

Papel de los genes *KIR3D* en la infección por el virus de hepatitis C

Autor Alejandra López Juajibioy¹, Ana Moreno Zarate¹, Mercedes Fernández-Mestre², Rosalía Perazzo³, Jairo Rojano Rada⁴

Afiliación 1 Residente de segundo año del Postgrado de Gastroenterología. Universidad Central de Venezuela. Hospital "Dr. Miguel Pérez Carreño". Caracas, Venezuela.
2 PhD. Inmunología. Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas, Venezuela.
3 Md. Gastroenterólogo-Hepatólogo. Adjunto del Servicio de Gastroenterología, Hospital "Dr. Miguel Pérez Carreño". Caracas, Venezuela.
4 Md. Internista-Reumatólogo. Adjunto Del Servicio de Medicina Interna, Hospital "Dr. Miguel Pérez Carreño". Caracas, Venezuela.

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2020; 74(Supl 1): 11-16.

© Sociedad Venezolana de Gastroenterología. Caracas, Venezuela- ISSN 2477-975X.

Fecha de recepción: 16/09/2020

Fecha de revisión: 05/10/2020

Fecha de Aprobación: 20/10/2020

Resumen

Las células citotóxicas naturales (NK) son células efectoras de la inmunidad innata, que desempeñan un papel importante en la defensa contra la infección por el virus de la hepatitis C (VHC). Considerando que las células NK detectan y eliminan las células infectadas, determinamos el papel de los genes *KIR3D* en la infección por el VHC. Se incluyeron 50 pacientes infectados con el VHC, quienes acudieron a la consulta externa de Hepatología del Hospital "Dr. Miguel Pérez Carreño". La presencia y/o ausencia de los genes *KIR3D* se detectaron por PCR-SSP (reacción en cadena de la polimerasa con iniciadores de secuencia específicas). Las frecuencias se determinaron por conteo directo, las comparaciones y el análisis descriptivo se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS Statistic. El análisis mostró que los individuos infectados con VHC presentaban una mayor frecuencia del gen *KIR3DL1* (inhibidor) y una menor frecuencia del gen *KIR3DS1* (activador). Los pacientes *KIR3DL1* positivos presentaban altas concentraciones de aspartato aminotransferasa y un tiempo parcial de tromboplastina prolongado. Finalmente, ambos genes estaban presentes en pacientes con daño hepático. En conclusión, el desbalance de señales activadoras e inhibitoras en las células NK, pudiese incrementar el riesgo de susceptibilidad a la infección y progresión de la enfermedad.

Palabras clave: Hepatitis C, Células NK, *KIR3D*, Inmunidad innata.

ROLE OF *KIR3D* GENES IN HEPATITIS C VIRUS INFECTION

Summary

Natural cytotoxic (NK) cells are effector cells of innate immunity, which that plays an important role in the host defense against infection with hepatitis C virus (HCV). Considering that NK cells detect and eliminate infected cells, through their receptors, we determined the role of the *KIR3D* genes in infection with hepatitis C virus. Fifty patients infected with HCV were included. attended the Hepatology outpatient clinic of the Hospital "Dr. Miguel Pérez Carreño". The presence and / or absence of the *KIR3D* genes were detected by PCR-SSP (polymerase chain reaction with specific sequence primers). The frequencies were determined by direct count, the comparisons and descriptive analysis was performed using the statistical package SPSS Statistic version 20. The analysis showed that the individuals infected with HCV had a higher frequency of the *KIR3DL1* gene (inhibitor) and a lower frequency of the *KIR3DS1* gene (activator). On the other hand, *KIR3DL1* positive patients had high concentrations of aspartate aminotransferase and a prolonged partial thromboplastin time. Finally, both *KIR3D* genes were present in patients with liver damage. In conclusion, the imbalance of activating and inhibitory signals in NK cells could increase the risk of susceptibility to infection and disease progression.

Key words: Hepatitis C, NK cells, *KIR3D*, Innate immunity.

Introducción

La infección por virus de hepatitis C (VHC) es la principal causa de hepatopatía crónica a nivel mundial¹. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en el mundo hay 71 millones de personas infectadas por el virus de hepatitis C y que cada año mueren 399.000 debido a la infección. Un 30% de las personas infectadas eliminan el VHC espontáneamente, en un plazo de 6 meses, y el 70% restante progresan a una infección crónica, de las cuales se estima un 15-20% desarrollarán cirrosis hepática en 20 años².

Las células NK son células efectoras de la inmunidad innata y desempeñan un papel importante en la defensa contra la infección por VHC, al lisar las células infectadas, a través de una acción citotóxica, directa o mediada por anticuerpos (ADCC), o a través de la liberación de citoquinas que activan otras células efectoras del sistema inmunitario^{3,4}. La actividad de estas células está finamente regulada por un grupo de receptores activadores e inhibidores, cuyo balance final, luego de interactuar con su ligando específico, favorecerá o no a la activación de la célula frente a la célula blanco⁵. En humanos los receptores de las células NK (NKR) pueden ser divididos en dos clases: 1. Receptores NK específicos para moléculas HLA-clase I. Este grupo incluyen dos sub-grupos de receptores: los receptores pertenecientes a la familia de inmunoglobulinas (KIR, LIR o LILRs) y los receptores pertenecientes a la familia de las lectinas tipo I (CD94/NKG2), 2. Receptores NK-HLA independientes. Este grupo incluye los receptores de citotoxicidad natural (NCRs).

Los receptores de muerte tipo inmunoglobulinas (KIRs), estructuralmente presentan una región extracelular, constituida por dominios tipo inmunoglobulina, un dominio transmembrana y una cola citoplasmática. Basado en el número de dominios extracelulares pueden clasificarse en receptores con 2 dominios (KIR2D) y receptores con 3 dominios (KIR3D). Las características del dominio transmembrana y de la cola citoplasmática se relacionan con la función de los KIR, clasificándolos en receptores inhibidores y activadores⁶. Fundamentados en que las células NK detectan y eliminan las células infectadas, a través de sus receptores, determinamos el papel de los genes KIR3D en la infección por virus de hepatitis C.

Pacientes y Métodos

Población y muestra

Se realizó un estudio descriptivo y comparativo, que incluyó 50 pacientes con diagnóstico de infección de VHC, que acudieron al servicio de Gastroenterología, del Hospital General del IVSS "Dr. Miguel Pérez Carreño", durante los meses de junio a septiembre de 2019. El diagnóstico estuvo basado en pruebas moleculares, serología y carga viral.

Todos los individuos participantes fueron informados debidamente y firmaron un consentimiento aprobado por el Comité de Bioética del Hospital.

Determinación de los genes *KIR3DL1* y *KIR3DS1*

Para la determinación de los genes *KIR3DL1* y *KIR3DS1* y el alelo *HLA-B27*, el ADN genómico fue extraído a partir de los leucocitos y linfocitos de sangre periférica utilizando el protocolo de Bunce⁷. La presencia o ausencia de los genes *KIR3D* (*L1* y *S1*) se determinó a través de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con iniciadores de secuencias específicas (PCR-SSP), empleando los iniciadores descritos por Zhuang et al.⁸. En todas las reacciones se incluyó, como control interno de la PCR, los iniciadores del grupo sanguíneo ABO descrito por Olsson et al.⁹.

La PCR se realizó en un termociclador Applied Biosystem empleando la siguiente mezcla de reacción: PCR Buffer 1X, 1 pmol/μl de cada uno de los iniciadores para cada gen *KIR* específico, 0.1 pmol/μl de los iniciadores *ABO* (Forward y Reverse), 0.2 mM de dNTPs, 2.5 mM de KCl, 0.4 mM de Tris-HCl, 3.25 mM de MgCl₂, 2 U/μl de la enzima Taq polimerasa (Agilent), 2 μl de muestra de ADN genómico (50-100 ng). La condición de la PCR fue la siguiente: un paso inicial de desnaturalización a 94°C por 4 minutos, seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 65 °C y 90 segundos a 72 °C. Finalmente, la extensión de 10 minutos a 72 °C. Los productos amplificados se visualizaron en un gel de agarosa (Sigma) al 1.5 %, coloreado con bromuro de etidio.

Análisis estadístico

Las frecuencias observadas (F) se determinaron a través de la relación entre el número de veces que se observó el gen *KIR3D* (*KIR3DL1* y *KIR3DS1*) y el número total de individuos estudiados (N). Las comparaciones entre los pacientes, agrupados de acuerdo a los genes *KIR3D*, perfil hepático y comorbilidades, y el análisis descriptivo se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS Statistic versión 20. Los valores de probabilidad (p) se consideraron significativos cuando el valor era < 0.05.

Resultados

Características demográficas de los pacientes infectados con VHC

Las características demográficas de los pacientes infectados con VHC se muestran en la Tabla 1. De los 50 pacientes incluidos, 58% eran mujeres y 42% hombres, con un rango de edad comprendido entre 18 y 81 años y un promedio de 53,24 ± 2,20 años.

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes infectados con el VHC. Servicio de Gastroenterología del Hospital General del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño” Año 2020.

		Individuos infectados con VHC (n=50)
Sexo	Femenino	58 (29)
	Masculino	42 (21)
Rango de edad (años)		18-81
Edad promedio (DE) años		53,24 ± 2,20

La frecuencia se muestra en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos. DE: Desviación estándar.

Distribución de frecuencia de los genotipos del VHC y de la terapia recibida por estos pacientes.

Al analizar la frecuencia de los genotipos del VHC en los pacientes incluidos, observamos que el genotipo más frecuente era el 1a (32 %), seguido por el genotipo 1b (26 %) y los genotipos 2 (b y a, respectivamente). Cabe destacar que el 96% de los pacientes incluidos no había recibido tratamiento previamente. Sin embargo, una vez tratado, el tratamiento más utilizado fue el Sofosbuvir+Daclastavir, seguido por el Sofosbuvir + Daclatasvir + Ribavirina (Tabla 2)

Tabla 2. Distribución de frecuencia de los genotipos del VHC y de la terapia recibida por los pacientes con VHC. Servicio de Gastroenterología del Hospital General del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño” Año 2020.

		Individuos infectados con VHC (n=50)
Genotipo VHC	1a	32 (16)
	1 b	26 (13)
	2 a	14 (07)
	2 b	16 (08)
	3 a	02 (01)
Tratamiento previo	Si (Interferón/Rivabirina)	04 (02)
	No	96 (48)
Tratamiento recibido	•Sofosbuvir +Daclastavir	86 (43)
	•Sofosbuvir +Daclatasvir+Ribavirina	12 (06)
	•No referido	02 (01)

La frecuencia se muestra en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos.

Distribución de la frecuencia de los genes KIR3DL1 y KIR3DS1 en individuos infectados con el VHC.

Al determinar la presencia del gen KIR3DL1 observamos que el 96 % de los individuos con infección con el VHC presentaban este gen y un 4% de los individuos no lo presentaban. En contraste, el 38 % de los individuos con infección con el VHC

presentaban el gen KIR3DS1 y un 62% de los individuos no lo presentaban (Tabla 3).

Tabla 3. Distribución de la frecuencia del gen KIR3DL1 en individuos infectados con el VHC. Servicio de Gastroenterología del Hospital General del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño” Año 2020.

		Individuos infectados con VHC (n=50)
KIR3DL1	Presencia	96 (48)
	Ausencia	04 (02)
KIR3DS1	Presencia	38 (19)
	Ausencia	62 (31)

La frecuencia se muestra en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos. Presencia: individuos con el gen KIR3D (L1 o S1), Ausencia: individuos sin el gen KIR3D (L1 o S1).

Distribución de la frecuencia de las combinaciones KIR3DL1/KIR3DS1 en individuos infectados con el VHC

Al determinar la presencia de las combinaciones génicas KIR3DL1/KIR3DS1 observamos que el 62% de los individuos infectados con VHC presentaban la combinación génica KIR3DL1 Presente/KIR3DS1 Ausente, seguida por las combinaciones KIR3DL1 Presente/KIR3DS1 Presente (34%) y KIR3DL1 Ausente/KIR3DS1 Presente (4%). La combinación KIR3DL1 Ausente/KIR3DS1 Ausente no se observó en los pacientes (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución de las frecuencias de las combinaciones KIR3DL1/KIR3DS1 en individuos infectados con el VHC. Servicio de Gastroenterología del Hospital General del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño” Año 2020.

Combinación génica KIR3DL1/ KIR3DS1	Individuos infectados con VHC (n=50)
KIR3DL1 Presente / KIR3DS1 Presente	34 (17)
KIR3DL1 Presente / KIR3DS1 Ausente	62 (31)
KIR3DL1 Ausente / KIR3DS1 Presente	04 (02)
KIR3DL1 Ausente / KIR3DS1 Ausente	00 (00)

La frecuencia se muestra en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos con la combinación de genes KIR3D.

Distribución de la frecuencia de los genes KIR3DL1 y KIR3DS1 en individuos infectados con el VHC agrupados por sexo y edad

Al agrupar los pacientes de acuerdo al sexo se observó una mayor frecuencia del gen KIR3DL1 (56%) y KIR3DS1 (24%) en pacientes del sexo femenino con respecto a los pacientes del sexo masculino (40% y 14%, respectivamente). Al comparar el promedio de edad, entre los individuos con VHC agrupados por

sexo y la presencia o ausencia de los genes *KIR3D* (*L1/S1*), no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

Análisis comparativo del perfil hepático entre individuos infectados con el con VHC agrupados de acuerdo al gen *KIR3DL1*

Al realizar el análisis del perfil hepático entre individuos infectados con el VHC se observó una concentración significativamente menor de aspartato aminotransferasa (AST) y un tiempo parcial de tromboplastina (PTT) significativamente prolongado en los pacientes con el gen *KIR3DL1* con respecto a los individuos sin este gen. Aunque la concentración de alanina transaminasa (ALT), gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) y de plaquetas fue menor en los pacientes con el gen *KIR3DL1*, estas diferencias no fueron estadísticamente significativa. Finalmente, entre los pacientes con y sin *KIR3DL1*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de fosfatasa alcalina (ALP), bilirrubina total, bilirrubina indirecta, albumina, hemoglobina, así como en el tiempo de protrombina (PT) (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis comparativo del perfil hepático entre pacientes con VHC agrupados de acuerdo al gen *KIR3DL1*. Servicio de Gastroenterología del Hospital General del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño” Año 2020.

	Total (n=50)	<i>KIR3DL1</i> Presente (n=2)	<i>KIR3DL1</i> Ausente (n=48)	Valor p
AST	95,32 ± 15,25	88,67 ± 29,91	255,0 ± 120,71	0,031*
ALT	128,04 ± 30,82	120,92 ± 61,7	299,0 ± 34,43	0,261
ALP	147,54 ± 8,93	146,75 ± 18,68	166,5 ± 171,5	0,669
GGT	50,74 ± 3,97	49,96 ± 8,26	69,5 ± 6,35	0,340
BT	1,64 ± 0,15	1,62 ± 0,31	2,0 ± 12,71	0,629
BD	0,65 ± 0,06	0,64 ± 0,12	0,84 ± 8,32	0,523
BIND	1,0 ± 0,10	0,99 ± 0,21	1,16 ± 4,38	0,757
ALB	3,52 ± 0,10	3,51 ± 0,21	3,55 ± 13,34	0,946
PT	1,61 ± 0,26	1,61 ± 0,55	1,45 ± 0,64	0,902
PTT	27,38 ± 0,32	27,52 ± 0,63	24,0 ± 25,41	0,029*
PLAQ	169,9 ± 9,50	168,10 ± 18,32	213,0 ± 15,62	0,359
HB	11,67 ± 0,26	11,6771 ± 0,5	11,6 ± 34,3	0,954

Se muestran el promedio y la desviación estándar de: AST: Aspartato aminotransferasa, ALT: Alanina transaminasa, ALP: Fosfatasa Alcalina, GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa, BT: Bilirrubina total. BD: Bilirrubina directa, BIND: Bilirrubina indirecta, ALB: Albúmina, PT: tiempo de protrombina, PTT: tiempo parcial de tromboplastina, PLAQ: Plaquetas, HB: Hemoglobina. *Denota diferencias estadísticamente entre los promedios (p < 0,05).

Análisis comparativo del perfil hepático entre individuos infectados con el con VHC agrupados de acuerdo al gen *KIR3DS1*

Al realizar el análisis del perfil hepático entre individuos infectados con el VHC no se observaron diferencias significativas. Sin embargo, se observó una concentración mayor de plaquetas en los pacientes con el gen *KIR3DS1* con respecto a los individuos sin este gen, pero esta diferencia no fue significativa. En contraste, las concentraciones de alanina transaminasa (ALT) y gamma-glutamil transpeptidasa (GGT) fue menor en los pacientes con el gen *KIR3DS1*, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (P > 0,05). Finalmente, entre los pacientes con y sin *KIR3DS1*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de AST, ALP, bilirrubina total, directa, indirecta, albumina y hemoglobina, así como en los valores de PT y PTT (Tabla 6).

Tabla 6. Análisis comparativo del perfil hepático entre pacientes con VHC agrupados de acuerdo al gen *KIR3DS1*. Servicio de Gastroenterología del Hospital General del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño” Año 2020.

	Total (n=50)	<i>KIR3DS1</i> Presente (n=22)	<i>KIR3DS1</i> Ausente (n=28)	Valor p
AST	95,32 ± 15,25	90,05 ± 45,9	96,96 ± 44,9	0,828
ALT	128,04 ± 30,82	110,96 ± 79,28	141,46 ± 95,69	0,628
ALP	147,54 ± 8,93	144,32 ± 28,52	150,07 ± 24,55	0,752
GGT	50,74 ± 3,97	43,05 ± 8,61	56,79 ± 12,60	0,086
BT	1,64 ± 0,15	1,77 ± 0,54	1,54 ± 0,37	0,455
BD	0,65 ± 0,06	0,71 ± 0,22	0,60 ± 0,15	0,398
BIND	1,0 ± 0,10	1,05 ± 0,34	0,96 ± 0,26	0,656
ALB	3,52 ± 0,10	3,51 ± 0,33	3,52 ± 0,28	0,960
PT	1,61 ± 0,26	1,4 ± 0,14	1,76 ± 0,93	0,496
PTT	27,38 ± 0,32	27,36 ± 1,03	27,39 ± 0,88	0,964
PLAQ	169,9 ± 9,50	190,7 ± 37,44	153,6 ± 17,44	0,051
HB	11,67 ± 0,26	11,9 ± 0,92	11,5 ± 0,65	0,461

Se muestran el promedio y la desviación estándar de: AST: Aspartato aminotransferasa, ALT: Alanina transaminasa, ALP: Fosfatasa Alcalina, GGT: Gamma-glutamil transpeptidasa, BT: Bilirrubina total. BD: Bilirrubina directa, BIND: Bilirrubina indirecta, ALB: Albúmina, PT: tiempo de protrombina, PTT: tiempo parcial de tromboplastina, PLAQ: Plaquetas, HB: Hemoglobina. *Denota diferencias estadísticamente entre los promedios (p < 0,05).

Relación de la presencia del gen *KIR3DL1* y *KIR3DS1* con la presencia de comorbilidades.

Se observó una mayor frecuencia del gen *KIR3DL1* y *KIR3DS1* en pacientes con cirrosis, seguido de aquellos pacientes con hígado graso. No se observaron diferencias significativas entre la presencia o ausencia de los genes *KIR3D* (*L1/S1*) y la presencia de comorbilidades (Tabla 7).

Tabla 7. Relación de la presencia del gen *KIR3DL1* y *KIR3DS1* con la presencia de comorbilidades. Servicio de Gastroenterología del Hospital General del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño” Año 2020.

Comorbilidades	<i>KIR3DL1</i> Presente (n=48)	<i>KIR3DS1</i> Presente (n=22)
Hígado graso	50 (25)	28 (14)
Cirrosis	60 (30)	30 (15)
Hepatocarcinoma	2 (1)	2 (1)
Hepatitis autoinmune	2 (1)	2 (1)
Obesidad	12 (6)	8 (4)
Hipertensión	46 (23)	22 (11)
Diabetes Mellitus	30 (15)	12 (6)
Alcohol	46 (23)	50 (25)
Drogas ilícitas inyectables	8 (4)	8 (4)

La frecuencia se muestra en porcentajes y entre paréntesis se indica el número de individuos.

Relación de la carga viral de los individuos infectados con el VHC según la presencia de los genes *KIR3DL1* y *KIR3DS1*.

Del 96% de los pacientes con presencia del gen *KIR3DL1*, 48% tenían una carga viral baja (<50000 copias), 32% carga viral media (50000-1000000 copias) y 16% carga viral alta (>1000000). Sin embargo, no se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar la carga viral entre los pacientes con y sin el gen *KIR3DL1* (p=0,1569). Asimismo, el 38 % de los pacientes con presencia del gen *KIR3DS1*, 18% presentaban carga viral baja, 18% carga viral media y 2% carga viral alta. Sin embargo, no se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar la carga viral entre los pacientes con y sin el gen *KIR3DS1* (p=0,6732).

Discusión

La infección por el virus de hepatitis C (VHC), es una de las principales causas de hepatopatía crónica en el mundo¹. La

evolución natural de la infección es muy variable, pudiendo resultar desde cambios histológicos mínimos a fibrosis extensa y cirrosis, con o sin hepatocarcinoma¹⁰. Sin embargo, en las últimas décadas gracias a una mejor comprensión de la fisiopatología de la enfermedad y debido a la evolución de los procedimientos de diagnóstico y mejoras en el tratamiento y la prevención, se ha logrado disminuir la progresión del daño hepático.

Múltiples investigaciones se han centrado en el papel de la respuesta inmunitaria innata contra el VHC, mediada principalmente por las células citotóxicas naturales (NK), que son fundamentales en el control de la infección por VHC. Las células NK causan la lisis de las células infectadas, producen citoquinas, como interferón gamma, el cual activa los macrófagos, potencia la fagocitosis e induce la actividad microbicida. Además, las células NK potencian las respuestas tipo Th1 de los linfocitos T cooperadores, por la inducción de la producción de IL-12 por parte de los macrófagos y células dendríticas¹¹. Durante la infección por el VHC se ha observado una sobre regulación de los receptores KIR, que pueden interferir con la activación y la función de las células inmunitarias que median la inmunidad innata, generando una reducción en la proporción de las células NK y su función citotóxica en sangre periférica y en hígado de individuos infectados por el VHC¹².

Considerando el papel que juegan los receptores KIR en la patogénesis y la resistencia a las infecciones virales, en el presente trabajo se propuso determinar la distribución de los genes *KIR3DL1* y *KIR3DS1* en individuos infectados con el VHC y el papel que estos pudiesen desempeñar en la patogénesis de la enfermedad.

Se evaluaron 50 pacientes con diagnóstico de infección por VHC, con un rango de edad entre 18-81 años y una proporción 1,3 mujeres por cada hombre, en concordancia a lo descrito por la literatura.

La genotipificación del VHC mostró un predominio del genotipo 1a (16 %), seguido por el 1b (13 %) y el 2b (8 %). En un estudio venezolano publicado en 2009, por Fortes M y colaboradores, en el cual se analizó el genotipo del VHC de 816 pacientes, se observó el genotipo 1 en 527 (65,1%) de los pacientes, con una proporción 2:1 para genotipo 1b/1a, mientras que el genotipo 2 se observó en 279 pacientes (34,4%). Los genotipos 3, 4 y 5 solo fueron identificados en un caso cada uno (sumando un 0,5%). Este estudio concluyó que el genotipo 1b era el genotipo predominante en la población venezolana¹³, sin embargo, en el presente estudio observamos una mayor proporción del genotipo 1 a.

El análisis de frecuencia de los genes *KIR3D* mostró una frecuencia incrementada del gen *KIR3DL1* (96%) y una menor frecuencia del gen *KIR3DS1* (38%) con respecto a la frecuencia descrita por Conesa y colaboradores en población venezolana sana (90,2% y 43,9%, respectivamente)¹⁴. No obstante, estas diferencias no son estadísticamente significativas. Nuestros resultados concuerdan con el estudio realizado por Dring y colaboradores, en 543 pacientes infectados con VHC, en el cual

observaron una frecuencia de 96,6% del gen inhibidor *KIR3DL1* y de 40,5% del gen activador *KIR3DS1*⁴.

Con respecto al perfil hepático, se observó un incremento estadísticamente significativo de aspartato aminotransferasa y un tiempo parcial de tromboplastina prolongado en los pacientes con el gen *KIR3DL1*. Al relacionar la presencia de los genes *KIR3DL1* y *KIR3DS1* con las comorbilidades, observamos que estos genes estaban presentes en pacientes con cirrosis, seguido de aquellos con hígado graso, hipertensión arterial y consumo de alcohol. Sin embargo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de los genes *KIR3D* y las comorbilidades estudiadas. Finalmente, no se observaron diferencias significativas en cuanto a la carga viral, entre pacientes con o sin los genes *KIR3DL* y *KIR3DS1*, sugiriendo la participación de otros receptores expresados en la superficie de las células NK.

Los resultados fortalecen que la actividad de las células NK está finamente regulada por un grupo de receptores activadores e inhibidores, cuyo balance final, luego de interactuar con su ligando específico, favorecerá o no a la activación de la célula frente a la célula blanco¹⁵. En virtud de ello, sería relevante incrementar el número de individuos infectados con VHC, estudiar el perfil KIR, es decir los 15 genes KIR (*KIR2DL1*, *KIR2DL2/L3*, *KIR2DL4*, *KIR2DL5A*, *KIR2DL5B*, *KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS4*, *KIR2DS5*, *KIR3DL1/S1*, *KIR3DL2*, *KIR3DL3* y dos pseudogenes: *KIR2DP1* y *KIR3DP1*) para establecer los haplotipos característicos en estos pacientes, y finalmente, estudiar la variabilidad de estos genes. Por ejemplo, el gen *KIR3DL1* es altamente polimórfico, variabilidad que se ha sugerido influye en la función de este receptor, así como en la modulación de la cantidad de receptor expresado en la superficie celular¹⁶.

Por lo tanto, un desequilibrio de los genes KIR activadores e inhibidores podría influir en la patogénesis de la infección por virus de hepatitis C, ya que la sobreactivación de las células NK o la pérdida de la inhibición de las células efectoras (NK/células T), podría conllevar al desarrollo de las complicaciones clínicas crónicas, mientras que la inhibición de las funciones de las células NK (citotóxicas y reguladoras, como es la producción de citoquinas) favorecería la infección viral.

Conclusiones

Los individuos infectados con el VHC mostraron una frecuencia incrementada del gen inhibidor *KIR3DL1* y una baja frecuencia del gen activador *KIR3DS1*, desbalance que pudiese explicar la susceptibilidad de estos individuos a infectarse con el VHC. Asimismo, un gran porcentaje de los pacientes presentaban daño hepático, posiblemente debido a la baja actividad de las células NK, es decir, un predominio de señales inhibitorias en las células NK no controlaría la viremia, incrementando así la progresión de la infección y el daño hepático. Sin embargo, se requiere hacer un seguimiento en el tiempo de los individuos infectados.

Referencias

1. Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 2 (3): 161-76.
2. WHO. Hepatitis C. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>.
3. Cheent K, Khakoo SI. Natural killer cells and hepatitis C: Action and reaction. *Gut.* 2011; 60 (2): 268-78.
4. Orange JS. Human natural killer cell deficiencies and susceptibility to infection. *Microb Infect.* 2002; 4 (15): 1545-58
5. Lanier L. Up on the tightrope: Natural killer cell activation and inhibition. *Nat Immunol.* 2008; 9: 495-502.
6. Bashirova AA, Martin MP, McVicar DW, Carrington M. The Killer Immunoglobulin-Like Receptor gene cluster: tuning the genome for defense. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2006; 7: 277-300.
7. Bunce M. Histocompatibility testing. Lidwell and Navarrette C. Imperial College Press, London. 2000; 167-76.
8. Zhuang YL, Song Y, Zhu C, Zhang Y, Wang D, Nie X, et al. Association of KIR genotypes and haplotypes with syphilis in a Chinese Han population. *Scand J Immunol.* 2012;75(3): 361-67.
9. Olsson, M.L. A clinically applicable method for determining the three major alleles at the Duffy (FY) blood group locus using polymerase chain reaction with allele-specific primers. *Transfusion.* 1998; 38(2):168-73.
10. European Union HCV Collaborators. Hepatitis C virus prevalence and level of intervention required to achieve the WHO targets for elimination in the European Union by 2030: a modelling study. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2017; 2 (5): 325-36.
11. Tabora NA, Hernández JC, Montoya CJ, Rugeles MT. Las células natural killer y su papel en la respuesta inmunitaria durante la infección por el virus de inmunodeficiencia humana tipo-1. *Inmunología.* 2014; 33(1):11-20.
12. Chigbu DG, Loonawat R, Sehgal M, Patel D, Jain P. Hepatitis C Virus Infection: Host-Virus Interaction and Mechanisms of Viral Persistence. *Cells.* 2019; 8(4):376
13. Fortes MP, Trompiz A, Canonico Y Vargas- Lovelle B, Machado IV, La frecuencia del genotipo I del virus de hepatitis c no ha variado en Venezuela. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2009; 24 (3): 256-58.
14. Conesa A, Fernández-Mestre M, Padrón D, Toro F, Silva N, Tassinari P et al. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in the mestizo population from Venezuela. *Tissue Antigens.* 2010; 75(6):724-9
15. Dring MM, Morrison MH, McSharry BP, Guinan KJ, Hagan R et al. Innate immune genes synergize to predict increased risk of chronic disease in hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108 (14): 5736-41.
16. O'Connor GM, McVicar DW. The Yin-Yang of *KIR3DL1/S1*: Molecular Mechanisms and Cellular Function. *Crit Rev Immunol.* 2013; 33(3):203-18.