Hospital San Pedro

Rioja Salud
Departamento de Enfermedades Infecciosas

CIBIR
Centro de Investigación Biomédica de La Rioja

XIIII CURSO AVANCES EN INFECCION VIIH Y HEPATITIS VIRALES

¿Qué sucede en la microbiota intestinal tras la eliminación del VHC?

José A. Oteo-Revuelta

jaoteo@riojasalud.es

Vigo, 3 de febrero de 2018

Agenda

Conceptos generales

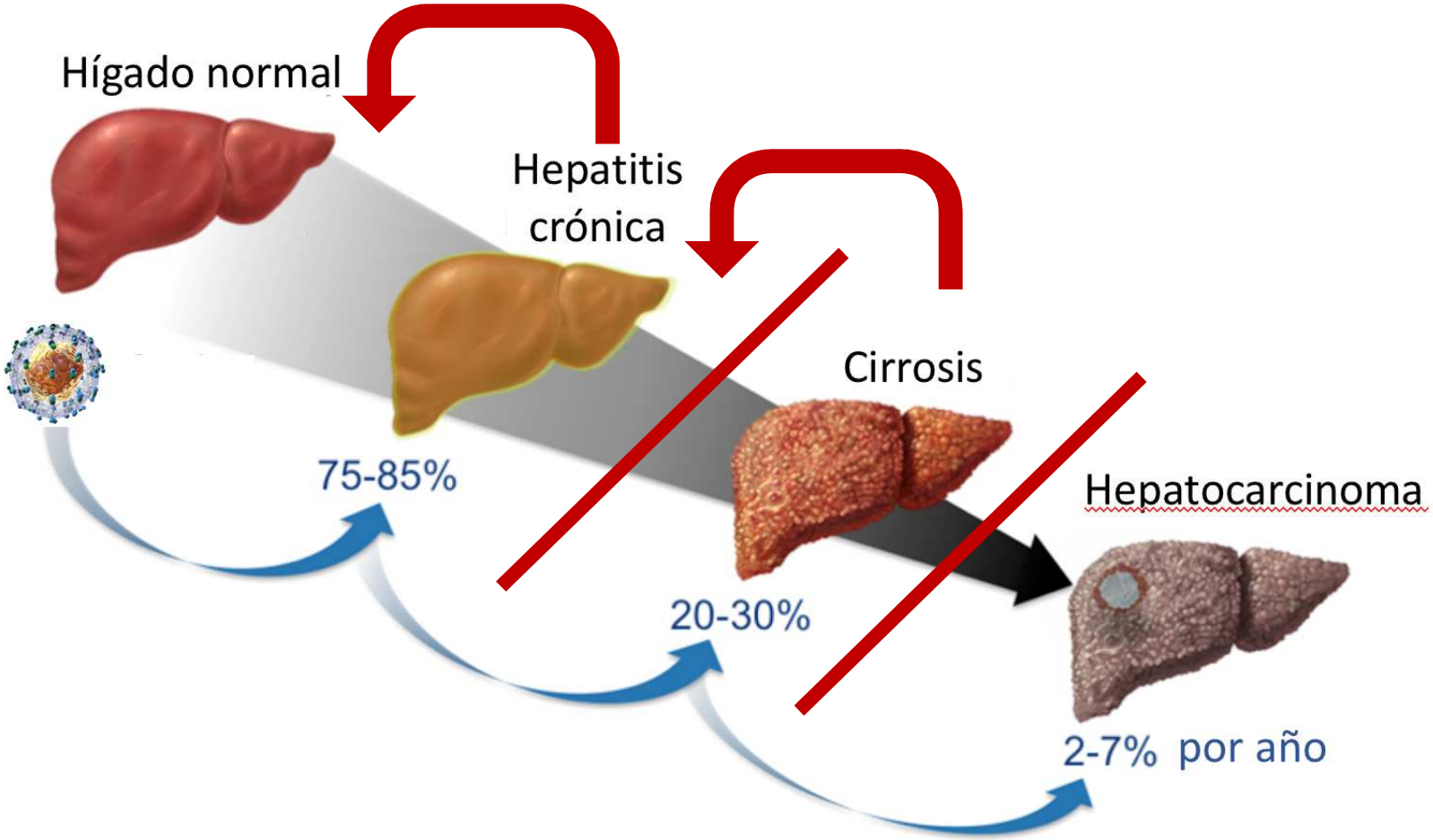
Revisión literatura relacionada

Cambios a corto plazo en la microbiota en pacientes VHC tratados con AAD y RVS

Infección por el VHC

- Causa más frecuente de hepatopatía crónica, cirrosis y hepatocarcinoma.
- Posibilidad de erradicación del VHC con los nuevos antivirales de acción directa.
- Cambio de la historia natural de la infección.

Tratamiento de la infección por el VHC



Detención de la progresión de la enfermedad

mejoría de la arquitectura y función deteriorada

Infección por el VHC

Infección no limitada únicamente al hígado

Manifestaciones extra-hepáticas muy comunes
(hasta en el 75% de los infectados)

Infección por el VHC
manifestaciones extra-hepática

ORGANO - SISTEMA	MANIFESTACIONES
Hematológico	Crioglobulinemia m Trombocitopen Linfoma no
Autoinmunes	Tiroi S is reumatoide
Renal	Glomerulonefritis
Piel	Porfiria hepatocutanea Eritema nodoso Liquen plano …
Glándulas	Sialoadenitis
Ojos	Ulcera corneal de Mooren Uveitis
anea	Fibrosis pulmonar – vasculitis pulmonar Síndrome antifosfolípido Diabetes . . .

ESTADO INFLAMATORIO CRÓNICO - AUTOINMUNIDAD

Infección por el VHC

Infección no limitada únicamente al hígado

Manifestaciones extra-hepáticas muy comunes
(hasta en el 75% de los infectados)

Incremento de la morbi-mortalidad

VIROLOGY 248, 164–171 (1998)
ARTICLE NO. VY989269

Hepatitis C Virus Quasispecies in Patients Infected with HIV-1: Correlation with Extrahepatic Viral Replication

Tomasz Laskus,*,[1] Marek Radkowski,* Lian-Fu Wang,* Sook Jin Jang,* Hugo Vargas,† and Jorge Rakela*,†

*Division of Transplantation Medicine, Thomas E. Starzl Transplantation Institute, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania 15213; and †Division of Gastroenterology and Hepatology, University of Pittsburgh Medical Center, Pittsburgh, Pennsylvania 15213

Hepatit
tissues fr
polymorp
patients n
in the sam
patient an
circulating
of HCV RN
These two
tissues st

© 1998 Acad

Probado linfotropismo

GASTROENTEROLOGY 2006;130:1107–1116

Productive Replication of Hepatitis C Virus in Perihepatic Lymph Nodes In Vivo: Implications of HCV Lymphotropism

SAMPA PAL,* DANIEL G. SULLIVAN,* SEAN KIM,† K. KAY–YIN LAI,* JOHN KAE,* SCOTT J. COTLER,§ ROBERT L. CARITHERS Jr,¶ BRENT L. WOOD,* JAMES D. PERKINS,‖ and DAVID R. GRETCH*,¶

*Department of Laboratory Medicine, University of Washington Medical Center, Seattle, Washington; †Department of Developmental and Cell Biology, UC Irvine, Irvine, California; §Section of Hepatology, Rush-Presbyterian-St. Luke's Medical Center, Chicago, Illinois; ¶Department of Medicine, University of Washington Medical Center, Seattle, Washington; and ‖Department of Surgery, University of Washington Medical Center, Seattle, Washington

. . .

El VHC no solo infecta a los hepatocitos

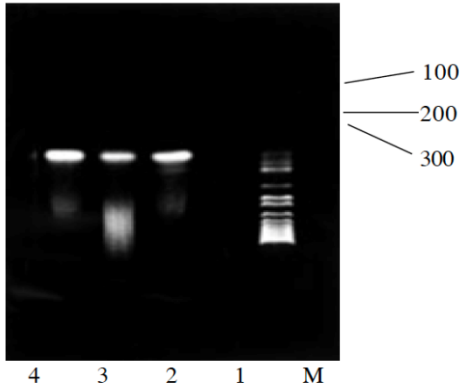
El VHC infecta y se replica en ganglios linfáticos

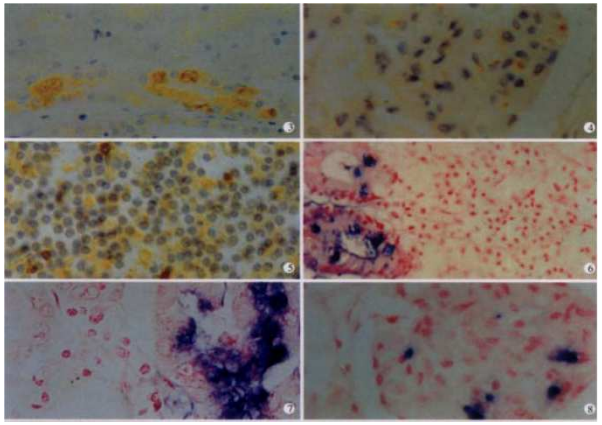
PO Box 2345, Beijing 100023, China
Fax: +86-10-85381893
E-mail: wjg@wjgnet.com www.wjgnet.com

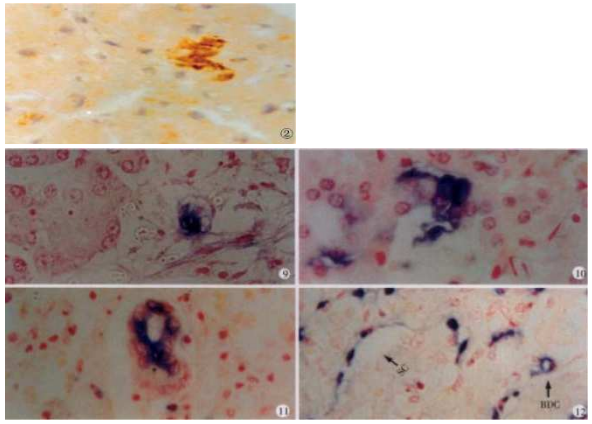
World J Gastroenterol, 2000; 6(6):805-811
World Journal of Gastroenterology
Copyright©2000 by the WJG Press ISSN 1007-9327

Hepatitis C virus may infect extrahepatic tissues in patients with hepatitis C

Fu Ming Yan[1], An Shen Chen[1], Fei Hao[2], Xi Ping Zhao[3], Chang Hai Gu[2], Li Bin Zhao[1], Dong Liang Yang[3] and Lian Jie Hao[3]







El VHC se ha encontrando infectando y/o replicándose en células mononucleares, renales, vejiga, miocardio, páncreas, suprarrenales e intestino humanos

Journal of Viral Hepatitis, 2016, **23**, 536–544 doi:10.1111/jvh.12518

The anti-lymphoma activity of antiviral therapy in HCV-associated B-cell non-Hodgkin lymphomas: a meta-analysis

J. Peveling-Oberhag,[1] L. Arcaini,[2,3] K. Bankov,[1] S. Zeuzem[1] and E. Herrmann[4] [1]*Department of Internal Medicine 1, Goethe-University Hospital, Frankfurt, Germany;* [2]*Department of Hematology Oncology, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italy;* [3]*Department of Molecular Medicine, University of Pavia, Pavia, Italy; and* [4]*Institute for Biostatistics and Mathematical*

N Engl J Med, Vol. 347, No. 2 · July 11, 2002

SPLENIC LYMPHOMA WITH VILLOUS LYMPHOCYTES AND HEPATITIS C VIRUS

REGRESSION OF SPLENIC LYMPHOMA WITH VILLOUS LYMPHOCYTES AFTER TREATMENT OF HEPATITIS C VIRUS INFECTION

Olivier Hermine, M.D., Ph.D., François Lefrère, M.D., Jean-Pierre Bronowicki, M.D., Ph.D., Xavier Mariette, M.D., Ph.D., Katayoun Jondeau, M.D., Virginie Eclache-Saudreau, M.D., Béatrice Delmas, M.D., Françoise Valensi, M.D., Patrice Cacoub, M.D., Christian Brechot, M.D., Ph.D., Bruno Varet, M.D., and Xavier Troussard, M.D.

En pacientes con LNH de células B infectados por el VHC tratar el VHC mejora la respuesta al tratamiento del linfoma e incluso provoca regresión

ORIGINAL ARTICLE

The effect of sustained virological response on the risk of extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection

Parag Mahale,[1,2,3] Eric A Engels,[1] Ruosha Li,[4] Harrys A Torres,[5] Lu-Yu Hwang,[2] Eric L Brown.[2] Jennifer R Kramer[2,3,6]

BMJ Mahale P, *et al*. *Gut* 2017;**0**:1–7. doi:10.1136/gutjnl-2017-313983 bsg 1

Copyright Article author (or their employer) 2017. Produced by BMJ Publishing Group Ltd (& BSG) under licence.

160.875 pacientes infectados por el VHC

31.143 recibieron tratamiento → 10.575 RVS

Reducción significativa del riesgo en pacientes con RVS de: crioglobulinemia, glomerulonefritis, porfiria CT, LNH, DM y ACV

No reducción de liquen plano y en enfermedad coronaria

El riesgo de enfermedad extra-hepática por VHC se reduce tras lograrse RVS

¿Qué tiene que ver el VHC con la microbiota?

El hombre como metaorganismo

(células propias + microorganismos)

Trillones de microorganismos

Rioja Salud
Departamento de Enfermedades Infecciosas

Proporción genes microbianos/genes humanos 100/1

Metagenoma

Se comparten procesos

Metagenoma

Los microorganismos comensales habitan en todas las superficies epiteliales del cuerpo en proporción 10/1 con las células del organismo: MICROBIOTA

Funciones de la Microbiota intestinal

- Procesar componentes digeribles e indigeribles de la dieta como los polisacáridos de las plantas.
- Mantenimiento de la barrera epitelial y capa de moco intestinal.
- Competencia con los bacterias patógenas.
- Síntesis de vitamina K y ácido fólico.
- Maduración del sistema inmune innato.
- Metabolismo de las sales biliares.
- Metabolismo de sustancias tóxicas potencialmente carcinogénicas.

Relación simbiótica con el huésped

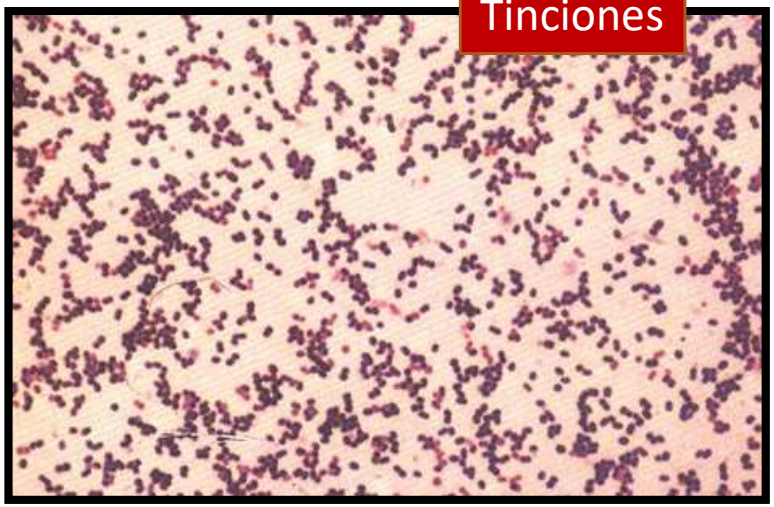
Patologías asociadas con alteraciones de la microbiota intestinal

Condition	References
Asthma	Abrahamsson *et al.* (2014)
AD	Karri, Martinez and Coimbatore (2010); Alam *et al.* (2014)
Atherosclerosis	Koren *et al.* (2011)
Autism spectrum disorders	Parracho *et al.* (2005); Finegold *et al.* (2010); Adams *et al.* (2011); Williams *et al.* (2011, 2012); De Angelis *et al.* (2013); Kang *et al.* (2013)
β-Cell autoimmunity	de Goffau *et al.* (2014)
Cardiovascular disease	Amar *et al.* (2011)
Crohn's disease	Seksik *et al.* (2003)
Chronic fatigue syndrome	Sheedy *et al.* (2009); Proal *et al.* (2013)
Cystic fibrosis	Scanlan *et al.* (2012); Bruzzese *et al.* (2014) ;Sánchez-Calvo *et al.* (2008); Duytschaever *et al.* (2011, 2013); Madan *et al.* (2012)
HIV/AIDS	Lozupone *et al.* (2013); McHardy *et al.* (2013); Vujkovic-Cvijin *et al.* (2013)
IgE-associated eczema	Abrahamsson *et al.* (2012)
Inflammation	Cani *et al.* (2008, 2012); Delzenne and Cani (2011); Delzenne *et al.* (2011)
Inflammatory bowel disease	Conte *et al.* (2006); Clemente *et al.* (2012); Manichanh *et al.* (2012); Morgan *et al.* (2012); Nagalingam and Lynch (2012); Bakhtiar *et al.* (2013)
Iron deficiency	Balamurugan *et al.* (2010); Zimmermann *et al.* (2010); Dostal *et al.* (2012, 2014)
Liver disease	Schnabl and Brenner (2014)
Multiple sclerosis	Berer *et al.* (2011)
Obesity	Delzenne and Cani (2011); Geurts *et al.* (2014)
Rheumatoid arthritis	Detert *et al.* (2010); Berer *et al.* (2011); Scher and Abramson (2011); Bingham and Moni (2013); Brusca, Abramson and Scher (2014); Catrina, Deane and Scher (2014); Cénit *et al.* (2014); Demoruelle, Deane and Holers (2014); Taneja (2014)
Parkinson's Disease	Scheperjans *et al.* (2015); Vizcarra *et al.* (2015)
Sarcoidosis	Almenoff *et al.* (1996)
Systemic lupus erythematosus	Hevia *et al.* (2014); Zhang *et al.* (2014a)
Symptomatic atherosclerosis/stroke	Karlsson *et al.* (2012)
Type 1 diabetes	Brown *et al.* (2012); Owen and Mohamadzadeh (2013); Petersen and Round (2014)
Type 2 diabetes	Larsen *et al.* (2010); Brown *et al.* (2012); Qin *et al.* (2012); Karlsson *et al.* (2013); Everard *et al.* (2014)

Potgieter et al. FEMS Microbiology Reviews 2015; 39:567-591

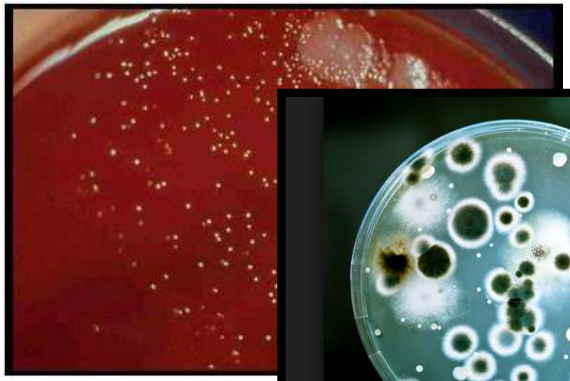
MAMI, MAMI ¿QUIEN FUE PRIMERO, EL HUEVO O NOSOTROS?
¡UH! PREPARATE, CLOTILDE, TU HIJO EMPEZÓ A HACER LAS PREGUNTAS DIFÍCILES
raciosos21.com

¿Cómo se estudia la Microbiota?



Tinciones

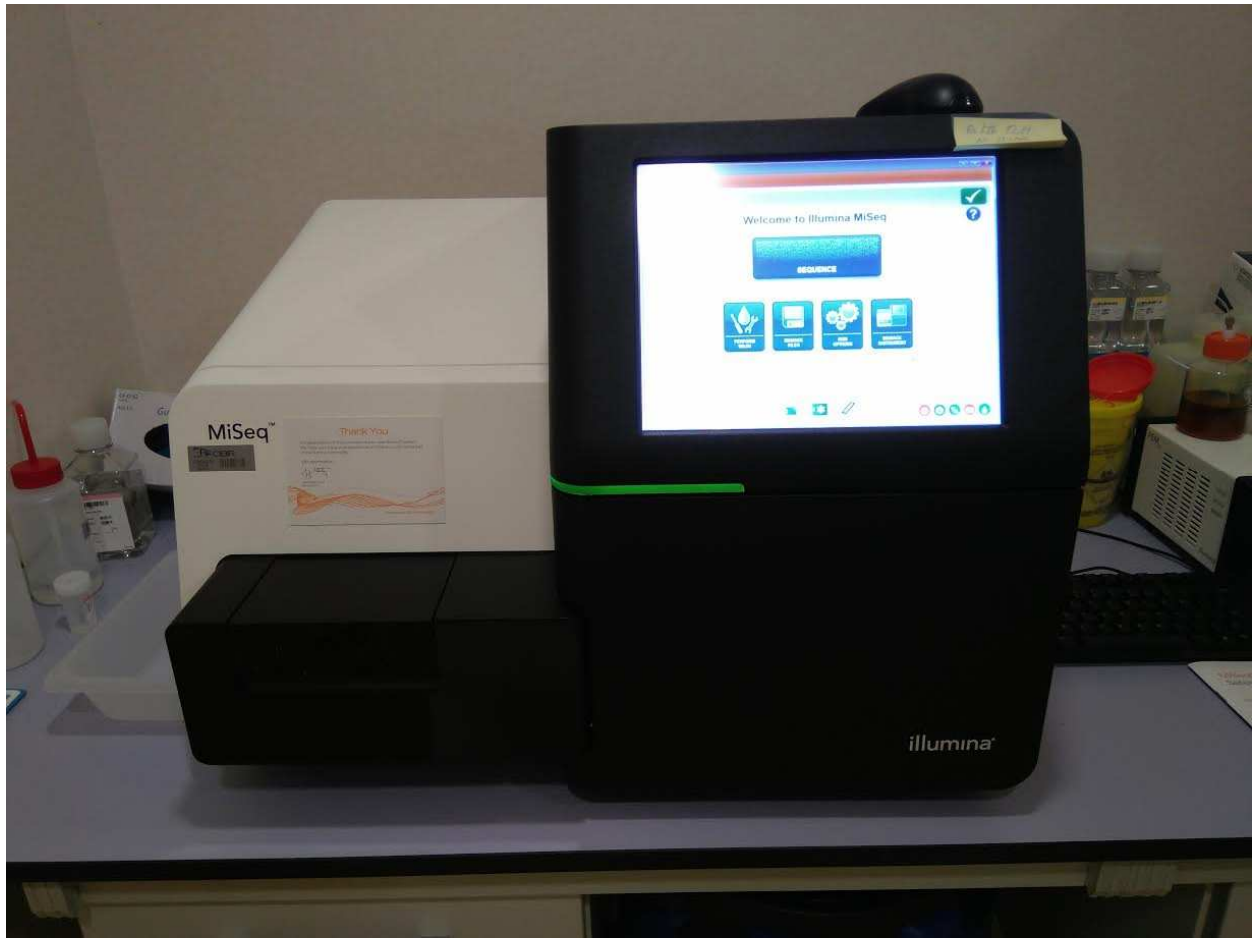
Microscopía electrónica



Cultivos

Técnicas de PCR

CIBR
Centro de Investigación Biomédica de La Rioja



TÉCNICAS DE METAGENÓMICA: estudio directo del conjunto de genomas de un determinado entorno (metagenoma) a partir de muestras de ese ambiente, sin necesidad de su aislamiento y cultivo

Secuenciación masiva del ARNr del 16s

HEPATOLOGY 2011; 54:562-572

Characterization of Fecal Microbial Communities in Patients with Liver Cirrhosis

Yanfei Chen,[1]* Fengling Yang,[1]* Haifeng Lu,[1] Baohong Wang,[1] Yunbo Chen,[1] Dajiang Lei,[1] Yuezhu Wang,[2] Baoli Zhu,[3] and Lanjuan Li[1]

Liver cirrhosis is the pathologic end stage of chronic liver disease. Increasing evidence suggests that gut flora is implicated in the pathogenesis of liver cirrhosis complications. The aim of this study was to characterize the fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis in comparison with healthy individuals. We recruited 36 patients with liver cirrhosis and 24 healthy controls. The fecal microbial community was analyzed by way of

Técnicas de Metagenómica

Curr Microbiol (2012) 65:7–13
DOI 10.1007/s00284-012-0105-8

Comparison of the Gut Microbe Profiles and Numbers Between Patients with Liver Cirrhosis and Healthy Individuals

Jianjun Liu · Dachang Wu · Ayaz Ahmed · Xinli Li · Yufang Ma · Li Tang · Dianjun Mo · Yue Ma · Yi Xin

Comunidades bacterianas distintas en cirrosis que en controles

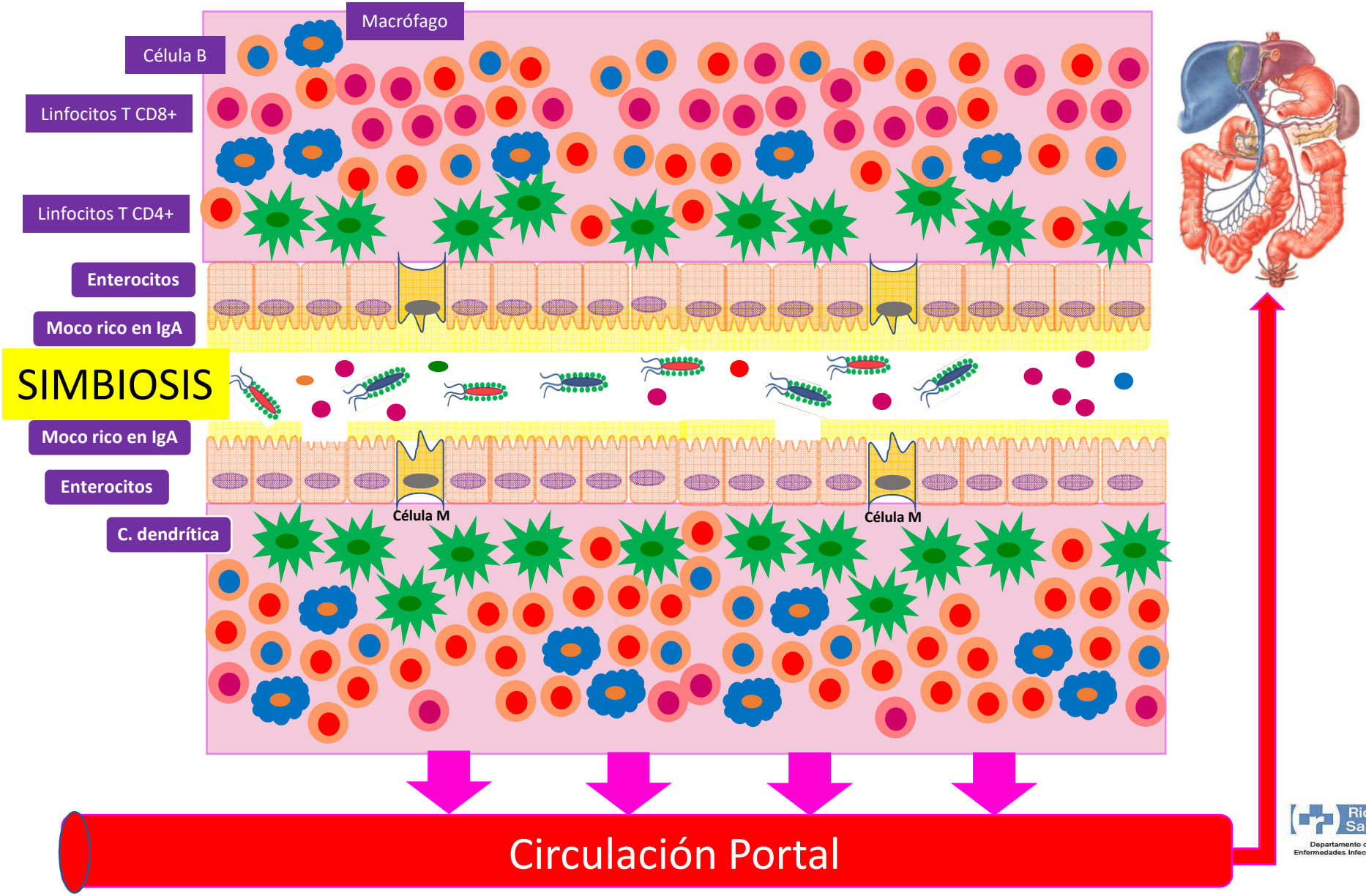
Los pacientes con cirrosis presentan menor diversidad bacteriana

Aumento del ratio bacterias perjudiciales/beneficiosas (disbiosis)

¿Por qué se altera la microbiota en la cirrosis?

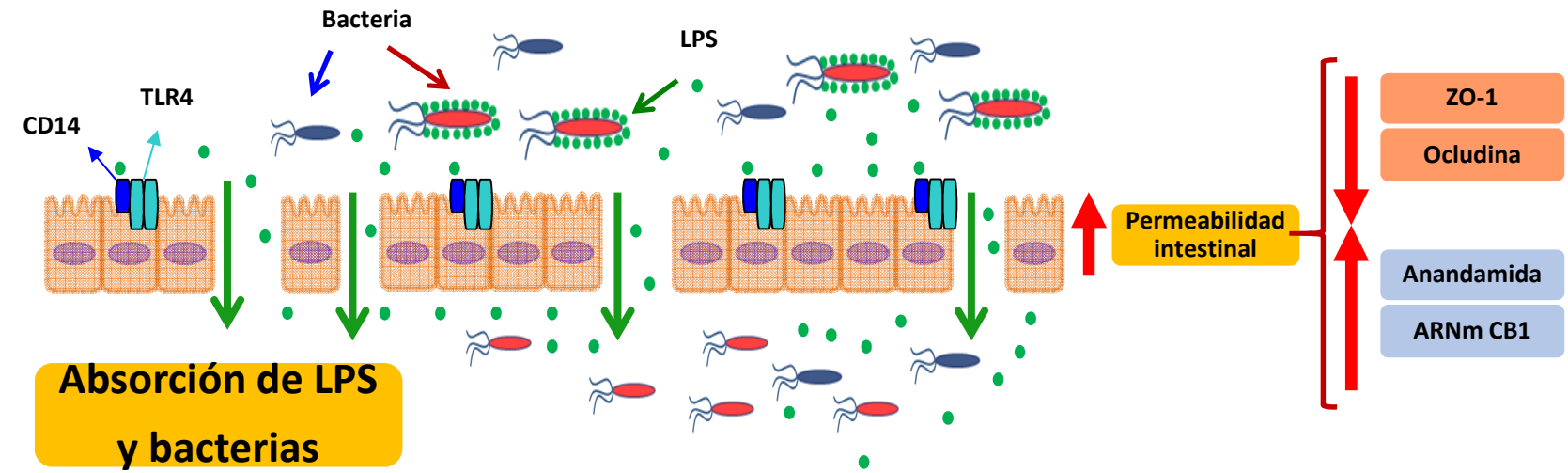
- Motilidad intestinal reducida
- Alteraciones del pH gástrico y de las secreciones pancreato-biliares
- Enteropatía secundaria a hipertensión portal
- Alcoholismo
- …

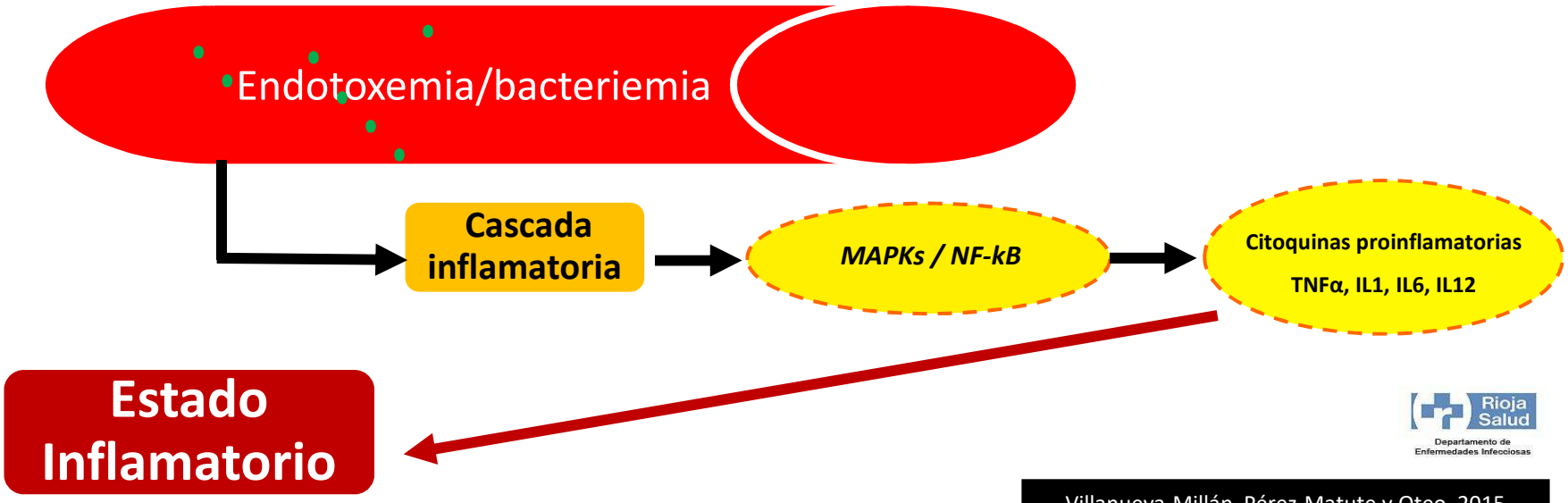
Estructura de la superficie intestinal



Rioja Salud
Departamento de Enfermedades Infecciosas

Translocación bacteriana

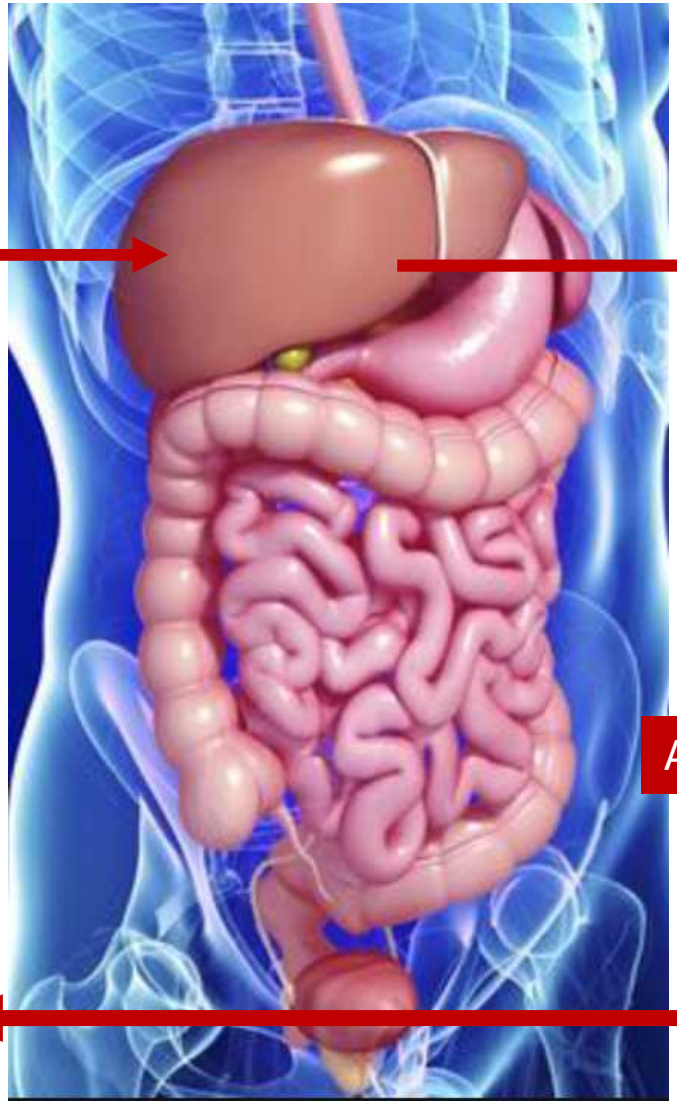




Rioja Salud
Departamento de Enfermedades Infecciosas

Villanueva-Millán, Pérez-Matute y Oteo 2015

Eje hepático-intestinal
(porta intestinal)



Daño hepático

Cascada inflamatoria

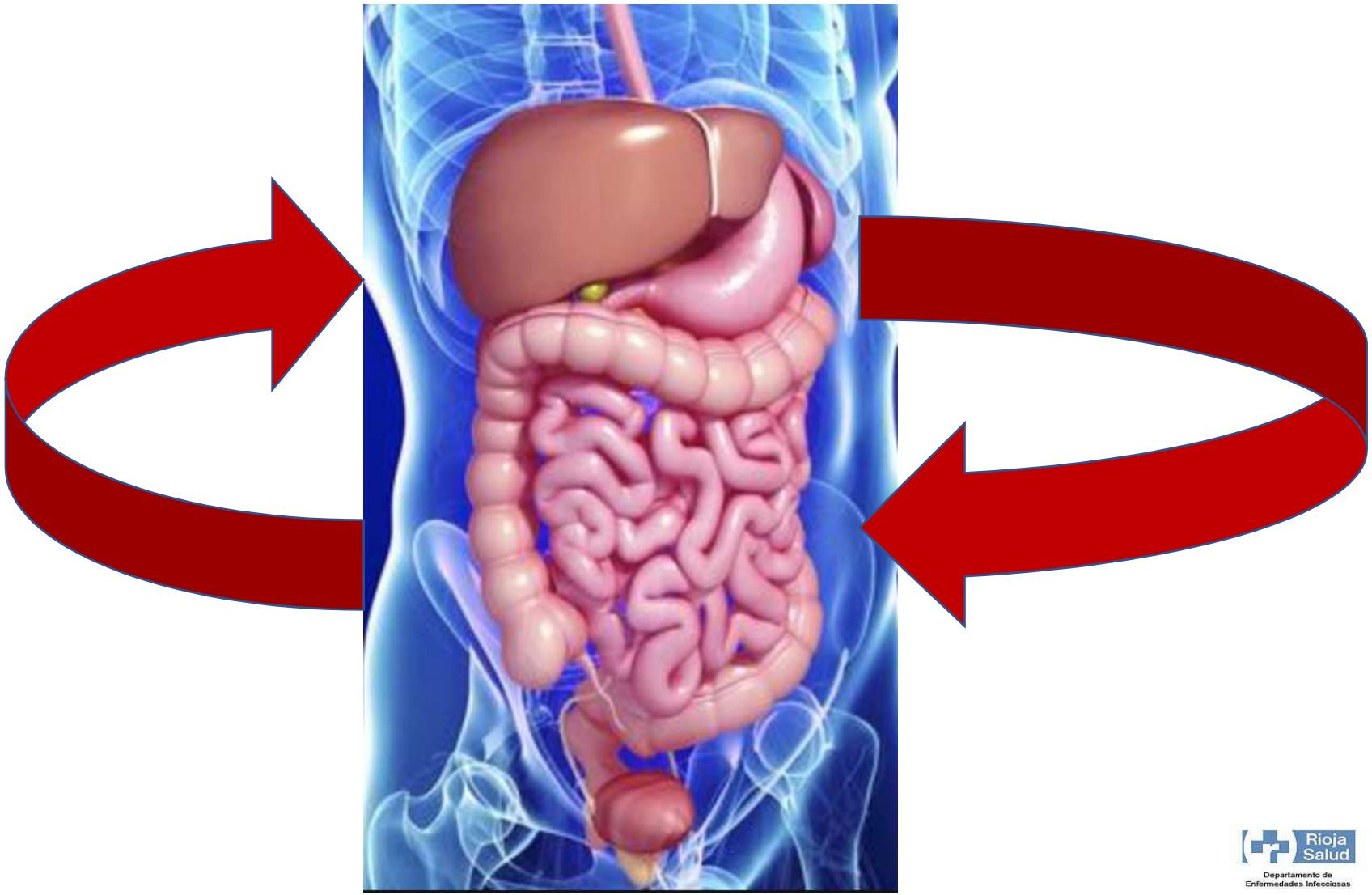
Translocación bacteriana

Alteraciones en la luz intestinal

Alteración Microbiota

Rioja Salud
Departamento de Enfermedades Infecciosas

Eje hepático-intestinal
(porta intestinal)



Rioja Salud
Departamento de Enfermedades Infecciosas

Journal of Hepatology **2014** vol. 60 | 940–947

Research Article

Cirrhosis

Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications

Jasmohan S. Bajaj[1,*], Douglas M. Heuman[1], Phillip B. Hylemon[2], Arun J. Sanyal[1], Melanie B. White[1], Pamela Monteith[1], Nicole A. Noble[1], Ariel B. Unser[1], Kalyani Daita[2], Andmorgan R. Fisher[3], Masoumeh Sikaroodi[3], Patrick M. Gillevet[3]

[1]*Division of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [2]*Department of Microbiology, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [3]*Microbiome Analysis Center, George Mason University, Manassas, VA, United States*

- 219 cirróticos → 53% VHC+
  121 compensados (68 VHC)
  54 descompensados externos (27 VHC)
  44 descompensados ingresados (24 VHC)
- 25 controles
  EE.UU

Estudio de la microbiota fecal mediante
Técnicas de pirosecuenciación del ARNr gen 16S

Journal of Hepatology **2014** vol. 60 | 940–947

Research Article

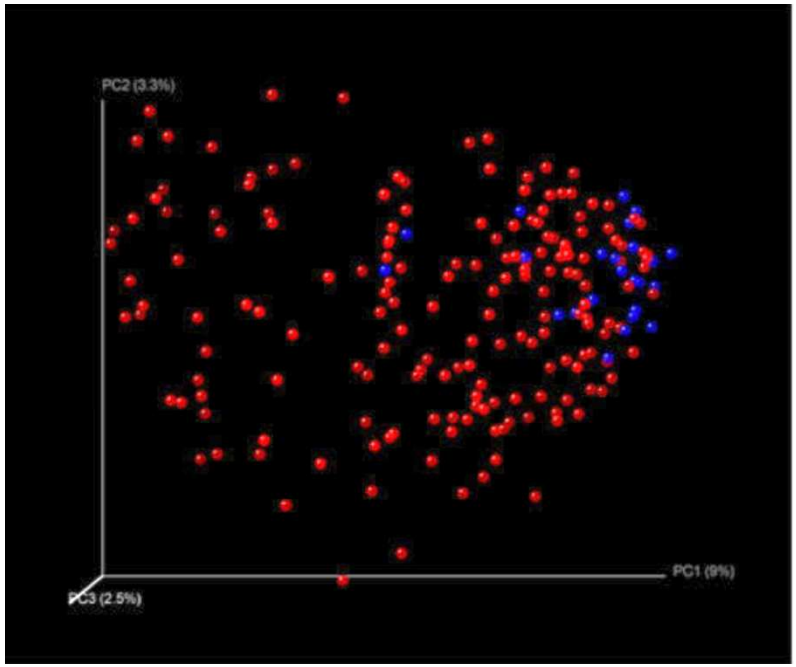
EASL | JOURNAL OF HEPATOLOGY

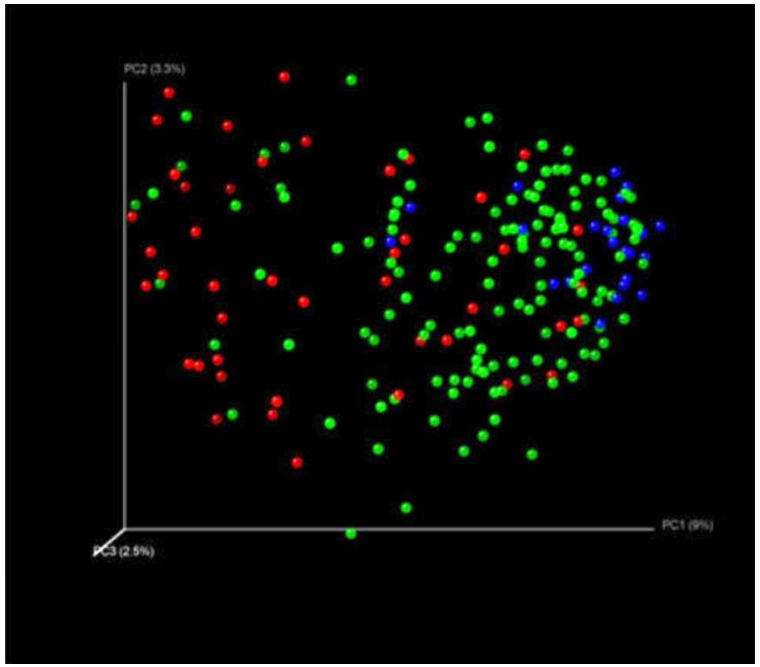
Cirrhosis

Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications

Jasmohan S. Bajaj[1,*], Douglas M. Heuman[1], Phillip B. Hylemon[2], Arun J. Sanyal[1], Melanie B. White[1], Pamela Monteith[1], Nicole A. Noble[1], Ariel B. Unser[1], Kalyani Daita[2], Andmorgan R. Fisher[3], Masoumeh Sikaroodi[3], Patrick M. Gillevet[3]

[1]*Division of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [2]*Department of Microbiology, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [3]*Microbiome Analysis Center, George Mason University, Manassas, VA, United States*





● Controles ● Cirrosis

● Controles ● Ci ingresados ● Ci externos

Cambios en la distribución de la microbiota entre cirróticos y controles

Los mayores cambios se observan en pacientes con descompensaciones

Journal of Hepatology **2014** vol. 60 | 940–947

Research Article

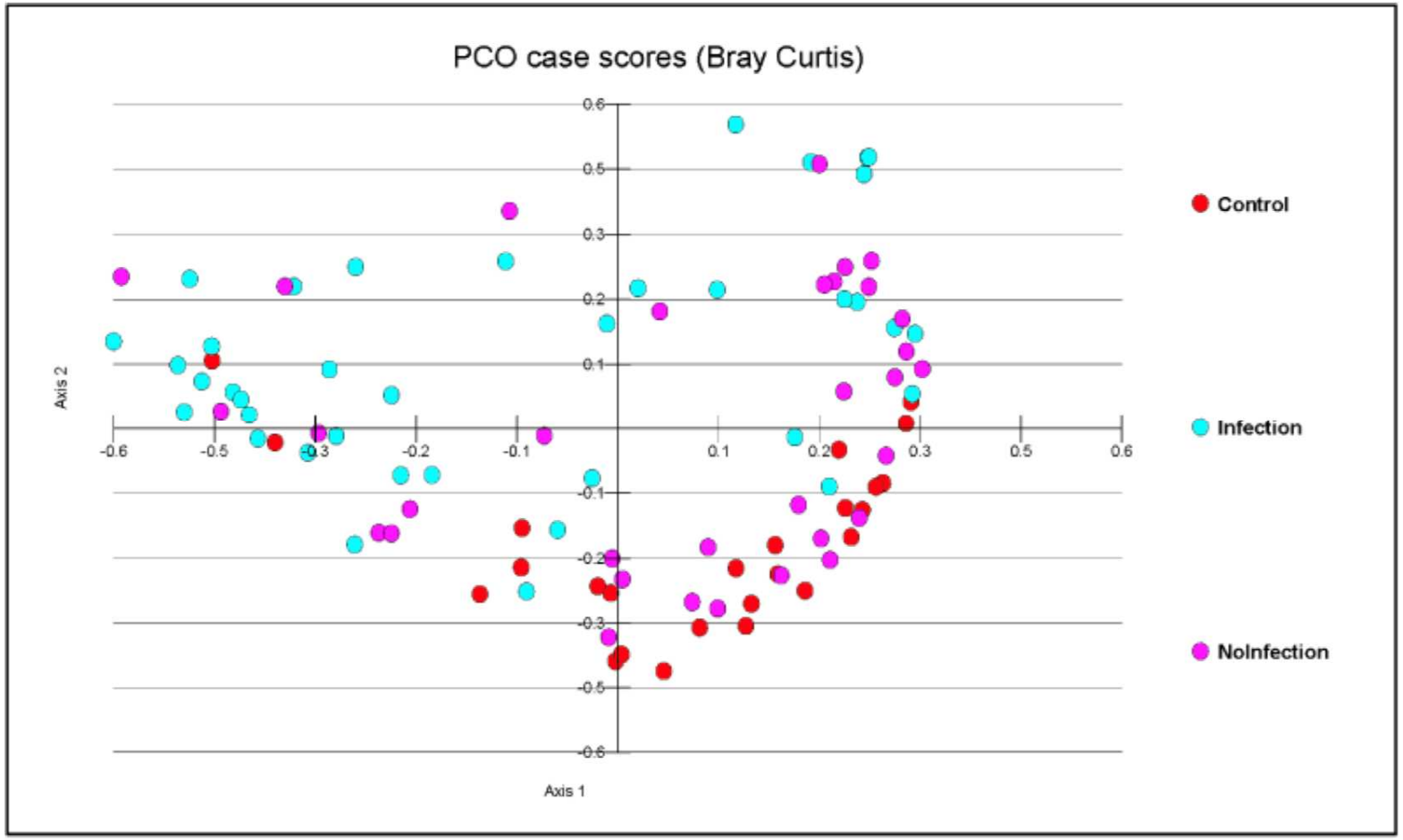
EASL | JOURNAL OF HEPATOLOGY

Cirrhosis

Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications

Jasmohan S. Bajaj[1,*], Douglas M. Heuman[1], Phillip B. Hylemon[2], Arun J. Sanyal[1], Melanie B. White[1], Pamela Monteith[1], Nicole A. Noble[1], Ariel B. Unser[1], Kalyani Daita[2], Andmorgan R. Fisher[3], Masoumeh Sikaroodi[3], Patrick M. Gillevet[3]

[1]*Division of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [2]*Department of Microbiology, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [3]*Microbiome Analysis Center, George Mason University, Manassas, VA, United States*



En el análisis PCO se observa como el patrón de la microbiota de los controles se agrupa con los cirróticos No infectados por el VHC

Journal of Hepatology **2014** vol. 60 | 940–947

Research Article

EASL EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER | JOURNAL OF HEPATOLOGY

Cirrhosis

Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications

Jasmohan S. Bajaj[1,*], Douglas M. Heuman[1], Phillip B. Hylemon[2], Arun J. Sanyal[1], Melanie B. White[1], Pamela Monteith[1], Nicole A. Noble[1], Ariel B. Unser[1], Kalyani Daita[2], Andmorgan R. Fisher[3], Masoumeh Sikaroodi[3], Patrick M. Gillevet[3]

[1]*Division of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [2]*Department of Microbiology, Virginia Commonwealth University and McGuire VA Medical Center, Richmond, VA, United States;* [3]*Microbiome Analysis Center, George Mason University, Manassas, VA, United States*

Descenso de bacterias beneficiosas

(Lachnospiraceae, Ruminococcaceae y Clostridiales)

Sobrecrecimiento relat. bacterias patógenas

Staphylococcaeae, Enterobacteriaceae, Enterococcaceae asociadas a progresión de enfermedad y endotoxemia

Alteraciones más severas se dan en los pacientes con complicaciones

Aly *et al. Gut Pathog* (2016) 8:42
DOI 10.1186/s13099-016-0124-2

Gut Pathogens

RESEARCH

Open Access

Gut microbiome alterations in patients with stage 4 hepatitis C

AbdelRahman Mahmoud Aly[1], AbdelReheem Adel[1], Ahmed Osama El-Gendy[2], Tamer M. Essam[3] and Ramy K. Aziz[3*]

6 pacientes con VHC en grado 4 fibrosis
8 individuos sanos
Egipto

Amplificación de la región V4 del ARNr del gen 16S

Mayor diversidad bacteriana en sanos

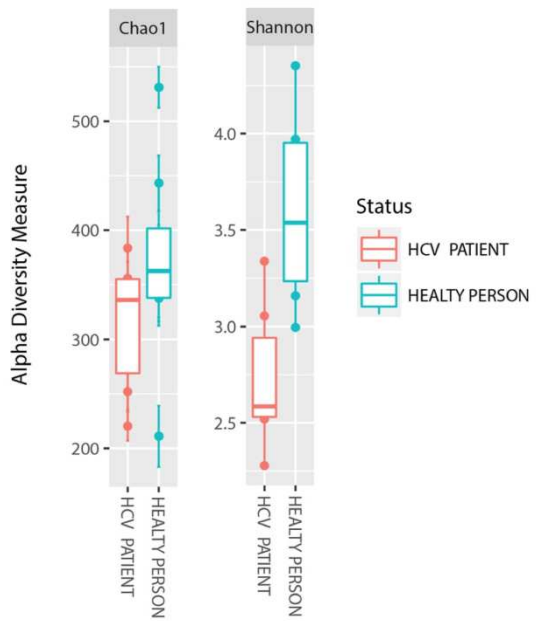
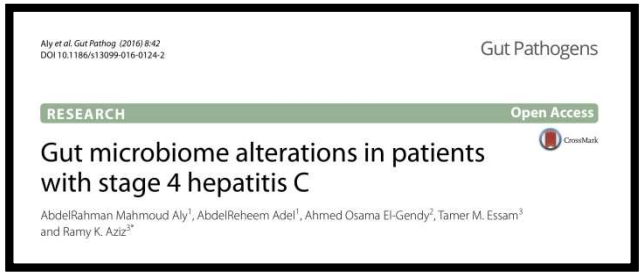


Fig. 1 Alpha diversity estimation in patients vs. control group (Chao and Shannon indexes)

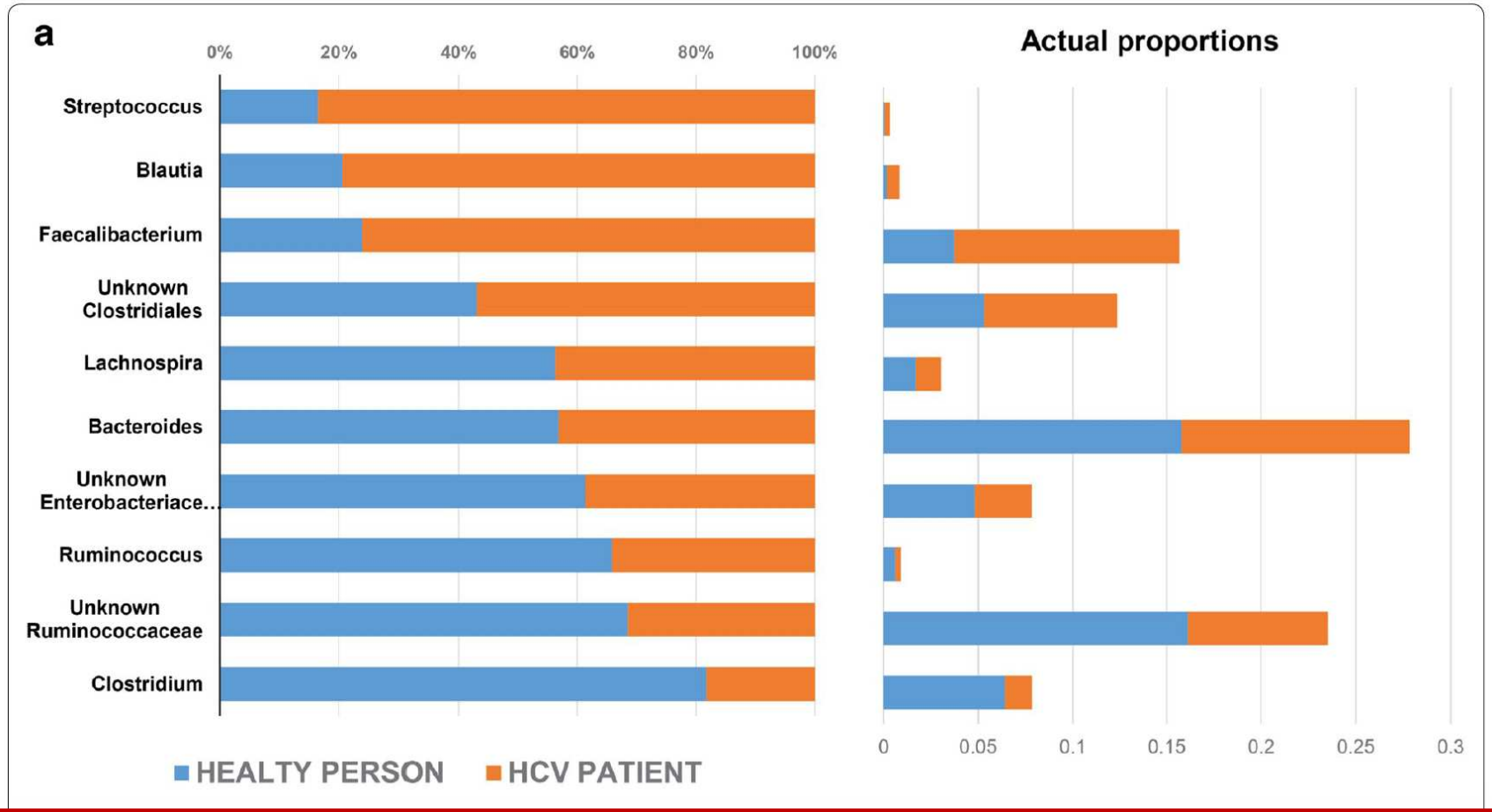

Aly et al. Gut Pathog (2016) 8:42
DOI 10.1186/s13099-016-0124-2

Gut Pathogens

RESEARCH Open Access

Gut microbiome alterations in patients with stage 4 hepatitis C

AbdelRahman Mahmoud Aly[1], AbdelReheem Adel[1], Ahmed Osama El-Gendy[2], Tamer M. Essam[3] and Ramy K. Aziz[2*]



La mayoría de los géneros estudiados tenían una distribución diferencial entre los pacientes con VHC y los sanos

Aly et al. Gut Pathog (2016) 8:42
DOI 10.1186/s13099-016-0124-2

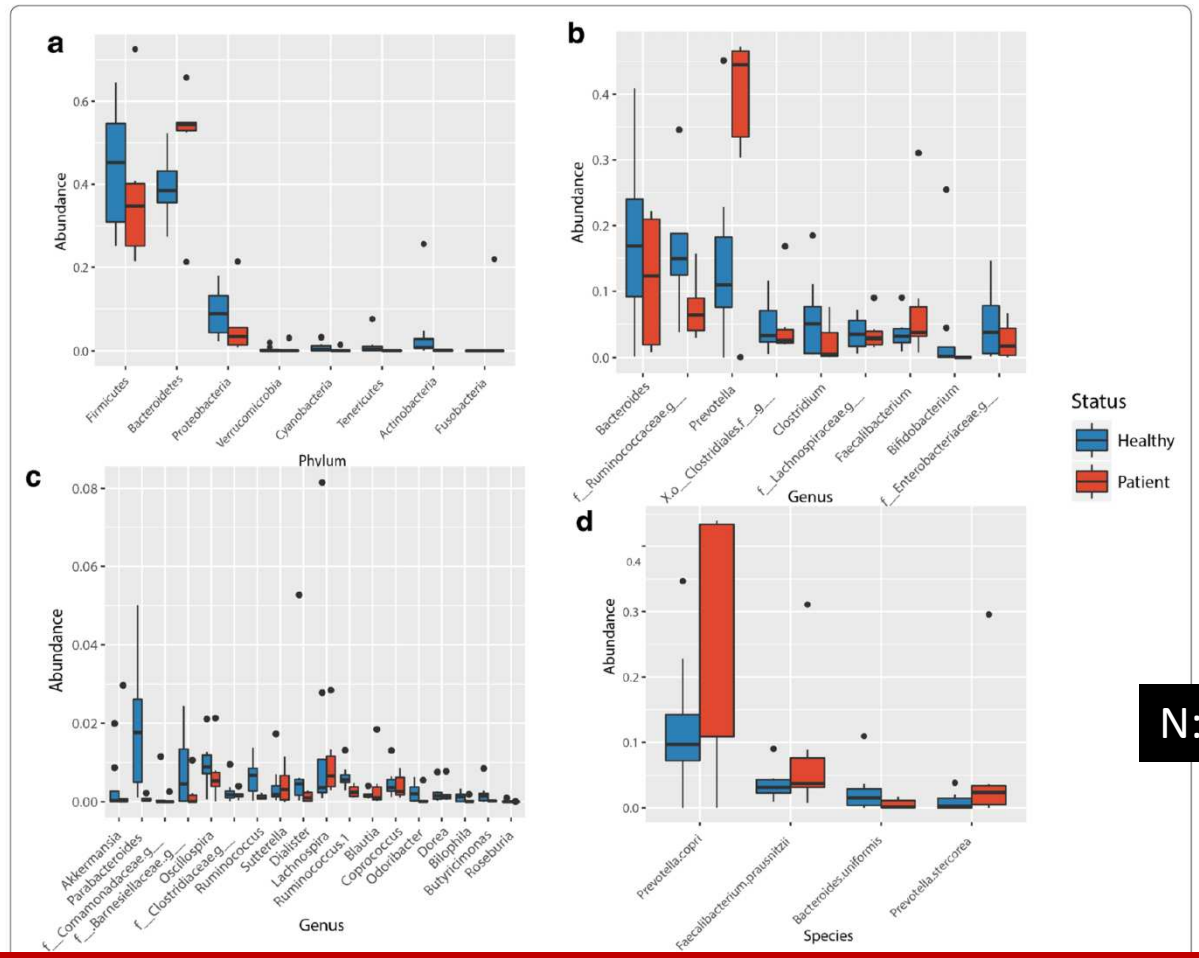
Gut Pathogens

RESEARCH Open Access

Gut microbiome alterations in patients with stage 4 hepatitis C

AbdelRahman Mahmoud Aly[1], AbdelReheem Adel[1], Ahmed Osama El-Gendy[2], Tamer M. Essam[3] and Ramy K. Aziz[3*]

Mayor ratio de Bacteroidetes en VHC y de Firmicutes en sanos



N: 6

Resultados diferentes a otros estudios en cirrosis al evaluar géneros con mayor abundancia en VHC de “bacterias buenas” como *Prevotella* o *Faecalibacterium*

Liver INTERNATIONAL

Volume 38, Issue 1
January 2018
Pages 50–58

Explore this journal >

ORIGINAL ARTICLE

Intestinal microbiota in patients with chronic hepatitis C with and without cirrhosis compared with healthy controls

Benjamin Heidrich, Marius Vital, Iris Plumeier, Nico Döscher, Silke Kahl, Janina Kirschner, Szilvia Ziegert, Philipp Solbach, Henrike Lenzen, Andrej Potthoff, Michael Peter Manns, Heiner Wedemeyer, Dietmar Helmut Pieper

35 pacientes con cirrosis VHC
57 pacientes VHC sin cirrosis
50 sujetos sanos Alemania

Amplificación de la región V1-V2 del ARNr del gen 16S

Menor diversidad de filos bacterianos en pacientes con cirrosis que sin cirrosis

Menor diversidad de filos bacterianos en pacientes VHC que en los controles

Liver INTERNATIONAL

Volume 38, Issue 1
January 2018
Pages 50–58

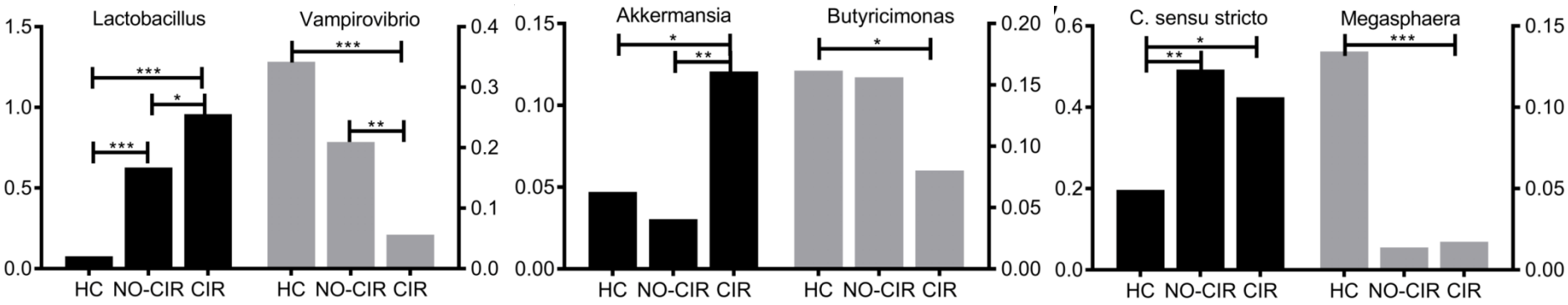
Explore this journal >

ORIGINAL ARTICLE

Intestinal microbiota in patients with chronic hepatitis C with and without cirrhosis compared with healthy controls

Benjamin Heidrich, Marius Vital, Iris Plumeier, Nico Döscher, Silke Kahl, Janina Kirschner, Szilvia Ziegert, Philipp Solbach, Henrike Lenzen, Andrej Potthoff, Michael Peter Manns, Heiner Wedemeyer, Dietmar Helmut Pieper

Análisis de la abundancia relativa de géneros bacterianos



Diferentes patrones de géneros bacterianos en función del grado de fibrosis

AP&T Alimentary Pharmacology and Therapeutics

2016

HCV eradication does not impact gut dysbiosis or systemic inflammation in cirrhotic patients

J. S. Bajaj*, R. K. Sterling*, N. S. Betrapally†, D. E. Nixon‡, M. Fuchs*, K. Daita*, D. M. Heuman*, M. Sikaroodi§, P. B. Hylemon§, M. B. White*, D. Ganapathy* & P. M. Gillevet§

- 105 pacientes con cirrosis VHC
- 21 con RVS > 12 meses
- 45 sujetos sanos USA

Pirosecuenciación del ARNr del gen 16S en heces
Marcadores de inflamación sérica

Diferencias en la microbiota entre cirróticos y controles sanos

No se encontraron diferencias en la microbiota entre los pacientes con cirrosis con RVS y los cirróticos sin RVS o no tratados

Ratio de bacterias sanas/bacterias patógenas > en controles que en cirróticos con o sin RVS

Editorial

Gut microbiota: so much to explore!

Expert Rev. Anti Infect. Ther. 11(8), 759–761 (2013)

José R. Blanco & José A. Oteo

Rev Esp Quimioter 2015;28(4): 200-206

Original

Patricia Pérez-Matute[1]
Laura Pérez-Martínez[1]
Javier Aguilera-Lizarraga[1]
José R. Blanco[1,2]
Jose A. Oteo[1,2]

Maraviroc modifies gut microbiota composition in a mouse model of obesity: a plausible therapeutic option to prevent metabolic disorders in HIV-infected patients

[1]HIV and Associated Metabolic Alterations Unit, Infectious Diseases Department, Center for Biomedical Research of La Rioja (CIBIR), Logroño (Spain).
[2]Infectious Diseases Department, Hospital San Pedro, Logroño (Spain).

J Physiol Biochem
DOI 10.1007/s13105-015-0390-3

Published online: 08 March 2015

ORIGINAL PAPER

Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity

M. J. Villanueva-Millán • P. Pérez-Matute • J. A. Oteo

Villanueva-Millán MJ et al. *Journal of the International AIDS Society* 2017, **20**:21526
http://www.jiasociety.org/index.php/jias/article/view/21526 | http://dx.doi.org/10.7448/IAS.20.1.21526

JIAS Journal of the International AIDS Society

Research article

Differential effects of antiretrovirals on microbial translocation and gut microbiota composition of HIV-infected patients

María J. Villanueva-Millán[1], Patricia Pérez-Matute[1§], Emma Recio-Fernández[1], José M. Lezana Rosales[1] and José A. Oteo[1,2]

[§]**Corresponding author**: Patricia Pérez-Matute, 98, Piqueras Street, Logroño 26006, La Rioja, Spain. cpperez@riojasalud.es

WJCID World Journal of Clinical Infectious Diseases

Submit a Manuscript: http://www.wjgnet.com/esps/

World J Clin Infect Dis 2017 February 25; 7(1): 000-000

DOI: 10.5495/wjcid.v7.i1.000

ISSN 2220-3176 (online)

EDITORIAL

Is it enough to eliminate hepatitis C virus to reverse the damage caused by the infection?

Patricia Pérez-Matute, José A Oteo

¿Revierte eliminar el VHC la posible alteración producida en la microbiota?

MINISTERIO
DE ECONOMÍA
Y COMPETITIVIDAD

Instituto de Salud Carlos III

Madrid, 20 de octubre de 2015

Estimado Dr. OTEO REVUELTA,

Las propuestas recibidas en esta 3ª Convocatoria de Proyectos de Investigación en VIH, Hepatitis y Hemato-Oncología, Programa *"Fellowship Programme"* de GILEAD, han sido sometidas a un proceso de evaluación en dos etapas.

La primera de ellas ha consistido en una evaluación científico-técnica de cada proyecto llevada a cabo de forma individual por expertos internacionales.

Estos expertos han sido seleccionados por el ISCIII, y de modo confidencial e independiente, y han emitido dos informes de evaluación sobre cada propuesta.

Tras el examen de los informes individuales, se ha elaborado un informe de síntesis científico-técnico por expertos nacionales independientes.

En la segunda fase, la Comisión Técnica de Evaluación, se reunió en un panel con expertos de VIH, Hepatitis y Hemato-Oncología, en la que se trataron todas las propuestas. En esta sesión de panel se confeccionó la lista de prelación de los proyectos propuestos para la financiación.

El proyecto titulado "¿Curamos totalmente los efectos producidos por el virus de la Hepatitis C tras su eliminación?// Is it enough to eliminate Hepatitis C virus to reverse the damage caused by the infection?", con número de expediente GLD15/00270, ha obtenido la siguiente financiación:

PERSONAL	BIENES Y SERVICIOS	VIAJES	TOTAL	TOTAL + GASTOS INDIRECTOS
0	36.329	0	36.329	38.146

Como establecen las bases de la 3ª Convocatoria de Proyectos de Investigación en VIH, Hepatitis y Hemato-oncología, en los próximos días Gilead España se pondrá en contacto con ustedes para proceder a la tramitación de la firma del convenio de colaboración entre GILEAD ESPAÑA y la entidad solicitante beneficiaria.

Reciba un cordial saludo,

Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación
Instituto de Salud Carlos III

SEI NORTE
SOCIEDAD DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS DEL NORTE

La Junta Directiva de SEINORTE reunida durante su VII Congreso celebrado en Haro (La Rioja) del 5 al 7 de Noviembre de 2015 decidió conceder una Beca valorada en 3.000€ a:

Patricia Pérez-Matute, Mª Jesús Villanueva-Millán, María Iñiguez, Emma Recio-Fernández, José Ramón Blanco, Valvanera Ibarra y José Antonio Oteo.
(Departamento de Enfermedades Infecciosas. Hospital San Pedro-CIBIR. La Rioja)

Para la realización del proyecto denominado:

"¿Curamos totalmente los efectos producidos por el virus de la Hepatitis C tras su eliminación del organismo?"

Firmado en Haro a 7 de Noviembre de 2015

La Presidenta	La Tesorera	El Secretario
Dra Josefa Muñoz	Dra Teresa Rubio	Dr. Oscar L. Ferrero

Objetivos

Investigar el impacto del VHC en la composición de la microbiota intestinal

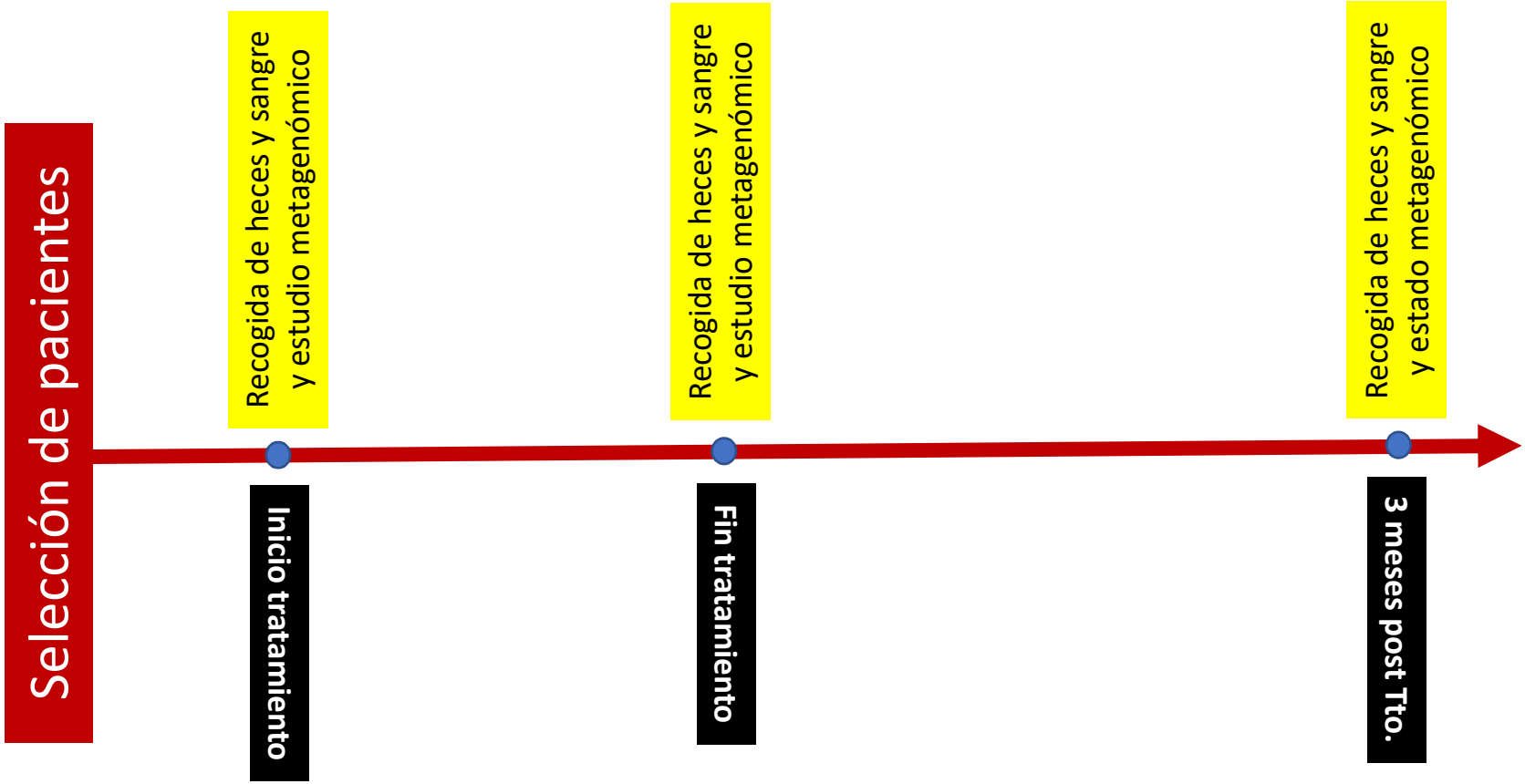
Conocer si tras la eliminación del VHC mediante AAD se restablece la microbiota

Estudiar cómo se comportan los parámetros de inflamación, translocación bacteriana y disfunción endotelial en relación a los cambios de la microbiota

Características del estudio

22 pacientes con hepatopatía crónica VHC <u>sin cirrosis</u>* y 23 individuos sanos

H.U. Álvaro Cunqueiro y H.U. San Pedro-CIBIR



*Fibrosis 0-3.

No toma de antibióticos ni probioticos en los 3 meses previos o durante el tratamiento

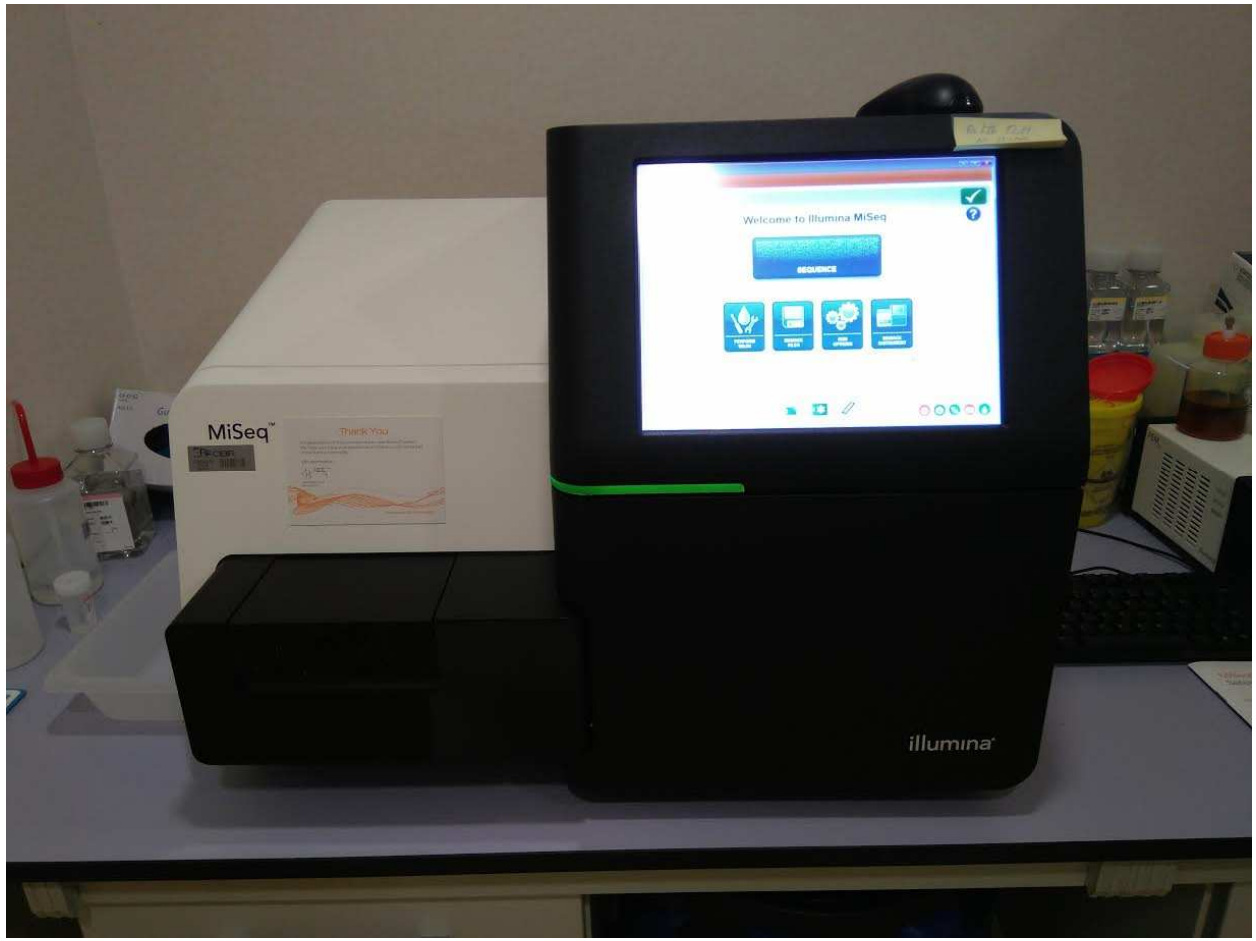
Pacientes - Muestras

- **Grupo 1**: heces de 23 pacientes sanos y sin toma de antibióticos ni probióticos en los últimos 3 meses.
- **Grupo 2:** heces de 22 pacientes con hepatopatía crónica VHC previo al tratamiento con AAD y sin toma de antibióticos ni probióticos en los últimos 3 meses.
- **Grupo 3:** heces de 22 pacientes con hepatopatía crónica VHC al finalizar tratamiento AAD y sin toma de antibióticos ni probióticos en los últimos 5 meses.
- **Grupo 4:** heces de 22 pacientes con hepatopatía crónica tres meses después de tratamiento con AAD con RVS y sin toma de antibióticos ni probióticos en los últimos 7 meses.

Características de la muestra

	CONTROL (n=23)	VHC (n=22)	*P*
Edad (años)	51,91 ± 11,34	54,18 ± 14,42	0,5595
Género (masculino)	12/23 (52%)	12/22 (54,50%)	0,873
Tipo de tratamiento	-	Harvoni: 9/22 (40,91%)	-
	-	Viekerax + Exviera: 6/22 (27,27%)	-
	-	Viekirax + RBV: 2/22 (9,09%)	-
	-	Sof + daclatasvir: 4/22 (18,18%)	-
	-	Viekirax Exviera RBV: 1/22 (4,55%)	-
Duración tratamiento (meses)	-	2,8 ± 0,4	-
Genotipo VHC	-	1a: 5/22 (22,73%)	-
	-	1b: 9/22 (40,90%)	-
	-	2a: 1/22 (4,55%)	-
	-	2 a /2c: 1/22 (4,55%)	-
	-	3a: 3/22 (13,64%)	-
	-	4: 3/22 (13,64%)	-
Grado Fibrosis Hepática	-	F0-1: 3/22 (13,64%)	-
	-	F1: 3/22 (13,64%)	-
	-	F2: 14/22 (63,64%)	-
	-	F3: 2/22 (9,09%)	-

CIBR
Centro de Investigación Biomédica de La Rioja



TÉCNICAS DE METAGENÓMICA: estudio directo del conjunto de genomas de un determinado entorno (metagenoma) a partir de muestras de ese ambiente, sin necesidad de su aislamiento y cultivo

Secuenciación masiva del ARNr del 16s

Metagenómica en heces

- Preparación de librería a partir de 12,5 ng de DNA (evaluado en Qubit) de cada muestra de heces según protocolo *16S Metagenomic Sequencing Library Preparation* (Illumina)
- Amplificación de la región V3-V4 del gen 16S rRNA

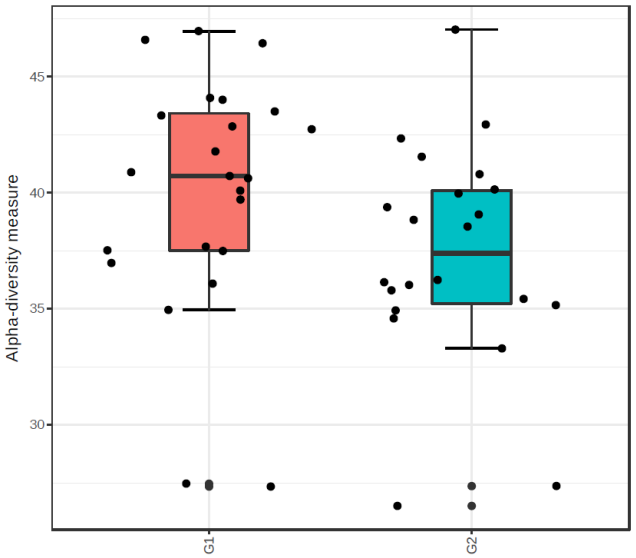
Forward Primer 5' TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG
Reverse Primer 5' GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC

- Evaluación de la calidad de las librerías en el bioanalizador Experion de BioRad y cálculo de la calidad y concentración mediante qPCR y Qubit
- Secuenciación de los productos en un ultrasecuenciador MiSeq de Illumina mediante una carrera paired-end read de 300 ciclos
- Determinación de las Unidades Taxonómicas Operativas (OTU)

Estudio de INFLAMACIÓN Y TRANSLOCACIÓN BACTERIANA mediante ELISAS en sangre (suero y/o plasma)

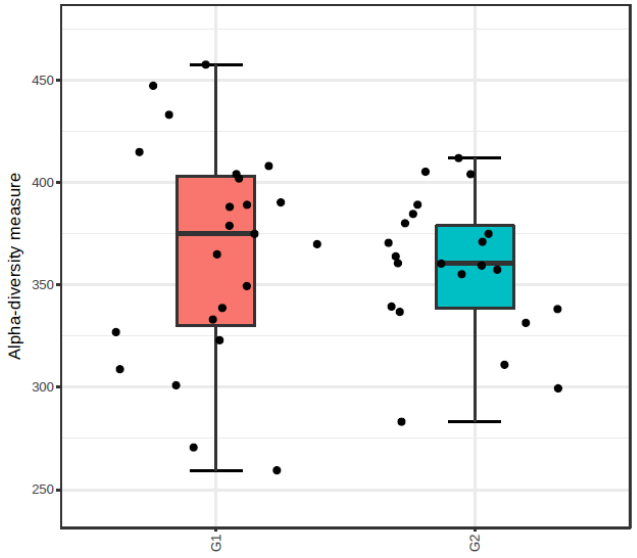
Resultados sobre la Alfa-diversidad

Fisher



p=0,027*

Chao-1



p=0,450

GRUPO

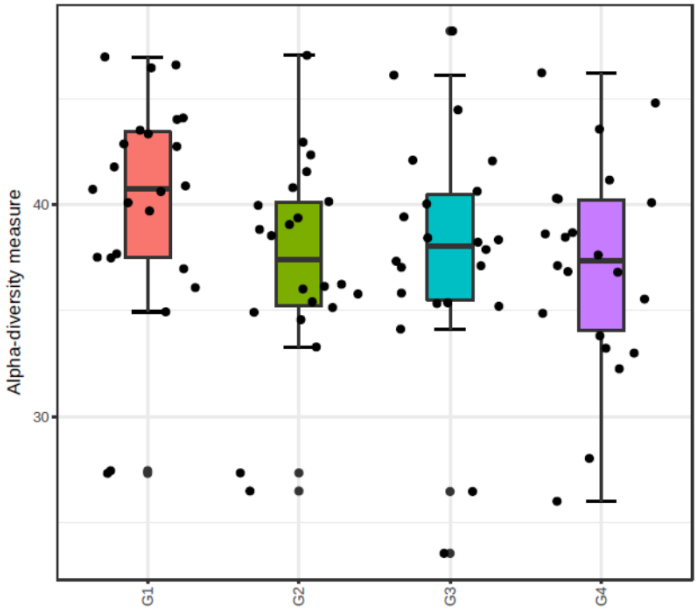
G1 Controles

G2 Sin tratamiento

Los pacientes con hepatopatía crónica VHC presentan menor diversidad bacteriana

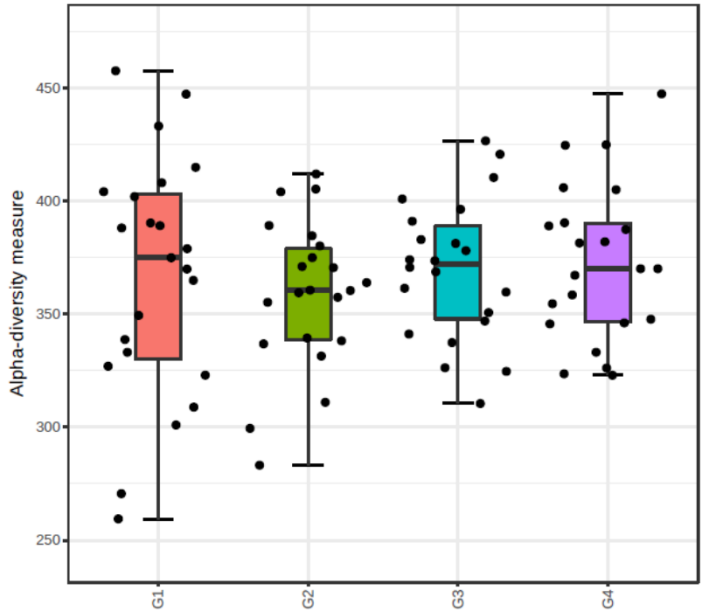
Resultados sobre la Alfa-diversidad

Fisher



p=0,095

Chao-1



p=0,720

GRUPO

- G1 Controles
- G2 Inicio de tratamiento
- G3 Fin de tratamiento
- G4 3 meses post-tratamiento

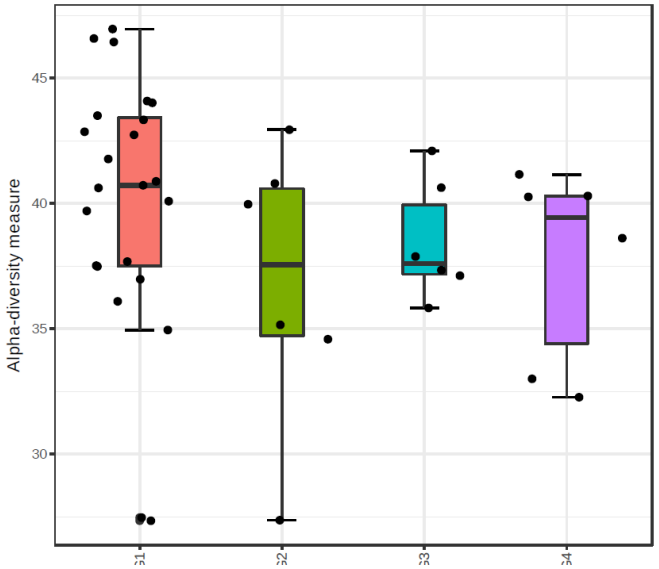
La diversidad de especies no se recupera tras negativizar el virus ni tras 3 meses en RVS

Resultados sobre la Alfa-diversidad

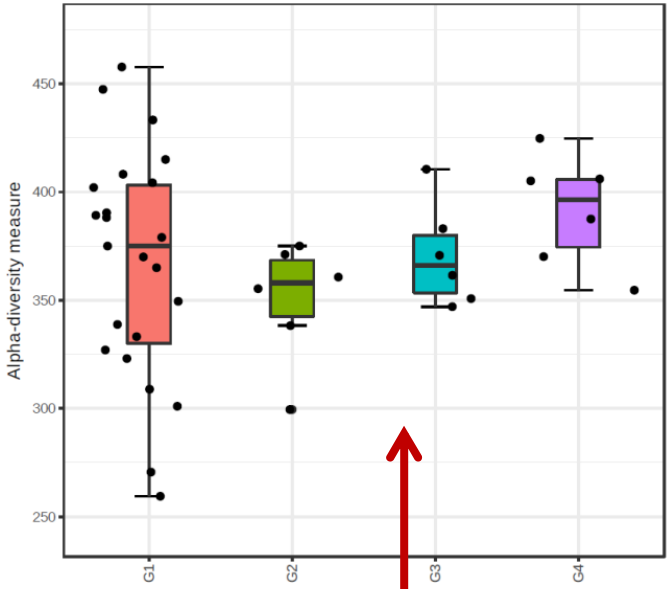
Fisher

Grado de fibrosis 0 - 1

Chao-1



p=0,2913



p=0,326

GRUPO

- G1 Controles
- G2 Inicio de tratamiento
- G3 Fin de tratamiento
- G4 3 meses post-tratamiento

p=0,06
Grupo 2 *vs.* Grupo 4

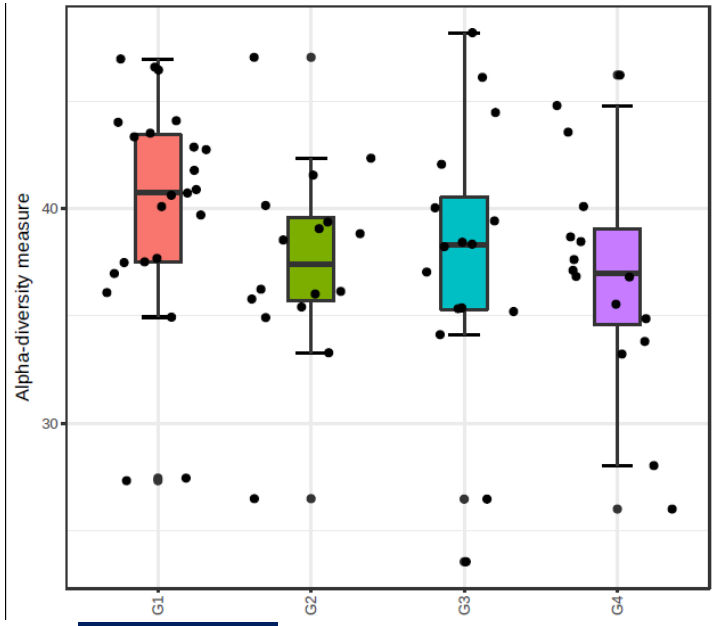
La diversidad de especies tiende a recuperarse tras negativizar el VHC en los pacientes sin fibrosis hepática (Chao-1)

Resultados sobre la Alfa-diversidad

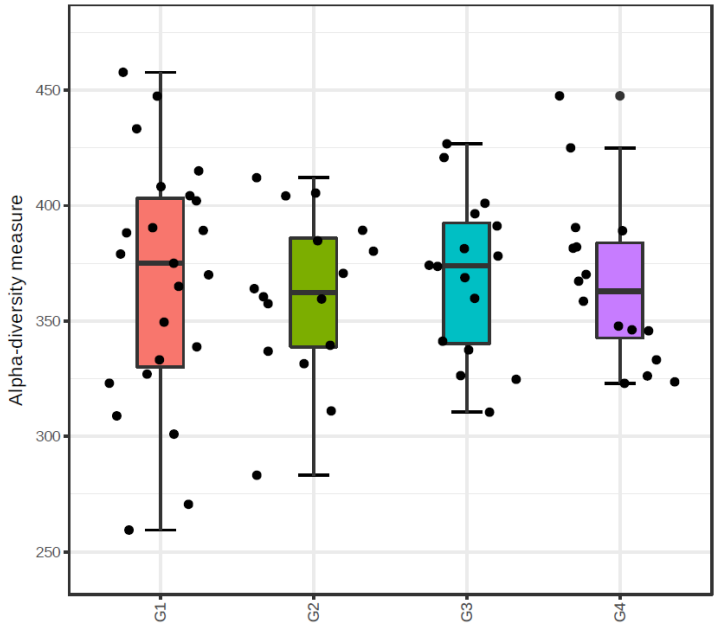
Fisher

Grado de fibrosis 2 - 3

Chao-1



p=0,128



p=0,944

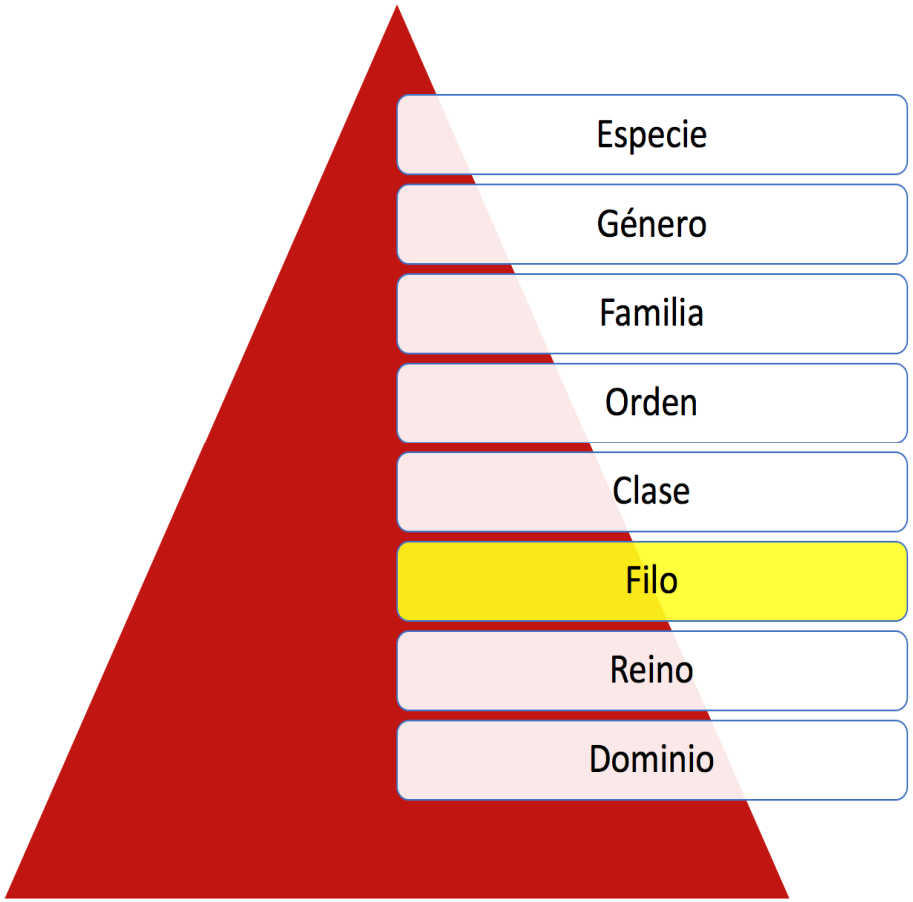
GRUPO

- G1 Controles
- G2 Inicio de tratamiento
- G3 Fin de tratamiento
- G4 3 meses post-tratamiento

La diversidad de especies NO mejora en grados superiores de fibrosis

Resultados sobre la abundancia relativa

FILO BACTERIANO	FDR* (<0.05)
Actinobacteria	8.3496E-8
Firmicutes	0.00308
Bacteroidetes	0.011582
Tenericutes	0.023219
Cyanobactyeria	0.029469
Verrucomicrobia	0.022663
Proteobacteria	0.49383
Euryarchaotea	0.62174
Elusomicrobia	0.78076
Fusobacteria	0.91304

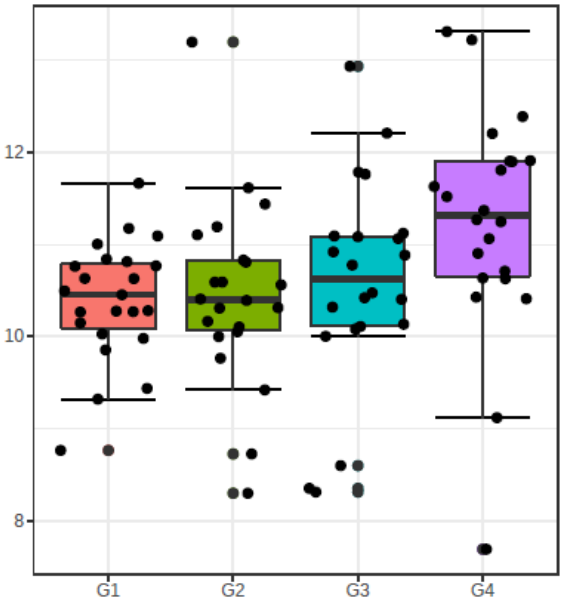


En el estudio de Filos bacterianos diferencias significativas en 6 Filos

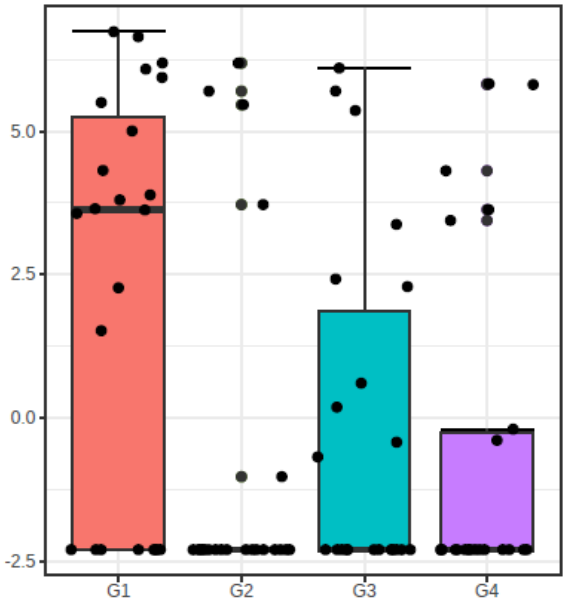
Cambios a nivel de Filo bacteriano

Filos	P	FDR*	HEPATITIS C	TRATAMIENTO	post-TRATAMIENTO
Actinobacteria	8.3496E-9	8.3496E-8	Aumento	No efecto	No efecto
Firmicutes	6.16E-4	0.00308	Aumento	No efecto	No efecto
Bacteroidetes	0.0034747	0.011582	No efecto	No efecto	Aumento*
Verrucomicrobia	0.0090651	0.022663	Disminución	Disminución	No efecto
Tenericutes	0.01161	0.023219	Disminución	No efecto?	No efecto?*
Cyanobacteria	0.017681	0.029469	Incremento	Normalización	Disminución*

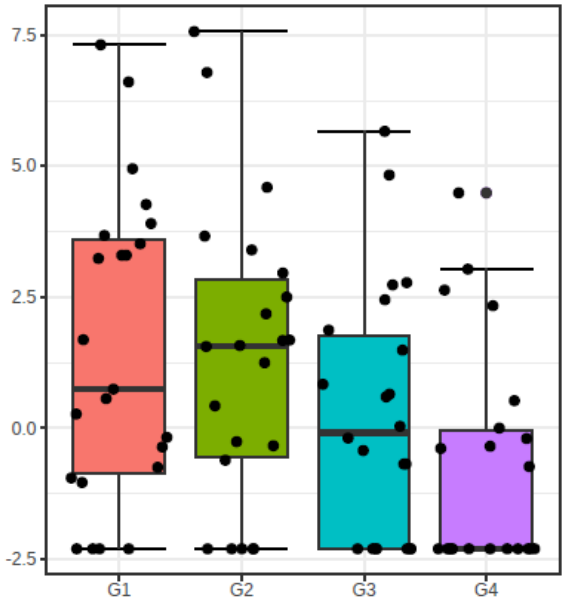
Bacteroidetes



Verrucomicrobia



Cyanobacteria



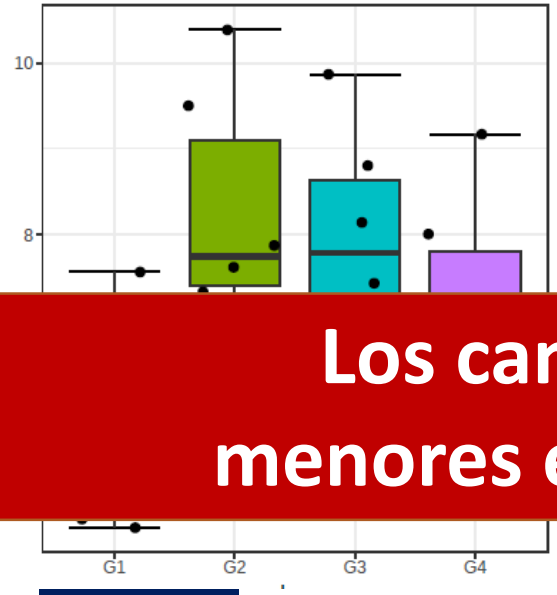
El tratamiento tiene efecto sobre la mitad de los filos afectados

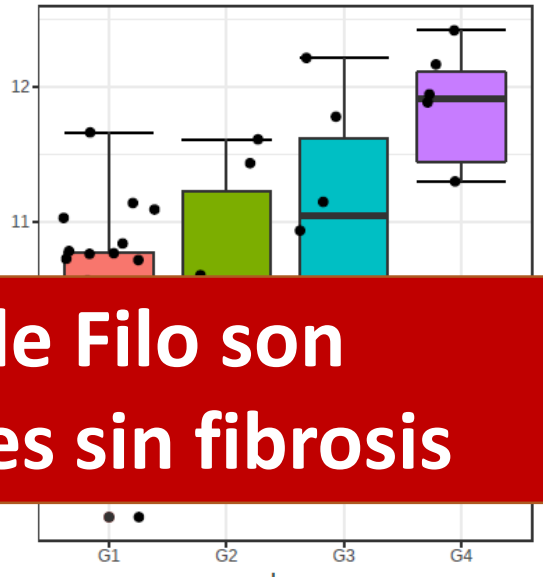
Cambios a nivel de Filo bacteriano

Actinobacteria

Grado de fibrosis 0 - 1

Bacteroidetes





Los cambios a nivel de Filo son menores en los pacientes sin fibrosis

FDR: 0.0014

FDR: 0.050

Grado de fibrosis 2 - 3

Filos	P	FDR	HEPATITIS C	TRATAMIENTO	post-TRATAMIENTO
Actinobacteria	1.6154E-8	1.4538E-7	Aumento	No efecto	No efecto
Firmicutes	4.944E-4	0.0022248	Aumento	No efecto	No efecto
Verrucomicrobia	0.00398	0.01194	Disminución	No efecto	Disminución?
Tenericutes	0.022054	0.049621	Disminución	No efecto	No efecto

Cambios a nivel de género bacteriano

GÉNEROS	P	FDR*	HEPATITIS C	TRATAMIENTO	3 MESES POST-TTO
Collinsella	4,09E-04	1,41E-02	Aumento	No efecto	No efecto
Blautia	5,51E-04	1,41E-02	Aumento	No efecto	Disminución
Actinomyces	7,37E-03	0.00012531	Aumento	No efecto	No efecto
Bifidobacterium	1,33E-01	0.00016948	Aumento	No efecto	No efecto
Coprococcus	1,91E-02	0.00019441	Aumento	No efecto	Disminución
Lachnospira	3,58E-01	0.00030449	Disminución	Aumento	Aumento
Lactobacillus	4,27E-01	0.00031136	Aumento	No efecto	No efecto
Megasphaera	5,88E-01	0.00037492	Aumento	Aumento	No efecto
Acidaminococcus	9,35E-01	0.00052968	Aumento	Disminución	No efecto
Turicibacter	0.00042571	0.0019851	Aumento	No efecto	No efecto
Streptococcus	0.00042816	0.0019851	Aumento	No efecto	Disminución
Dorea	0.0012767	0.005426	Aumento	No efecto	Disminución
Clostridium	0.0074705	0.027214	Aumento	No efecto	No efecto
Akkermansia	0.012794	0.043498	Disminución	Disminución	Disminución
Ruminococcus	0.016664	0.053118	Aumento	Disminución	Normalización*

Perfil diferente en pacientes VHC a nivel de género que no se modifica en la mitad de los casos tras el tratamiento

Cambios a nivel de género bacteriano

Grado de fibrosis 0 - 1

GÉNEROS	P	FDR*	HEPATITIS C	TRATAMIENTO	3 MESES POST-TTO
Blautia	7,33E-01	0.0036666	Aumento	No efectos	No efectos
Bifidobacterium	0.00040514	0.010128	Aumento	No efectos	No efectos
Actinomyces	0.0017468	0.023334	Aumento	No efectos	No efectos
Collinsella	0.0018667	0.023334	Aumento	No efectos	No efectos
Adlercreutzia	0.003171	0.03171	Aumento	Disminución	Normalización
Streptococcus	0.0071375	0.05489	Aumento	Aumento	Disminución
Succiniclasticum	0.0089058	0.05489	Aumento	No efectos	No efectos
Acidaminococcus	0.0095083	0.05489	Aumento	No efectos	No efectos
Veillonella	0.0098802	0.05489	Aumento	No efectos	No efectos
Turicibacter	0.011991	0.059956	Aumento	No efectos	No efectos

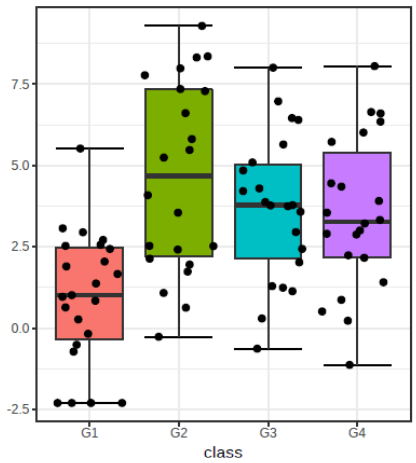
* <0.05

Los cambios a nivel de género son menores en los pacientes sin fibrosis o bajo grado F

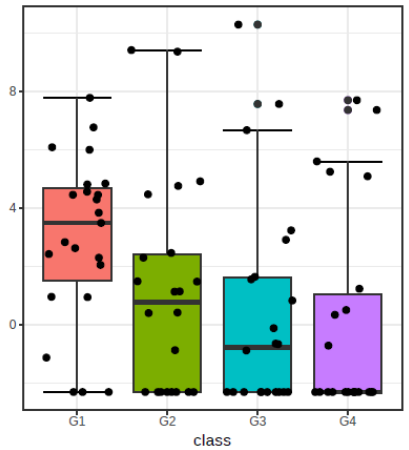
Cambios a nivel de especie bacteriana

Especie	P	FDR*	Hepatitis C	TRATAMIENTO	3 MESES POST-TTO
Collinsella aerofaciens	7,63E-04	2,36E-02	Aumento	No efecto	No efecto
Ruminococcus gnavus	0.00010724	0.0011081	Aumento	Disminución?	Disminución?
Lactobacillus ruminis	0.0004564	0.0035371	Aumento	No efecto	No efecto
Streptococcus anginosus	0.00092892	0.0057593	Aumento	No efecto	No efecto
Bifidobacterium adolescentis	0.0011471	0.0059265	Aumento	No efecto	No efecto
Bifidobacterium longum	0.0026812	0.010477	Aumento	No efecto	No efecto
Bacteroides coprophilus	0.0027036	0.010477	Disminución	No efecto	No efecto?
Eubacterium dolichum	0.011241	0.038718	Aumento	No efecto	No efecto
Akkermansia muciniphila	0.012794	0.03966	Disminución	Disminución	Disminución

R. gnavus



A. municiphila



Cambios a nivel de especie bacteriana

Grado de fibrosis 0 - 1

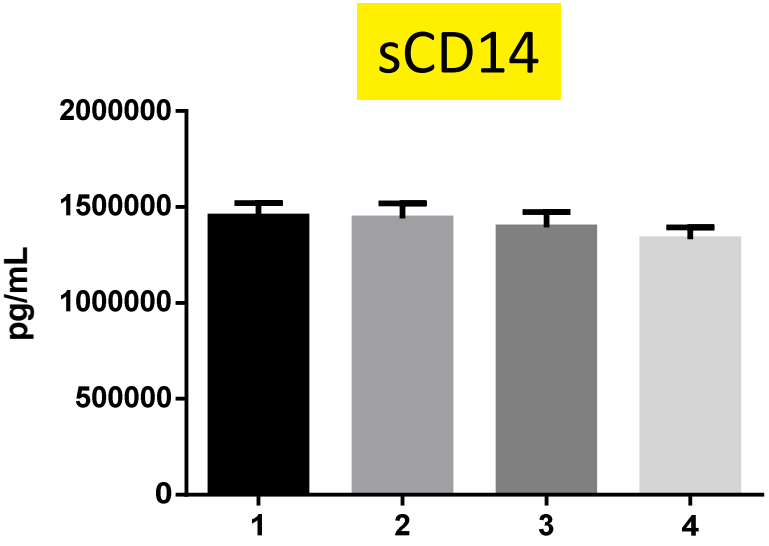
Especie bacteriana	P	FDR*	HEPATITIS C	TRATAMIENTO	3 MESES POST-TTO
Collinsella aerofaciens	0.0018667	0.02533	Aumento	No efecto	No efecto
Bifidobacterium longum	0.002533	0.02533	Aumento	No efecto	No efecto

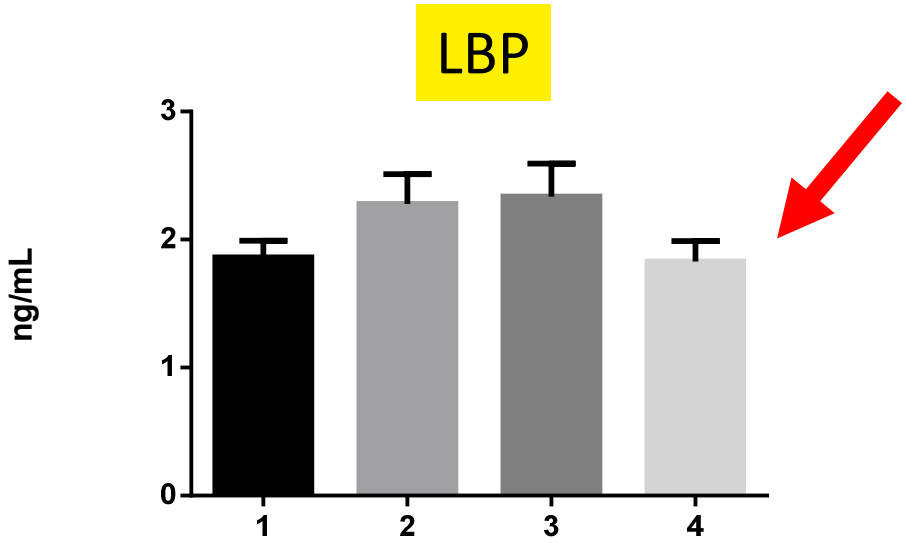
Grado de fibrosis 2-3

Especie bacterina	P	FDR*	HEPATITIS C	TRATAMIENTO	3 MESES POST-TTO
Collinsella aerofaciens	9,10E-04	2,82E-02	Aumento	No efecto	No efecto
Lactobacillus ruminis	8,84E-01	0.0009133	Aumento	No efecto	No efecto
Eubacterium dolichum	0.0070793	0.027432	Aumento	No efecto	No efecto
Bacteroides fragilis	0.013346	0.042435	Aumento	No efecto	No efecto
Bifidobacterium longum	0.013689	0.042435	Aumento	No efecto	No efecto

Los cambios a nivel de especie son menores en los pacientes sin fibrosis o bajo grado F

Translocación bacteriana





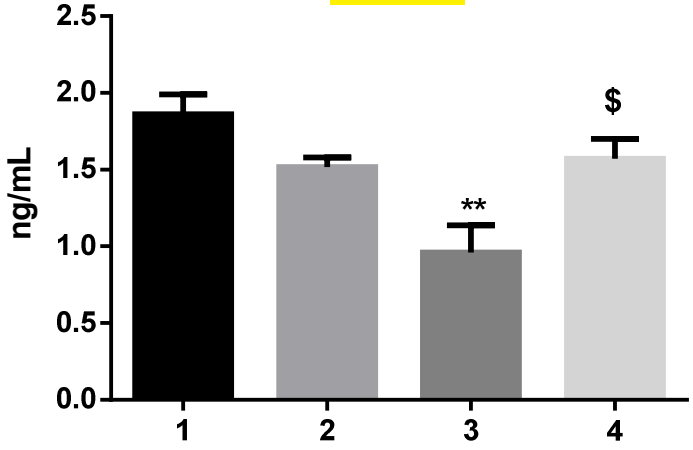
La infección por VHC NO se acompaña de un incremento en la translocación bacteriana, aunque puede observarse una tendencia al aumento del LBP que tiende a descender a los 3 meses de tratamiento

G1 Controles
G2 Inicio de tratamiento
G3 Fin de tratamiento
G4 3 meses post-tratamiento

Translocación bacteriana

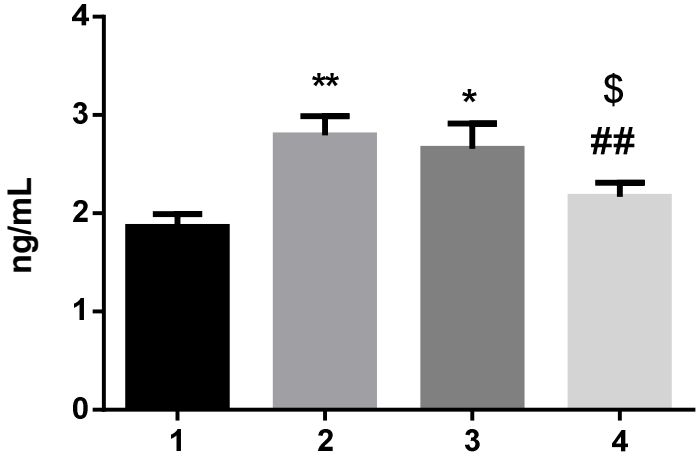
Grado de fibrosis 0 - 1

LBP



Grado de fibrosis 2 - 3

LBP

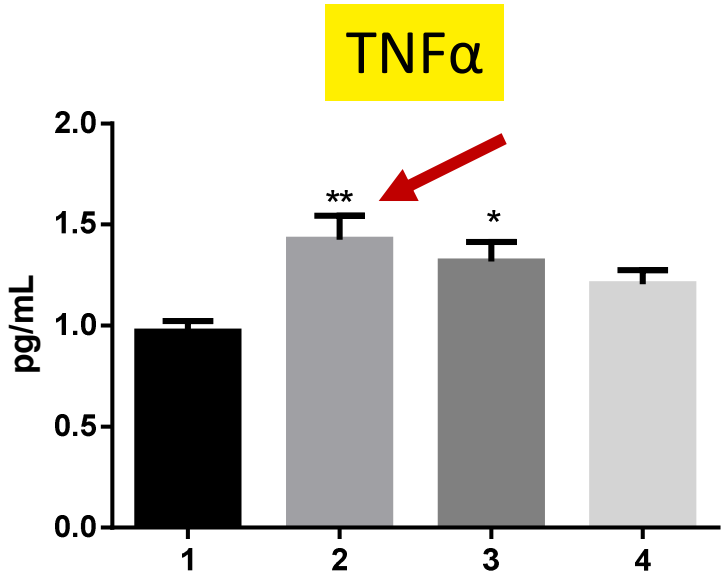


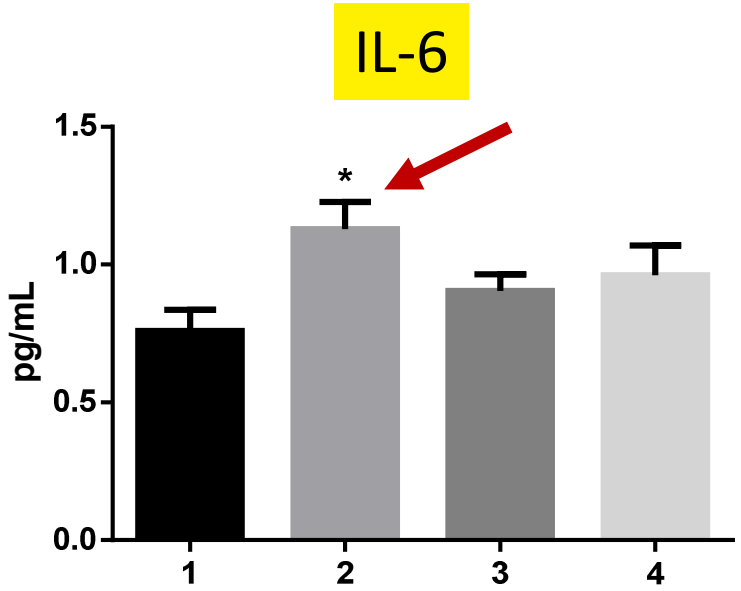
En grados superiores de fibrosis se observa un incremento de translocación bacteriana significativo que va disminuyendo tras el tratamiento y, especialmente, a los 3 meses del fin del mismo.

G1 Controles
G2 Inicio de tratamiento
G3 Fin de tratamiento
G4 3 meses post-tratamiento

***p<0,05, , ** p<0,01 *vs* G1 (Control); ## p<0,01 *vs* G2 (Basal), $ p<0,05 *vs* G3 (Fin Tratamiento)**

¿Qué pasa con la inflamación?





*p<0,05, **p<0,01 *vs* G1 (Control)

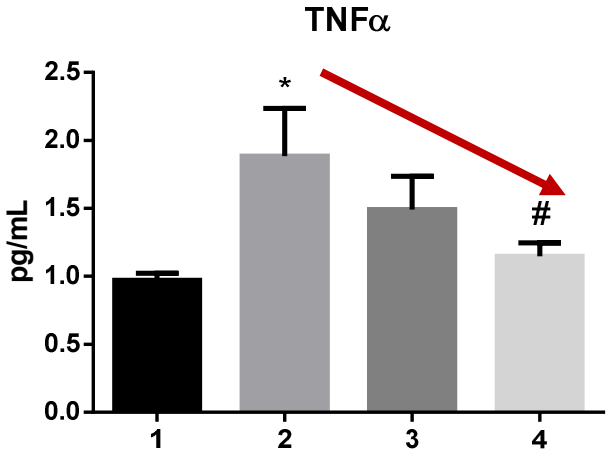
La infección por VHC incrementa la secreción de citoquinas inflamatorias (TNFα, IL-6) y el tratamiento es capaz de revertirlo hasta normalizarlo

G1 Controles
G2 Inicio de tratamiento
G3 Fin de tratamiento
G4 3 meses post-tratamiento

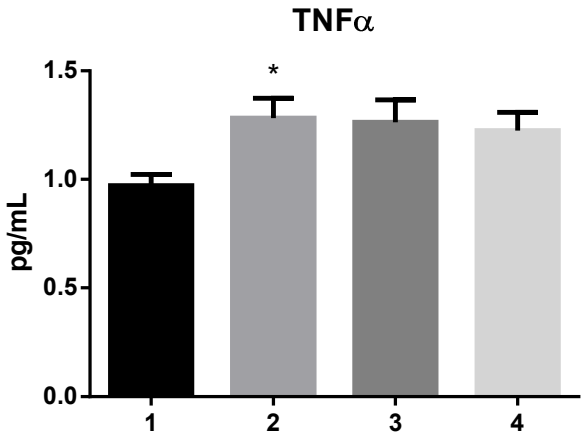
¿Qué pasa con la inflamación?

TNFα

Grado de fibrosis 0 - 1



Grado de fibrosis 2 - 3



***p<0,05 *vs* G1 (Control); # p<0,05 vs G2 (Basal)**

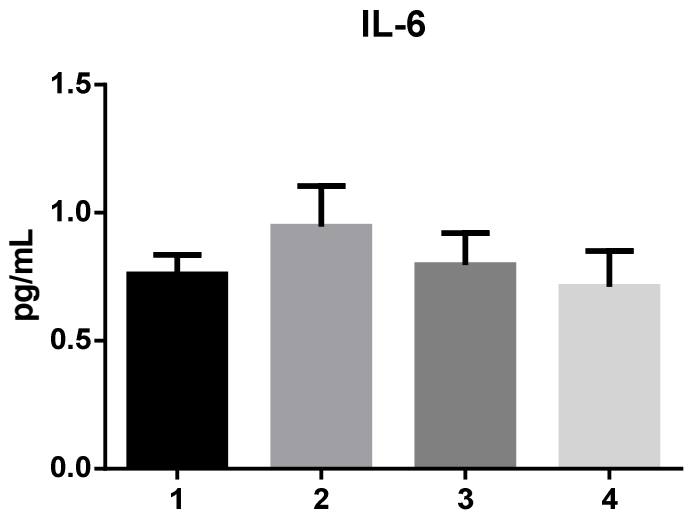
La disminución de la inflamación (TNFα) tras el tratamiento es más potente en ausencia de fibrosis hepática

G1 Controles
G2 Inicio de tratamiento
G3 Fin de tratamiento
G4 3 meses post-tratamiento

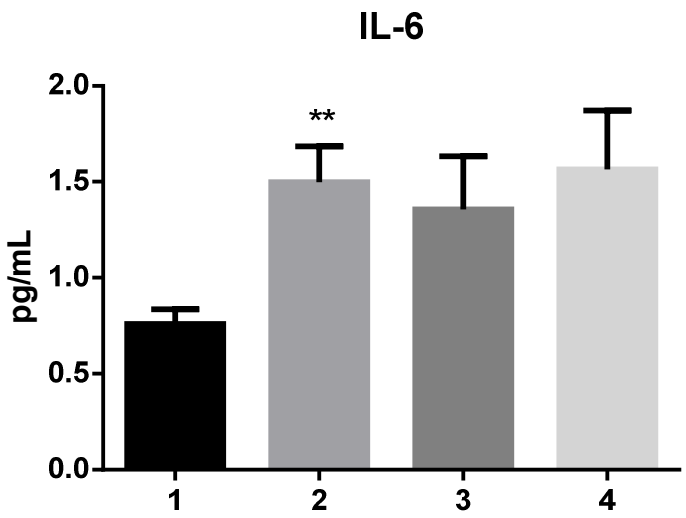
¿Qué pasa con la inflamación?

IL-6

Grado de fibrosis 0 - 1



Grado de fibrosis 2 - 3



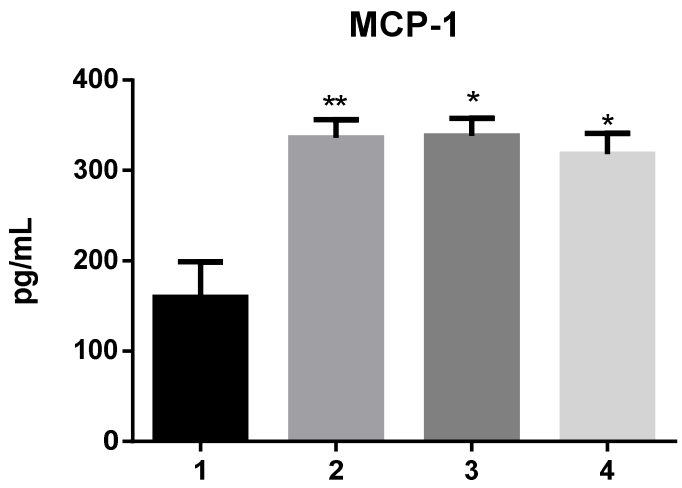
***p*<0,01 *vs* G1 (Control)**

En el caso de la IL-6 la infección por el VHC se traduce en mayor inflamación hepática únicamente en grados elevados de fibrosis

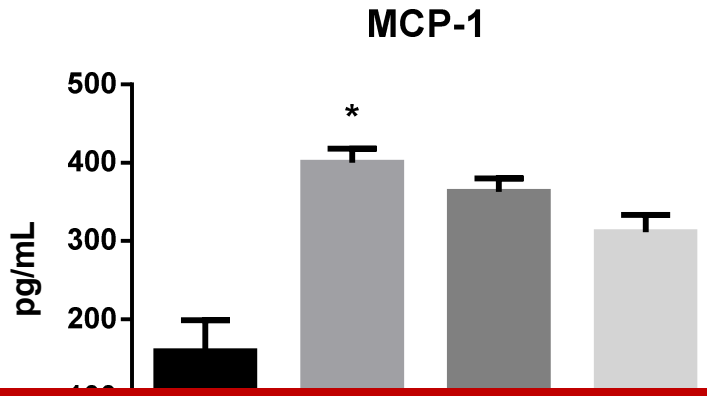
G1 Controles
G2 Inicio de tratamiento
G3 Fin de tratamiento
G4 3 meses post-tratamiento

MCP-1: marcador de aterosclerosis

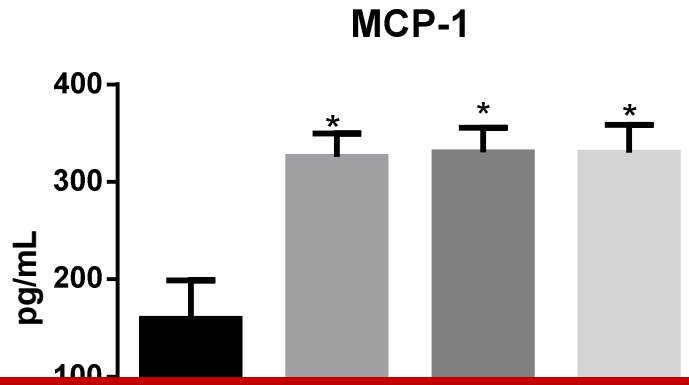
G1 Controles
G2 Inicio de tratamiento
G3 Fin de tratamiento
G4 3 meses post-tratamiento



Grado de fibrosis 0 - 1



Grado de fibrosis 2 - 3



La infección por VHC se acompaña de un incremento de MCP-1 que es revertido por el tratamiento, especialmente en grados bajos de fibrosis

Conclusiones

- El VHC provoca cambios importantes en la composición y diversidad bacteriana intestinal.
- Los cambios son menores en los grados bajos de fibrosis.
- La mayoría de los cambios NO son revertidos por el tratamiento.
- En los grados 2-3 de fibrosis se observa un incremento significativo de translocación bacteriana que va disminuyendo tras el tratamiento y, especialmente, a los 3 meses de finalizarlo.
- El VHC incrementa la secreción de citoquinas inflamatorias (TNFα e IL-6) y de marcadores de riesgo cardiovascular.
- La reversión de algunos de los cambios inducidos por el VHC (microbiota/inflamación), solo se observan en grados menores de fibrosis.

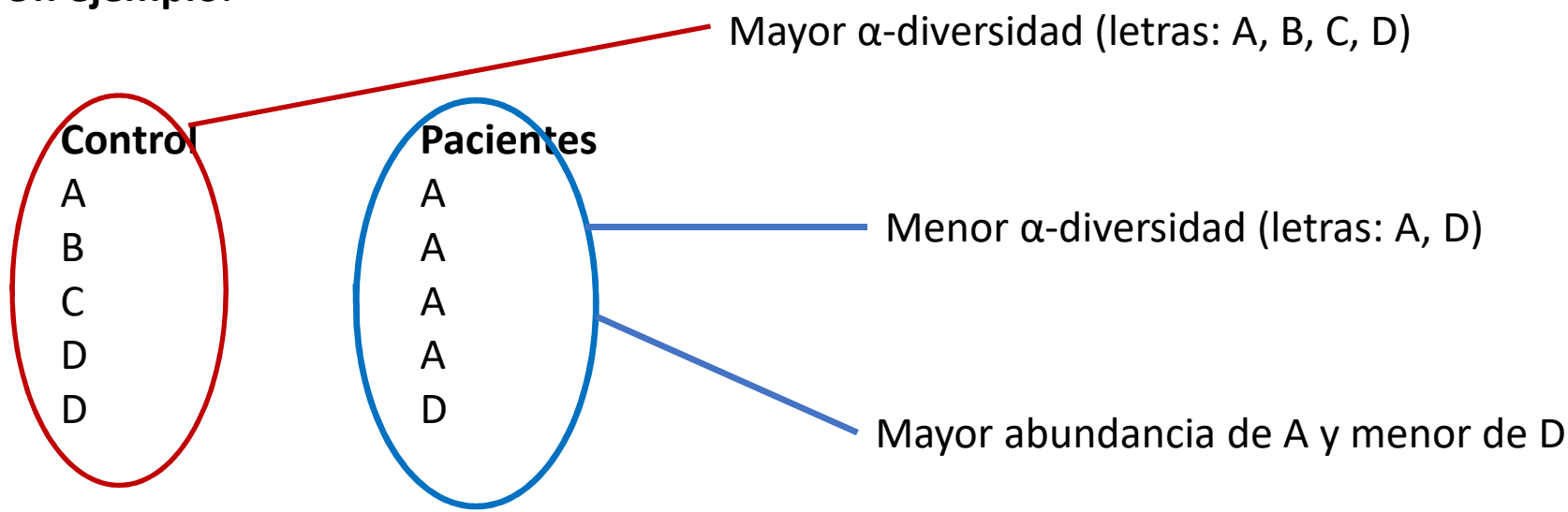
¡Muchas gracias por su atención!

CIBIR | Hospital U. San Pedro | Hospital U. Álvaro Cunqueiro

Patricia Pérez-Matute
María Iñiguez
Mª Jesús Villanueva
Lara García-Álvarez
Emma Recio
José A. Oteo

Eva Prado-González
Marta Suárez-Santamaría
Luis E. Morano

¿Qué es la α-diversidad?

- La diversidad de OTUs en una muestra dada
- La riqueza de especies NO refleja la estructura de la comunidad, ya que no se ajusta a las diferencias **en abundancia** de los OTUs individuales.

Un ejemplo: