatitis C, #HepCityFree, están trabajando para conseguir llegar a esos objetivos lo antes posible (García-Samaniego, 2022).

7. TRATAMIENTOS PREVENTIVOS: VACUNAS

La llegada de los antivirales en 2011 fue un hecho totalmente esperanzador para el control global de la hepatitis, que hizo que en 2016 la OMS lanzase la estrategia mundial mencionada en el apartado anterior. Sin embargo, es necesario resaltar que la hepatitis C es mayoritariamente asintomática hasta

que la infección alcanza estadios graves y que por ello gran parte de los infectados no han sido identificados o no están siendo tratados (Bailey et al., 2019). Solo hay que recordar el caso de España, uno de los países con mejor pronóstico para la erradicación de la enfermedad, donde hay 76.000 infectados de los cuales 20.000 todavía no han sido identificados (Güell, 2022). Igualmente, un informe llevado a cabo en 2017 por la OMS concluyó que de los 71 millones de infectados mundialmente solo el 20% (14 millones) son conscientes de la infección (Lombardi et al., 2019). Por lo que esas personas no están siendo tratadas, con el riesgo vital y epidemiológico que eso conlleva. Incluso los que han sido tratados no están fuera de peligro debido a las tasas de aparición y recurrencia de hepatocarcinoma, por no hablar de que algunos pacientes desarrollaron resistencia a tratamientos en ensayos clínicos antes incluso de que los antivirales fueran aprobados. La resistencia siempre es un peligro que amenaza el único remedio actualmente disponible frente a la hepatitis. Además, pocos países están en vías de alcanzar los objetivos para 2030, aproximadamente el 60% de los países involucrados tuvieron más infecciones que curas en 2016. Es por todas estas razones por las que la erradicación completa de la hepatitis C debe ir de la mano de una vacuna (Bailey et al., 2019).

La utilización de una vacuna presenta numerosas ventajas. Debido al coste de los tratamientos actuales, una vacuna podría ser el único medio de garantizar un cierto grado de seguridad, especialmente entre las poblaciones con menos recursos. Su implementación y protección resultaría en una gran disminución de las listas de espera para trasplantes de hígado y en una reducción en los costes sanitarios. Sobre este último punto dos estudios, uno canadiense y otro brasileño, analizaron los beneficios que habría supuesto contar con una vacuna en la época del interferón y la ribavirina en sus respectivos países. Ambos estudios concluyeron que aunque se hubiese tratado de una vacuna con una moderada efectividad, habría sido más rentable que las terapias curativas. Estos estudios, a pesar de basarse en una situación claramente distinta de la actual, pueden ser tenidos en cuenta ya que asumieron un coste medio por tratamiento de 8000\$, lo cual es bastante similar a los tratamientos de hoy en día (Lombardi et al., 2019).

Dificultades en el estudio de una vacuna

Existen dos causas principales que entorpecen el desarrollo de una vacuna: la gran diversidad genética del HCV y la falta de modelos en los que testar y desarrollar las vacunas.

La eficaz cinética de replicación y la incapacidad de la polimerasa para corregir sus errores en la replicación del RNA son causa de las mutaciones que crean las distintas cuasiespecies, subtipos y genotipos. Varios estudios han demostrado que estas mutaciones pueden producir resistencia a anticuerpos en regiones lejanas o pertenecientes a epítomos muy inmunogénicos confiriéndole al virus nuevas vías de eludir al sistema inmune. Es por ello que vacunas que desencadenan una amplia respuesta inmunitaria o que estén dirigidas contra regiones generalmente conservadas están siendo estudiadas (Bailey et al., 2019).

El estudio del virus de la hepatitis C y de su vacuna ha sido dificultado por una falta de modelos *in vitro* y animales que provoquen una respuesta inmunitaria similar a la humana para determinar si es posible establecer una memoria inmunológica. El primer método de producción de HCV *in vitro* empezó a utilizarse en 2003 y consistía en un cultivo de células pertenecientes a un paciente japonés con hepatitis fulminante infectado por el genotipo 2a (cepa JFH-1). Desde entonces se han utilizado otros sistemas como células de hepatoma humano (Huh7) que se han ido optimizando con los años (Huh7.5 y Huh7.5.1) (Echeverría et al., 2021).

El HCV tiene un tropismo humano muy específico, el único modelo animal viable actualmente es el chimpancé, con el cual se están teniendo problemas éticos por su uso continuado. Es debido a estos problemas que se ha propuesto usar virus similares al HCV que provoquen patologías semejantes a la hepatitis C. El más cercano genéticamente fue identificado en 2011 y es un *Hepacivirus* no primate (NPHV) presente en caballos domésticos. Con él se han conseguido recrear algunas características de la

infección como su capacidad de cronicidad, seroconversión y patogenicidad aguda. Además, en un estudio un caballo adquirió una protección inmunitaria tras la curación de una infección aguda de una manera muy similar a los casos por HCV. Sin embargo, la alta tasa de curaciones espontáneas dificulta su utilización como modelo de estudio a largo plazo (Hartlage & Kapoor, 2021). Por otro lado, en 2014 se descubrió un HCV en ratas que podría proveer otro modelo animal para testar vacunas. A pesar de tener una estructura análoga a la del HCV humano, tiene limitada homología genómica (Bailey et al., 2019).

Teniendo en cuenta estas dificultades, se ha considerado utilizar controles de infección de humanos, de esta forma se aceleraría el desarrollo de una vacuna. En dichos estudios, voluntarios sanos y adultos serían administrados una vacuna prometedora o un placebo y después serían infectados con una cepa muy estudiada de HCV. Durante todo el estudio se haría un seguimiento de la enfermedad, las infecciones agudas son normalmente benignas, pero aquellos pacientes que empezaran a manifestar síntomas de una infección crónica serían rápidamente tratados con antivirales. A pesar de que este enfoque sería bastante beneficioso, hay algunas desventajas que previenen su implementación. Todavía no se sabe con seguridad si una infección controlada podría imitar un contagio natural de HCV. Para conseguir que el paciente desarrollase inmunidad frente a las numerosas cuasiespecies sería necesaria la inoculación de plasma de infectados, con el riesgo de transmitir otros patógenos. Otro impedimento es la larga duración de los estudios. La efectividad de una vacuna se basa en su capacidad de prevenir el desarrollo de una viremia crónica, y esto se comprueba tras 3/6 meses de la exposición al virus. En ese periodo de tiempo los inoculados podrían transmitir el virus o podrían desvincularse del estudio. Por no hablar de que siempre existe el riesgo de que aparezcan cepas resistentes a antivirales y entonces la infección no podría controlarse en caso de que se volviese crónica (Hartlage & Kapoor, 2021).

La escasez de financiación también dificulta con creces el desarrollo de una vacuna, ya que muchos países prefieren centrarse en el estudio de antivirales. De hecho, la tasa de mortalidad del HCV supera desde hace mucho tiempo la del HIV, aun así la financiación para la hepatitis B y C es menos del 5% de la invertida en HIV (Quirós, 2019). Por otro lado, la falta de conocimiento sobre la respuesta inmunitaria frente a HCV es otro obstáculo. Una de las causas es la dificultad para encontrar pacientes en estadios iniciales de la infección a causa de su asintomatología (Reyes, 2021). Además del reto que supone la organización de estudios clínicos principalmente entre poblaciones de alto riesgo cuando se trata de un seguimiento a largo plazo (Echeverría et al., 2021). En la figura 17 se muestran las principales dificultades en el desarrollo de vacunas para HCV.

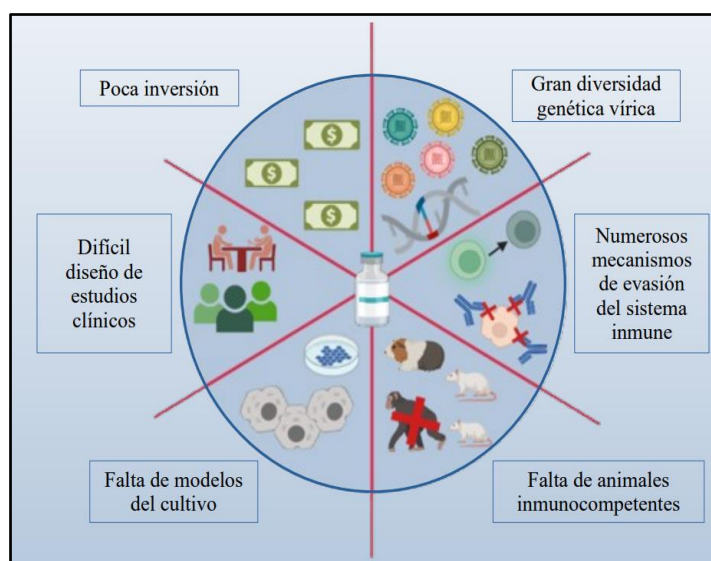


Figura 17: Distintos obstáculos para la investigación de vacunas. Se remarcan: amplia diversidad genética de HCV, estrategias para evadir los anticuerpos neutralizantes, linfocitos T exhaustos, falta de sistema de cultivo in vitro y de animales inmunocompetentes, difícil diseño de estudios clínicos y falta de inversión. (Echeverría et al., 2021).

A la hora de diseñar los prototipos de vacunas el mayor objetivo ha sido inducir respuestas inmunitarias similares a aquellas de pacientes con infecciones agudas o que hayan superado reinfecciones (Echeverría et al., 2021).

8. CONCLUSIONES

I. La baja fidelidad de la polimerasa y la alta cinética de replicación vírica provocan una alta variabilidad genética, esto unido a las dificultades presentes en el cultivo del virus y la falta de modelos animales inmunocompetentes, suponen serios obstáculos en el desarrollo de tratamientos y vacunas.

II. Los primeros tratamientos empleados (IFN y RBV) tienen una baja efectividad y altos efectos secundarios debidos a su inespecificidad. Por ello, en la actualidad se utilizan los antivirales de acción directa, que teniendo dianas concretas posibilitan el control epidemiológico de la enfermedad.

III. Existe una relación, todavía en debate, sobre el uso prolongado de antivirales y la aparición de hepatocarcinoma. Lo cual es uno de los mayores inconvenientes en su utilización además del alto coste en países en vías de desarrollo. Las tasas de cáncer en pacientes tratados con DAAs son mayores que en aquellos a los que se les administró interferón. Esto se ha atribuido mayoritariamente al periodo de debilidad que supone la inmunosupresión subsiguiente a la curación por DAAs. A la luz de estos hallazgos, es necesario realizar un seguimiento exhaustivo a los pacientes tratados con antivirales incluso una vez alcanzada la respuesta virológica sostenida.

IV. España se encuentra entre los países con mejor pronóstico para alcanzar los objetivos de la OMS basados en la erradicación de la hepatitis C para el 2030. A pesar de esto, es alarmante el alto porcentaje de la población mundial infectada (80%) que ignora estar infectada.

V. Debido a esto último, una vacuna profiláctica es el único medio para garantizar una final erradicación de la hepatitis C. La baja respuesta inmunitaria de los prototipos constituye el principal inconveniente en su aprobación.

9. BIBLIOGRAFÍA

- AGUIRRE A. D. B. (2008): "Función de la proteasa NS3 del virus de la Hepatitis C". *Revista de Educación Bioquímica*, 27(3), 79-84.
- ARANZA PEREA J. R. A (2002): "La pegilación de fármacos". *GH Continuada. VOL. 1 N.o 5*.
- ASSCAT. (2018): Fármacos disponibles para el tratamiento de la hepatitis c. <https://asscat-hepatitis.org/hepatitis-viricas/hepatitis-c/tratamiento-de-la-hepatitis-c/farmacos-disponibles-para-el-tratamiento-de-la-hepatitis-c/>.
- BAILEY J. R., BARNES E., & COX A. L. (2019): "Approaches, Progress, and Challenges to Hepatitis C Vaccine Development". *Gastroenterology*, 156(2), 418-430.
- BRAHM B., J. (2008): "Hepatitis crónica viral". *Revista Médica Clínica Las Condes*, 19(4), 418-428.
- BROZZETTI S., TANCREDI M., BINI S., DE LUCIA C., ANTIMI J., D'ALTERIO C., DE SANCTIS G. M., FURLAN C., MALPASSUTI V. C., LUCATELLI P., DI MARTINO M., BEZZI M., CIARDI A., & PASCALE R. M. (2021): "HCC in the Era of Direct-Acting Antiviral Agents (DAAs): Surgical and Other Curative or Palliative Strategies in the Elderly". *Cancers*, 13(12), 3025.
- CAMMÀ C., GIUNTA M., ANDREONE P., & CRAXÌ A. (2001): "Interferon and prevention of hepatocellular carcinoma in viral cirrhosis: An evidence-based approach". *Journal of Hepatology*, 34(4), 593-602.
- CASTRO ILLANA V. (2021): *Modelos celulares de infección persistente por el virus de la hepatitis C revelan alteraciones transcriptómicas no reversibles tras la eliminación de la infección mediante*

- el tratamiento con antivirales de acción directa*. Universidad Autónoma de Madrid. Departamento de Biología Molecular.
- CERVERA F. (2012): *Poblaciones del virus de la hepatitis C (VHC) en pacientes infectados: mutación y resistencia a fármacos inhibidores de la proteasa NS3 viral*. Universidad de Valencia. Aproximaciones Moleculares en Ciencias de la Salud.
- CIDONCHA MUÑOZ I., PÉREZ ABÁNADES M., GARCÍA BUEY L.C., ORTEGA HERNÁNDEZ-AGERO T., MORELL BALADRÓN A. (2019): “Efectividad y seguridad a largo plazo de los antivirales de acción directa en pacientes con hepatitis C crónica genotipos no-1”. *ILAPHAR. Revista de la OFIL*. 29;4:294-300.
- COUSSENS L. M., & WERB Z. (2002): “Inflammation and cancer”. *Nature*, 420(6917), 860-867.
- CRAWFORD D. H., & OTERO-PIÑEIRO, D. (2020): *Virus: Una breve introducción*.
- DASH S., AYDIN Y., WIDMER K. E., & NAYAK L. (2020): “Hepatocellular Carcinoma Mechanisms Associated with Chronic HCV Infection and the Impact of Direct-Acting Antiviral Treatment”. *Journal of Hepatocellular Carcinoma*, 7, 45-76.
- DE LOS SANTOS SAINZ I. (2019): *Alteraciones en la expresión de miRNAs como causantes de enfermedades hepáticas*. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia.
- ECHEVERRÍA N., COMAS V., ALDUNATE F., PERBOLINACHIS P., MORENO P., & CRISTINA J. (2021): “In the era of rapid mRNA-based vaccines: Why is there no effective hepatitis C virus vaccine yet?” *World Journal of Hepatology*, 13(10), 1234-1268.
- ELTAHLA A. A., LUCIANI F., WHITE P. A., LLOYD A. R., & BULL, R. A. (2015): “Inhibitors of the Hepatitis C Virus Polymerase; Mode of Action and Resistance”. *Viruses*, 7(10), 5206-5224.
- FERNÁNDEZ ALONSO DE VELASCO M. (2019): *Diseño de fármacos antivirales basado en el complejo de la polimerasa del virus de la gripe*. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia.
- GARCÍA-SAMANIEGO, J. (2022): “Las ciudades españolas son el modelo a seguir en la eliminación de la hepatitis C”. *El País*. <https://elpais.com/planeta-futuro/red-de-expertos/2022-04-11/las-ciudades-espanolas-son-el-modelo-a-seguir-en-la-eliminacion-de-la-hepatitis-c.html>.
- GOUDREAU N., & LLINÀS-BRUNET M. (2005): “The therapeutic potential of NS3 protease inhibitors in HCV infection”. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 14(9), 1129-1144.
- GÜELL, O. (2022): “España encara su última gran batalla contra la hepatitis C”. *El País*. <https://elpais.com/sociedad/2022-02-21/espana-encara-su-ultima-gran-batalla-contra-la-hepatitis-c.html>.
- HARTLAGE A. S., & KAPOOR, A. (2021): “Hepatitis C Virus Vaccine Research: Time to Put Up or Shut Up”. *Viruses*, 13(8), 1596.
- HERNÁEZ-ALSINA T., CABALLOL-OLIVA B., DÍAZ-GONZÁLEZ Á., GUEDES-LEAL C., & REIG M. (2019): “Riesgo de recurrencia del carcinoma hepatocelular en pacientes tratados con antivirales libres de interferón”. *Gastroenterología y Hepatología*, 42(8), 502-511.
- HERNANDO V., RUIZ-ALGUERÓ M., ASUNCIÓN D. (2019): *Vigilancia epidemiológica de la hepatitis C en España, 2019*. Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III.
- HUSSEIN N., ZEKRI A.-R. N., ABOUEHODA M., ALAM EL-DIN H. M., GHAMRY A. A., AMER M. A., SHERIF G. M., & BAHNASSY A. A. (2014): “New insight into HCV E1/E2 region of genotype 4a”. *Virology Journal*, 11, 231.
- IOANNOU G. N., GREEN P. K., & BERRY K. (2017): “HCV eradication induced by direct-acting antiviral agents reduces the risk of hepatocellular carcinoma”. *Journal of Hepatology*, S0168-8278(17)32273-0.
- ISSUR M., & GÖTTE M. (2014): “Resistance Patterns Associated with HCV NS5A Inhibitors Provide Limited Insight into Drug Binding”. *Viruses*, 6(11), 4227-4241.
- JANARDHAN S. V., & REAU, N. S. (2015): “Should NS5A inhibitors serve as the scaffold for all-oral anti-HCV combination therapies?” *Hepatic Medicine: Evidence and Research*, 7, 11-20.
- JOCKUSCH S., TAO C., LI X., CHIEN M., KUMAR S., MOROZOVA I., KALACHIKOV S., RUSSO J. J., & JU J. (2020): “Sofosbuvir terminated RNA is more resistant to SARS-CoV-2 proofreader than RNA terminated by Remdesivir”. *Scientific Reports*, 10(1), 16577.
- LEE C. (2013): “Daclatasvir: Potential role in hepatitis C”. *Drug Design, Development and Therapy*, 7,

1223-1233.

- LI H.-C., YANG C.-H., & LO S.-Y. (2021): "Hepatitis C Viral Replication Complex". *Viruses*, 13(3), 520.
- LOMBANA SACRISTAN L. (2015): *Glicoproteínas de la envoltura del HCV: implicación del péptido fusogénico de E1 y de los dominios transmembrana en las propiedades estructurales y funcionales del complejo E1-E2*. Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Biología Molecular.
- LOMBARDI A., MONDELLI M. U., & ESCMID Study Group for Viral Hepatitis (ESGVH). (2019): "Hepatitis C: Is eradication possible?" *Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver*, 39(3), 416-426.
- MADEJÓN A., GARCÍA-SAMANIEGO J. (2019): "Retos Pendientes en la Era Pos-VHC". SEV Volumen 22, Número 3/2019.
- MAROTO VELA M. C., GARCÍA GARCÍA F (2010): "Variabilidad genética del virus de la hepatitis C". Departamento y Servicio de Microbiología. Facultad de Medicina y Hospital Universitario San Cecilio. Granada.
- NIDDK (2012): *Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. Simeprevir*. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.
- NIDDK (2012): *Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. Sofosbuvir*. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases.
- PATIL V. S., HARISH D. R., VETRIVEL U., ROY S., DESHPANDE S. H., & HEGDE H. V. (2022): "Hepatitis C Virus NS3/4A Inhibition and Host Immunomodulation by Tannins from Terminalia chebula: A Structural Perspective". *Molecules*, 27(3), 1076.
- PRECIADO M. V., VALVA P., ESCOBAR-GUITIÉRREZ A., RAHAL P., RUIZ-TOVAR K., YAMASAKI L., VAZQUEZ-CHACON C., MARTINEZ-GUARNEROS A., CARPIO-PEDROZA J. C., FONSECA CORONADO S., & CRUZ-RIVERA, M. (2014): "Hepatitis C virus molecular evolution: Transmission, disease progression and antiviral therapy". *World Journal of Gastroenterology*, 20(43), 15992.
- QUIRÓS MARÍN M. (2019): *Aumento de la inmunogenicidad de una vacuna contra la hepatitis C (MVA-HCV) basada en el Virus Vaccinia Modificado de Ankara (MVA)*. Universidad Autónoma de Madrid. Departamento de Biología Molecular, CSIC. Centro Nacional de Biotecnología (CNB).
- RESINO S. (2017): "Tratamiento de la hepatitis C: Antivirales de acción directa" *Epidemiología Molecular de Enfermedades Infecciosas*. <https://epidemiologiamolecular.com/tratamiento-hepatitis-c-antivirales-accion-directa/>
- REYES G. G., & KERSHENOBICH (2008): "Inmunopatogénesis de la hepatitis C". *Medicina Universitaria*, 5.
- REYES PÉREZ M. del M. (2021): *Virus de la hepatitis C: Avances en el tratamiento*. Universidad de Sevilla. Departamento de Microbiología y Parasitología.
- RUTLEDGE S. M., ZHENG H., LI D. K., & CHUNG R. T. (2019): "No evidence for higher rates of hepatocellular carcinoma after direct-acting antiviral treatment: A meta-analysis". *Hepatology Research*, 5, 31.
- SANTAGELO L., BORDONI V., MONTALDO C., CIMINI E., ZINGONI A., BATTISTELLI C., D'OFFIZI G., CAPOBIANCHI M. R., SANTONI A., TRIPODI M., & AGRATI, C. (2018): "Hepatitis C virus direct-acting antivirals therapy impacts on extracellular vesicles microRNAs content and on their immunomodulating properties". *Liver International*, 38(10), 1741-1750.
- SANZ ESTEBAN M. (2016): *Biología, 2 Bachillerato*. Oxford Educación.
- SANZ RAYA J. F. (2016): *Síntesis de nuevos inhibidores de la actividad del virus de la Hepatitis C*. Universidad de Sevilla. Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica.
- SWISS INSTITUTE OF BIOINFORMATICS. (2017): *ViralZone*. <https://viralzone.expasy.org/37>.
- TEIMOURPOUR R., TAJANI A. S., ASKARI V. R., ROSTAMI S., & MESHKAT Z. (2016): "Designing and Development of a DNA Vaccine Based On Structural Proteins of Hepatitis C Virus". *Iranian Journal of Pathology*, 11(3), 222-230.
- WILKINS T., AKHTAR M., GITITU E., JALLURI C., & RAMIREZ J. (2015): "Diagnosis and

Management of Hepatitis C". *American Family Physician*, 91(12), 835-842.

YOSHIKAWA T., TAKATA A., OTSUKA M., KISHIKAWA T., KOJIMA K., YOSHIDA H., & KOIKE K. (2012): "Silencing of microRNA-122 enhances interferon- α signaling in the liver through regulating SOCS3 promoter methylation". *Scientific Reports*, 2(1), 637.

ZHUANG L., ZENG X., YANG Z., & MENG Z. (2013): "Effect and Safety of Interferon for Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis". *PLoS ONE*, 8(9), e61361.

10. ANEXO: TABLA DE ABREVIATURAS

| Abreviatura | Inglés | Español |
|-------------------|---|---|
| AEHVE | --- | Alianza para la Eliminación de la Hepatitis Víricas en España |
| DAA | <i>Direct-acting antiviral</i> | Antiviral de acción directa |
| DCV | <i>Daclatasvir</i> | Daclatasvir |
| DMV | <i>Double-membrane vesicles</i> | Vesículas de doble membrana |
| dsRNA | <i>Double strand RNA</i> | ARN bicatenario |
| ER | <i>Endoplasmic reticulum</i> | Retículo endoplasmático |
| FDA | <i>Food and Drug Administration</i> | Administración de alimentos y medicamentos |
| HCC | <i>Hepatocellular carcinoma</i> | Hepatocarcinoma |
| HCV | <i>Hepatitis C virus</i> | Virus de la hepatitis C |
| HIV | <i>Human immunodeficiency virus</i> | Virus de la inmunodeficiencia adquirida |
| HVR1 | <i>Hypervariable region 1</i> | Región hipervariable 1 |
| HVR2 | <i>Hypervariable region 2</i> | Región hipervariable 2 |
| IFN | <i>Interferon</i> | Interferón |
| IFNAR | <i>Type I IFN receptor</i> | Receptor de IFN |
| IRES | <i>Internal ribosome entry site</i> | Sitio interno de entrada al ribosoma |
| ISG | <i>IFN-Stimulated genes</i> | Genes estimulados por IFN |
| LD | <i>Lipid droplets</i> | Gotas lipídicas |
| LDL | <i>Low-density lipoprotein</i> | Lipoproteínas de baja densidad |
| LVP | <i>Lipoviral particle</i> | Lipovirpartículas |
| MAIT | <i>Mucosal Associated Invariant T</i> | Linfocitos T invariantes asociados a la mucosa |
| miR | <i>Micro RNA</i> | Micro ARN |
| miR-122 | <i>Micro RNA 122</i> | Micro ARN 122 |
| mRNA | <i>Messenger RNA</i> | ARN mensajero |
| NAFLD | <i>Non-alcoholic fatty liver disease</i> | Enfermedad del hígado graso no alcohólico |
| NK | <i>Natural killer</i> | Asesinas naturales |
| NKT | <i>Natural killer T</i> | Asesinas T naturales |
| NPHV | <i>Non-primate hepacivirus</i> | Hepacivirus no primate |
| ORF | <i>Open reading frame</i> | Marco abierto de lectura |
| PAMP | <i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i> | Patrón molecular asociado a patógenos |
| peg-IFN- α | <i>Pegylated interferon alpha</i> | Interferón alfa pegilado |
| PRR | <i>Pattern recognition receptor</i> | Receptor de reconocimiento de patrones |

| | | |
|--------|---------------------------------------|---|
| RAV | <i>Resistant associated variants</i> | Variantes asociadas a la resistencia |
| RBV | <i>Ribavirin</i> | Ribavirina |
| RENAVE | --- | Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica |
| RNA | <i>Ribonucleic acid</i> | Ácido ribonucleico |
| ROS | <i>Reactive oxygen species</i> | Especies reactivas de oxígeno |
| SEV | --- | Sociedad Española de Virología |
| SMV | <i>Single-membrane vesicles</i> | Vesículas de membrana simple |
| SOF | <i>Sofosbuvir</i> | Sofosbuvir |
| SPP | <i>Signal-peptide peptidase</i> | Péptido peptidasa de señal |
| SVR | <i>Sustained virological response</i> | Respuesta virológica sostenida |
| UTR | <i>Untranslated region</i> | Región no traducida |
| VLDL | <i>Very low-density lipoprotein</i> | Lipoproteínas de muy baja densidad |
| VLP | <i>Virus-like particles</i> | Partículas similares a virus |
| WHO | <i>World Health Organization</i> | Organización Mundial de la Salud |