

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS DE
LA HEPATITIS C EN LA TOMA DE
DECISIONES CLÍNICAS.**

MOLECULAR BIOLOGY OF HEPATITIS C VIRUS IN CLINICAL DECISION
MAKING.

Programa de Doctorado en Biomedicina

Autor
Diego Rodríguez Cano

Directores
Antonio Rivero Román / Antonio Rivero Juárez

TITULO: *BIOLOGÍA MOLECULAR DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN LA
TOMA DE DECISIONES CLÍNICAS*

AUTOR: *Diego Rodríguez Cano*

© Edita: UCOPress. 2018
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

[https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/
ucopress@uco.es](https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/ucopress@uco.es)



TÍTULO DE LA TESIS: Biología Molecular del virus de la Hepatitis C en la toma de decisiones clínicas

DOCTORANDO/A: Diego Rodríguez Cano

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

D. ANTONIO RIVERO ROMÁN, Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Málaga, Jefe de Sección de la Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba, e Investigador Principal del Grupo de investigación en Virología Clínica y Zoonosis del Instituto Maimonides de Investigación Biomédica de Córdoba.

D. ANTONIO RIVERO JUAREZ, Doctor Internacional en Biomedicina por la Universidad de Córdoba, Investigador Postdoctoral del Grupo de investigación en Virología Clínica y Zoonosis del Instituto Maimonides de Investigación Biomédica de Córdoba.

El presente proyecto de Tesis Doctoral versa sobre el papel de varios marcadores genéticos relacionados con el sistema inmune (HLA-B18, HLA-B44, HLA-C7, KIR2DS2, KIR3DS1) en la historia natural de la infección por el VHC en pacientes coinfectados por el VIH. Dada su originalidad y trascendencia clínica, los resultados parciales han sido comunicados en congresos nacionales (SAEI, SEIMC, GeHEP, GeSIDA) e internacionales (CROI), dando los resultados la publicación de 4 artículos científicos en revistas situadas en el primer cuartil, acumulando un factor de impacto de 15,704 puntos. Por otro lado, acreditamos que el doctorando ha realizado de manera excelente todas las actividades propuestas en el plan de formación. Por todo ello, consideramos que el presente proyecto de Tesis Doctoral reúne los méritos de calidad suficientes para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Córdoba.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 03 de Marzo de 2018

Firma del/de los director/es

Fdo.: Antonio Rivero Román

Fdo.: Antonio Rivero Juárez

ÍNDICE

ABREVIATURAS.

SUMMARY.

INTRODUCCIÓN

1. Virus de la hepatitis C.

1.1. Estructura genómica

1.1.1. Proteínas estructurales:

1.1.2. Proteínas no estructurales:

1.2. Ciclo biológico del VHC.

1.2.1. Anclaje y fusión al hepatocito.

1.2.2. Translocación y replicación viral.

1.2.3. Ensamblaje y liberación.

1.3. Epidemiología del VHC.

2. Patología de la hepatitis C.

2.1. Hepatitis C aguda.

2.2. Hepatitis C crónica.

2.2.1. Complicaciones intrahepáticas de la hepatitis C.

2.2.2.1. Fibrosis hepática.

2.2.2.2. Cirrosis hepática.

2.2.2.3. Carcinoma hepatocelular.

2.3. La coinfección con el virus de la Inmunodeficiencia Humana.

3. Respuesta inmune frente a virus

3.1. Generalidades del antígeno de histiocompatibilidad leucocitario de clase I.

3.2. Generalidades del receptor KIR

3.3. Interacción KIR-HLA. Relación con el paciente infectado por VHC.

4. Manejo clínico de la infección

4.1. Abordaje de la infección aguda

4.2. Abordaje de infección crónica. Monitorización de la fibrosis hepática.

4.2.1. Métodos invasivos.

4.2.2. Métodos no invasivos.

5. Tratamiento de la hepatitis C.

5.1. Farmacología de la hepatitis C.

5.2. Limitaciones en el tratamiento de la hepatitis C.

5.2.1. Limitaciones económicas.

5.2.2. Limitaciones farmacodinámicas

6. Criterios de priorización de la terapia frente al VHC en paciente colinfectado VIH/VHC.

6.1 HOMA-IR.

6.2. Marcadores genéticos.

HIPÓTESIS/OBJETIVO.

1. Hipótesis.

2. Objetivo.

MATERIAL Y MÉTODO

1. Diseño del estudio y pacientes.

1.1. Progresión de la fibrosis hepática

1.2. Evaluación del aclaramiento espontáneo.

1.3. Evaluación de los efectos adversos secundarios a la terapia con INF.

RESULTADOS

1. Evaluación de la fibrosis hepática en pacientes naïve.

1.1. Pacientes incluidos.

1.2. Seguimiento de la fibrosis.

1.3. Progresión de la fibrosis.

2. Evaluación de la fibrosis hepática en pacientes no respondedores.

2.1. Pacientes incluidos.

2.2. Seguimiento de la fibrosis.

2.3. Progresión de la fibrosis.

3. Evaluación del aclaramiento espontáneo del VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC.

3.1. Pacientes incluidos.

3.2. Aclaramiento espontáneo del VHC en pacientes coinfectados VIH/VHC.

4. Evaluación de la trombocitopenia secundaria al tratamiento con PEG-INF/RBV.

4.1 Pacientes incluidos.

4.2. Seguimiento.

4.3. Trombocitopenia secundaria en pacientes naïve que inician tratamiento.

DISCUSIÓN

1. Progresión de la fibrosis hepática en pacientes naïve.

2. Progresión de la fibrosis hepática en pacientes con fracaso terapéutico previo.

3. Implicación en el aclaramiento espontáneo del VHC.

4. Factores predictivos de trombocitopenia secundaria al uso de PEG-INF.

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXO I: PUBLICACIONES DERIVADAS DIRECTAMENTE DEL TRABAJO DEL DOCTORANDO.

ANEXO II: OTRAS PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA COLABORACIÓN DEL DOCTORANDO.

ABREVIATURAS:

ρ : densidad del tejido constante.

μg : microgramos.

μL : microlitros.

AAD: Antivirales de acción directa

AASCL/IDSA: Sociedades Americanas para el Estudio de la Enfermedad Hepática y de las Enfermedades Infecciosas.

ABC: área bajo la curva.

AC: aclaramiento espontáneo.

AcCr: aclaramiento de creatinina.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AH: ácido hialurónico.

ALT: alalina transferasa.

anti-VHC: anticuerpos frente al VHC.

ApdA: ARN polimerasa dependiente de ARN.

ApoB: apolipoproteína B

ApoE: apolipoproteína E

ARN: ácido ribonucleico.

AST: aspartato transaminasa.

ASV: sunaprevir.

AVAC: años ganados ajustados por calidad de vida.

B: coeficiente de ajuste.

BOC: boceprevir

CD: cúmulo de diferenciación,

CDIV: consumo de drogas intravenosas.

cells/mL: células/mililitro.

Células NK: células Natural Killer.

CHC: carcinoma hepatocelular.

CTP: score de ChiCL-Turcotte-Pugh.

CYP3A4: isoforma 3A4 del citocromo P450.

DCV: daclatasvir.

DM2: diabetes mellitus tipo 2.

DSV: dasabuvir

E: módulo elástico.

EBR: elbasvir.

EHNA: esteatohepatitis no alcohólica

ET elastometría transitoria.

FALC: fosfatasa alcalina.

g/dL: gramos/decilitro.

G1: genotipo 1 del VHC.

G2: genotipo 2 del VHC.

G3: genotipo 3 del VHC.

G4: genotipo 4 del VHC.

G5: genotipo 5 del VHC.

G6: genotipo 6 del VHC.

GAGs: glucosaminoglicanos.

GFP: genetically favorable profile

GPVH: medición del gradiente de presión venosa hepática.

GUP: genetically unfavorable profile

GZP: grazoprevir.

HAART: terapia antirretroviral de alta actividad

HLA: histocompatibility leucocyte antigen o antígeno leucocitario de histocompatibilidad

HLA-A: antígeno leucocitario de histocompatibilidad tipo A.

HLA-B: antígeno leucocitario de histocompatibilidad tipo B

HLA-C: antígeno leucocitario de histocompatibilidad tipo C.

HLA-DQA: antígeno leucocitario de histocompatibilidad tipo DQA

HLA-DQB: antígeno leucocitario de histocompatibilidad tipo DQB.

HLA-DRB: antígeno leucocitario de histocompatibilidad tipo DRB

HOMA-IR: modelo homeostático de evaluación de la resistencia en insulina.

HR: hazard ratio o razón de probabilidad temporal.

IAH: índice de actividad hitológica.

IC: intervalo de confianza.

IL28B: interleuquina 28B.

INR: international normalized ratio

IPNS3-4A: inhibidores de la proteasa NS3-4A.

ITAMs: motivos tirosin-quinasa activadores.

ITIMs. motivos tirosin-quinasa inhibidores.

kg: kilogramos.

KIR: killer-cell immunoglobulin-like receptors.

kPa: kilopascales.

CL: cuerpos lipídicos.

LDL: lipoproteínas de baja densidad.

LDV: ledipasvir.

ln: logaritmo neperiano.

Log₁₀: logarimo en base 10.

mg: miligramos.

MHC: complejos mayores de histocompatibilidad

miR122: microARN 122.

MMP-1: metaloproteinasa de matriz 1.

MMP-3: metaloproteinasa de matriz 3.

n: número de casos.

NANB: Hepatitis “no A no B”

NPC1L1: transportador de colesterol Niemann-Pick C1-like1

OMV: ombitasvir.

OR: odd ratio o razón de probabilidad.

p: p valor.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

PCR-SSO: PCR con oligonucleótidos específicos de secuencia.

PCR-SSP: PCR con primers específicos de secuencia.

PEG-INF: interferón alfa pegilado.

PGD: perfil genético desfavorable.

PGF: perfil genético favorable.

PIIINP: propéptido N-terminal de colágeno tipo 3.

PLV: partícula lipoviral.

PoliU: cola poliuracílica.

PRH: progresión de la rigidez hepática.

PrOD: paritaprevir/ritonavir/ombitasvir/dasabuvir.

PTV: paritaprevir.

q-PCR: PCR cuantitativa a tiempo real.

QOL: quality of life o calidad de vida.

RIQ: rango intercuartílico

RBV: ribavirina.

RCEI: relación coste/efectividad incremental.

rLDL: receptor de LDL.

RVS: respuesta viral sostenida

RVS24: RVS a las 24 semanas.

RS-B1: receptor scavenger clase B tipo I.

SD: desviación estándar.

SIDA: síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida.

SM: síndrome metabólico.

SMV: simeprevir.

SOF: sofosbuvir.

SR: success rate o tasa de éxito.

TAR: terapia antirretroviral.

TIMP-1: inhibidor tisular de metaloproteasas 1.

TVR: telaprevir.

UI/mL: unidades internacionales/mililitro.

ULN: upper limited of normality.

ENCs: extremos no codificantes.

v: velocidad de propagación.

VHC: virus de la hepatitis C

VHC-C: infección crónica del VHC.

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

VPP: valor predictivo positivo.

VPN: valor predictivo negativo.

VPV: velpatasvir.

ZLA: zona de lectura abierta

Summary

The search for markers that can predict this natural history of the disease facilitates clinical decision making. The identification of genetic markers facilitates the management of the information, due to they are markers that remain stable throughout the entire infectious process without alteration with the evolution of the disease. This fact is an improvement over the classic biochemical marker, which itself is influenced by the state of the disease in which it is determined. Immunological genetic markers are of great interest. Natural immunity is the main defense barrier against viruses. In addition, they are related to inflammatory processes, so they are in direct connection with some of the complications that result from infection with the hepatitis C virus (HCV). The aim of this work is to search for immunological genetic markers that can explain the natural evolution of hepatitis C virus infection in the patient coinfecting with the human immunodeficiency virus (HIV), addressing three clinical points of especial interest, such liver fibrosis progression, identification of patients with high likelihood of experience spontaneous viral clearance, and early prediction of treatment induced side-effect.

Liver fibrosis progression is the main complication of HCV chronic infection. This paulatine liver fibrosis progression lead to liver cirrhosis, end-stage liver disease and, finally hepatocellular carcinoma. It should be noted that the liver fibrosis progression is not cause by the HCV it-self (non-cytopatic virus), but mediated by host immune system. Consequently, the study of immunological markers could be essential in sense to predict liver fibrosis progression. In this sense, this doctoral tesis project is constituted by two studies designed to evaluate the influence of human leukocyte antigens type B (HLA-B) on the progress of liver fibrosis. The first of these studies, is a retrospective longitudinal study, which includes non-cirrhotic HIV/HCV co-infected patients naïve to HCV therapy. The evolution of liver fibrosis was measured using an indirect and validated proceduce as liver stiffness. The main outcome variable was liver fibrosis progression, defined as an increase of liver fibrosis stage of at least with one degree. The study included 104 patients HIV/HCV co-infected

patients. Baseline liver fibrosis stage distribution of the population was: 62 patients with liver fibrosis stage consistent with F0-F1 (59.6%), 22 patients with liver fibrosis stage consistent with F2 (21.2%), and 20 patients with liver fibrosis stage consistent with F3 (19.2%). During a mean follow-up of 54.6 months, it was observed that those patients bearing HLA-B*18 showed a higher (73.3%) and faster liver fibrosis progression (24 [IQR: 8-29] months) than those not carrying HLA-B*18 (38.2%, 34.5 [IQR: 14.7-51.2] months). This association was also observed when was considered the development of F3-F4 liver fibrosis as end-point among F0-F2 patients (HLA-B*18^{pos}: 69.2%; 18 months [6.5–37] vs HLA-B*18^{neg}: 28.2%; 37 months [IQR: 19–52]; $p = \text{inclair}$). In the second study, it was evaluated if HLA-B*18 had a strong influence on liver fibrosis progression in patients who had previously failed to therapy. The study had the same design that the previous study with the main outcomes. Sixty-five HIV/HCV treatment experienced co-infected with mean follow-up of 53 months. As we have observed in HIV/HCV untreated patients, HLA-B*18 carrying treatment experienced patients showed a higher and faster liver fibrosis progression (81.1%; 24 months [IQR: 8-43]) than those not bearing HLA-B*18 patients (38.9%; 39.5 months [IQR: 14.7-56.2]). This relationship was also observed in the development of cirrhosis (F3-F4) from minimal fibrosis stage (F0-F2) (HLA-B*18^{pos} patients: 77.7% vs. HLA-B*18^{neg} patients: 29.2%). From both studies, it can be concluded that HLA-B*18 is related with a higher and rapid liver fibrosis progression in HIV/HCV both naïve and treatment experienced patients. The determination of the HLA-B*18 couCL help to identified those patients in which treatment shouCL be implemented priority due to the higher risk of develop advanced liver fibrosis stage at short-term.

The polymorphisms of the interleukin 28B gene are of interest to differentiate patients who are going to show spontaneous clearance of HCV during the acute phase of the infection. The positive predictive value of this marker has been estimated on 60-64%, clearly inefficient in clinical decision making. Consequently, despite international clinical guidelines recognize the value of the IL28B, can not recommend the implementation of this marker in routinary clinical practice. This is due to IL28B miss-classified a large number of patients.

Thus, there are patients bearing interleukin 28B CC who do reach spontaneous viral resolution, and, in contrast, patients carrying the unfavorable polymorphisms who experience viral clearance. Due to this spontaneous viral resolution is mediated by host immune system, we evaluated the impact of HLA molecules and Natural Killers (NK) killer immunoglobulin-like receptors (KIRs) on the rate of spontaneous viral clearance in HIV/HCV co-infected patients. A prospective transversal study including HIV/HCV coinfecting patients was conducted. It was included two groups of patients: i) patients who experienced spontaneous viral clearance, defined as presence of HCV-antibodies confirmed by RIBA-III with undetectable viral load non-induced by therapy; ii) HCV chronically infected patients, defined as detectable serum HCV viral load of more than one year. The study population was constituted by 138 patients, 57 patients (41.3%) with self-limiting infection, and 81 patients (58.7%) with chronic infection. In our study, IL28B showed a negative predictive value of 81.5% and a positive predictive value of 61.6% for spontaneous viral clearance. We identified HLA-B*44, HLA-C*12 and KIR3DS1 variants to be associated with spontaneous HCV clearance, showing a negative predictive value of 77.4%, 85.7% and 86.2%, respectively. We developed an algorithm including HLA-B*44, HLA-C*12, and KIR3DS1 in sense to optimize the prediction of spontaneous viral clearance. The presence of at least one of the three markers (defined as an unfavorable genetic profile [UGP]), in combination with IL28B unfavorable genotype showed a negative predictive value for spontaneous viral clearance of 100%. In the same way, the absence of these three genetic markers (defined as favorable genetic profile [FGP]) in combination with the IL28B CC genotype reach a positive predictive value for spontaneous viral clearance of 74.1%. We concluded that the determination HLA-B*44, HLA-C*12, and KIR3DS1 significantly improves the predictive value for spontaneous HCV clearance, identifying those patients with a high likelihood of develop HCV chronic infection.

Despite the current standar of HCV therapy consist on the combination of at least two direct-acting antiviral drugs (DAAs) in absence of interferon (IFN), there stil are some situation where IFN use is recommended. For example, in

those patients infected with HCV genotype 3, population with lower treatment-induced healing rate, inclusion of pegylated interferon-based to DAAs is recommended in sense to increase the likelihood to have a success treatment outcome. However, the use of IFN significantly increase the rate of side effects and discontinuation of therapy by this reason. The main adverse effect related to IFN-use is the development of thrombocytopenia. Currently, the mechanism of IFN-induced thrombocytopenia is unknown. Nevertheless, it has been suggested that, due to administration of pegylated interferon modulates the activity of the immune system (especially NK lymphocytes), the induction of thrombocytopenia could be immune-mediated. We conducted a prospective longitudinal study including HIV/HCV chronically infected patients treated with Peg-IFN/RBV to evaluate the impact of KIRs genotypes in the development of thrombocytopenia secondary to pegylated interferon-based regimens. A total of 58 HIV/HCV co-infected naïve patients were scheduled to receive their first course with pegylated interferon plus ribavirin. Platelet count was determined at baseline and at weeks 1, 2, 4, 8 and 12 of the treatment. The end point of the study was the presence of thrombocytopenia, considering platelet count <150,000 cells/mL. The 34.4% of patients developed thrombocytopenia. We identified the absence of KIR2DS2 as risk factor for the development of thrombocytopenia. In this sense, the 54.2% of patients with absence of KIR2DS2 and the 22.5% of patients bearing KIR2DS2 developed thrombocytopenia ($p = \text{poner}$). Furthermore, the development of thrombocytopenia was faster in those patients with absence of KIR2DS2 than in those bearing this immune-genetic marker (6.6 weeks vs. 10.3 weeks; $p = \text{inclair}$). In conclusion, our study found that the absence of KIR2DS2 is associated with a greater decline in total platelet count, lead in a faster development of thrombocytopenia during pegylated interferon-based regimens in HIV/HCV coinfecting patients. Our results provide the first step forward to the development of a biomarker with capacity to predict one of the most significant adverse events during IFN therapy, which could be applied in different scenarios where this drug is used (such HCV genotype 3 treatment).

INTRODUCCIÓN

1. VIRUS DE LA HEPATITIS C

A mediados de los años 70 comenzó a describirse un tipo de hepatitis, muy frecuente en receptores de transfusiones sanguíneas, en los que no se encontraban marcadores serológicos de ningún virus hepatotrofo conocido, incluyendo Hepatitis A y B. A este tipo de hepatitis se le denominó hepatitis "no A/no B" (NANB). La estructura molecular del virus fue identificada en el año 1989 por Michael Houghton y sus colaboradores de la compañía Chiron Corporation (Emerville, California) tras llevar a cabo el clonado de las regiones del genoma y el desarrollo de un test para el diagnóstico de los anticuerpos, denominándose virus de la hepatitis C (VHC) [1].

El VHC ha sido el primer virus descubierto por clonación molecular sin el uso de métodos biológicos o biofísicos. La reconstrucción del genoma se realizó a través de la clonación de ácido desoxirribonucleico (ADN) complementario de muestras de ácido ribonucleico (ARN) presentes en el suero de un chimpancé infectado. El ADN clonado se expresó en *Escherichia coli*, en busca de un clon que expresase polipéptidos que reaccionaran con los anticuerpos presentes en el suero de enfermos con hepatitis NANB.

1.1. ESTRUCTURA GENÓMICA

El VHC pertenece al género *Hepaciviridae*, encuadrado dentro de la familia *Flaviviridae*, junto a los géneros flavivirus y pestivirus. Se trata de un virus con envoltura que recubre un ARN monocatenario de sentido positivo con una longitud de 9,6 Kba [2,3].

Este genoma contiene una sola zona de lectura abierta (ZLA) flanqueada por dos extremos no codificantes (ENCs) en 5' y 3'. Estos ENCs tienen un papel importante en la traducción de las proteínas codificadas en ZLA y en la replicación del ARN viral. En el ENC-5' se encuentran cuatro dominios con forma de bucle (DFB). Los DFB II, III y IV, forman el complejo de acople del ARN viral en el ribosoma y la interacción del ENC-5' con el microARN 122

(miR122) regula tanto la replicación como la traducción del virus. El ENC-3' contiene tres regiones, una variable, una cola poliuracílica (poliU) y un dominio conservado (región 3'X) formado por tres DFB. Tanto la cola poliU como 3'X son esenciales en la replicación viral [2,4].

La ZLA contiene la información para la traducción de diez proteínas diferentes, tres estructurales, situadas en 5' (core, E1 y E2), y siete no estructurales, en 3' (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) (3).

1.1.1. PROTEÍNAS ESTRUCTURALES:

- a) Core: proteína que da lugar a la cápside vírica, con afinidad de unión al ARN viral. Formada por tres dominios. D1, de carácter hidrófilo, se une al ARN del virus. D2 y D3 son de naturaleza hidrófoba. D2 se encarga de su unión al retículo endoplasmático y otras membranas lipófilas. Además de la formación de la cápside, esta proteína está involucrada en procesos inflamatorios como la fibrosis y la esteatosis hepática.
- b) Glicoproteínas de envoltura E1 y E2: encargadas de formar la envoltura del VHC. Además, se encargan de reconocer los receptores de la superficie del hepatocito que median en la entrada del virus, como el receptor del colesterol (LDL), los scavenger receptor tipo 1B, los glicosaminoglicanos o el cluster de diferenciación (CD) 81 de la familia de las tetrasparinas, y en la fusión del virus con las membranas celulares, como el transportador de colesterol Nieman-Pick C1 like 1 (NPC1L1), la claudina-1 o la ocludina-1. Compuestas por un dominio transmembrana y otro libre, dan lugar a heterodímeros que forman la envoltura. El dominio transmembrana es de carácter hidrófobo y el dominio libre contiene aminoácidos sulfurados. E2 contiene dos zonas hipervariables, con diferencias de hasta el 80% entre genotipos. La región hipervariable 1 es epítipo de diferentes anticuerpos neutralizantes, de ahí su alta variabilidad. E2 es además de gran importancia en las primeras

etapas de la infección, ya que se encarga de la unión del virus con la célula diana. E1 está relacionado con fusiones intracitoplasmáticas del virus y las diferentes membranas.

1.1.2 PROTEÍNAS NO ESTRUCTURALES:

- a) p7: vioprina que forma canal iónico para el metabolismo del calcio. Está formada por dos dominios hélice α transmembrana unidos por un bucle-intracitoplasmático, esencial en la infectividad del virus. Este canal p7 tiene gran importancia en el ensamblaje y replicación del VHC.
- b) NS2: proteína transmembrana dimérica. Contiene dos secuencias de señalización que intervienen en la unión a la membrana del retículo endoplasmático. Además, su extremo carboxi-terminal, por unión al extremo N-terminal de la proteína NS3, forma un complejo metaloproteasa dependiente de zinc, encargado de la autodegradación de este complejo, regulando la actividad de NS3. NS2 interactúa en varios puntos calientes del hepatocito, pero, aunque su función no es clara, se relaciona su actividad con la replicación y el ensamblaje vírico.
- c) NS3: principal reguladora de la actividad de las proteínas del VHC. Se trata de una proteína con dos dominios activos diferenciados. En el extremo N-terminal se encuentra el dominio con actividad serín-proteasa. Este dominio, junto a la unión con NS4A, que actúa como cofactor de la actividad proteasa, se encarga de la rotura de las uniones entre los diferentes dímeros que forma las proteínas del VHC (NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A y NS5A/NS5B). Esta actividad es esencial en el ciclo biológico del VHC, además de actuar en diferentes rutas importantes que median este ciclo. El otro dominio principal de NS3, situado en el extremo C-terminal de la proteína, tiene actividad NTPasa/helicasa. Se encarga de desenrollar ARN bicatenarios virales, para facilitar la formación de la cápside con ARN

monocatenario, para lo que gasta energía en forma de adenosina trifosfato (ATP).

- d) NS4A: cofactor de NS3, su función es anclar esta proteína a la membrana del retículo endoplasmático.
- e) NS4B: proteína transmembrana de carácter hidrófobo. Se ancla al retículo endoplasmático induce la génesis de una “red membranosa”, que sirve de matriz sobre la cual que se produce el complejo de la replicación viral.
- f) NS5A: proteína formada por tres dominios (I a III) y una hélice α N-terminal, que sirve de anclaje a bicapas lipídicas. El dominio I contiene una ranura de unión a ARN, mientras, los dominios II y III son variables entre genotipos de VHC. Se trata de una proteína modulada por fosforilación, siendo la forma fosforilada la activa en la replicación viral. Así, en este estado hiperfosforilado, NS5A se implica en la replicación viral (transporta el ARN viral al complejo de replicación), modulación de vías moleculares (involucrada en la generación de hepatocarcinoma) y en la resistencia al interferón- α .
- g) NS5B: ARN polimerasa dependiente de ARN (ApdA). Genera copias de ARN de polaridad positiva a partir de ARN copia de polaridad negativa. Necesita de un cebador de ARN que aporte un extremo 3' para iniciar la replicación. El dominio polimerasa presenta una estructura de “dedos, palma, pulgar”, que crea un ambiente óptimo para la síntesis de la nueva cadena de ARN. Se han descrito interacciones entre NS5B y NS5A, donde la segunda actúa como cofactor de NS5B.

1.2. CICLO BIOLÓGICO DEL VHC.

Se pueden distinguir tres fases diferentes en el ciclo biológico del VHC: 1) anclaje y fusión del virus al hepatocito. 2) translocación y replicación viral y 3) ensamblaje y liberación de los viriones [5,6].

1.2.1. ANCLAJE Y FUSIÓN AL HEPATOCITO.

Debido a características propias, como es su baja densidad, el virus viaja en sangre gracias a que es captado por lipoproteínas de baja y muy baja densidad (LDL y VLDL). Así, el virus aprovecha el metabolismo de lipoproteínas para infectar al hepatocito. Cuando la lipoproteína capta al VHC se forma la partícula lipoviral (PLV). Esta PLV es la forma infectiva del VHC [7,8,9].

En primer lugar, se produce el anclaje del virus al hepatocito. Esto es mediado inicialmente por dos tipos de moléculas: glucosaminoglicanos (GAGs) y el receptor de LDL (rLDL). Así, la fijación a la membrana de la célula diana es doble; por un lado, los GAGs interactúan con la proteína E2 de la envoltura del virus, y por otro lado, la apolipoproteína E (ApoE) media la unión con rLDL. Algunos estudios muestran que esta segunda unión con rLDL da lugar a una vía no infectiva, ya que media en la degradación de la lipoproteína y con ella la del virus.

Tras este primer anclaje a la membrana del hepatocito, se genera una serie de uniones que terminan de fijar la PLV al hepatocito y van a mediar la fusión y entrada de la partícula infectiva en la célula.

Una de estas uniones es la que se da entre el receptor scavenger clase B tipo I (RS-B1) y la región hipervariable 1 de E2. RS-B1 es ligando de diferentes tipos de lipoproteínas, tanto de alta densidad (HDL), como de baja (LDL, VLDL). RS-B1 media la endocitosis de estas moléculas para su reciclado de sangre y el metabolismo del colesterol. La unión de PLV-RS-B1 da lugar a cambios conformacionales en E1 y E2 y en la composición lipídica tanto de la PLV y de la membrana del hepatocito, que facilitan la unión de la partícula infectiva a otros mediadores de la entrada del virus [7,8,9].

La más estudiada de estas uniones es la que se da entre la región hipervariable 1 de E2 y el receptor CD81. CD81 pertenece a la superfamilia de proteínas transmembrana 4. Se forma por cuatro dominios hidrófobos transmembrana (TM1-4) y dos dominios hidrófilos terminales, un bucle corto y

un bucle largo. Su acción principal se da en las primeras etapas de la entrada del virus. Se asocia a otras proteínas de membrana para llevar a cabo su actividad, destacando las proteínas Claudina-1, 6 y 9.

El complejo CD81-Claudina-1 modula diferentes vías intracelulares del hepatocito. Como la iniciada por el receptor del factor de crecimiento epidérmico, que activa una cascada de fosforilación que termina facilitando la entrada del virus en la célula. También, CD81-Claudina-1 favorece los efectos de la vía PI3K-AKT, facilitando la entrada del virus.

Otra molécula de membrana que actúa en la entrada del VHC en el hepatocito es la proteína Ocludina-1. Se ha sugerido que actúa en las fases finales de la entrada del virus, pudiendo tener un papel complementario a la acción de la Claudina-1, involucrándose en el tropismo del VHC por el hepatocito. Sin embargo, el papel exacto que esta molécula juega en la entrada del VHC en el hepatocito es desconocida.

Por otro lado, se ha demostrado que NPC1L1 tiene un papel fundamental en la entrada del virus, debido a su gran afinidad por la PLV. Este transportador actúa en la reabsorción de colesterol de los conductos biliares al hepatocito regulando los niveles plasmáticos.

Todas estas interacciones terminan en un proceso de endocitosis dependiente de clatrina. La endocitosis genera un endosoma, del cual se libera la cadena de ARN viral en el citosol por un proceso dependiente de pH, dando comienzo a la fase de translocación y replicación viral [7,8,9].

1.2.2. TRANSLOCACIÓN Y REPLICACIÓN VIRAL.

La síntesis de proteínas en la célula eucariota está mediada por un ARN mensajero. Gracias a una caperuza de 7-metilguanina en el extremo 5', facilita el acople en la subunidad 40S del ribosoma y favorecer la unión de la subunidad 60S, dando lugar al ribosoma funcional 80S.

El ARN del VHC carece de esta caperuza en 5'. Es sustituida por el complejo de acople del ARN viral en el ribosoma, situado en el extremo 5'. El acople al ribosoma se produce gracias a los bucles III y IV [7].

Formado el complejo de transcripción, se produce la síntesis de las proteínas virales desde el ARN viral. Esta síntesis se inicia con la formación de un precursor proteico, que es transportado a la membrana del retículo endoplasmático. Desde el polipéptido precursor, se produce la escisión de las diferentes proteínas virales, mediado por la actividad proteasa de NS3.

Escindidas todas las proteínas del virus, estas se conforman en la membrana del retículo endoplasmático, cambiando la conformación de la misma, generando una estructura conocida como "red membranosa". En esta situación, se forma el complejo replicativo, formado por proteínas no estructurales NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B [7,8,9].

En primer lugar, NS4B induce la formación de la red membranosa, punto en la membrana del retículo endoplasmático donde se concentran las proteínas víricas. En segundo lugar, se produce la acción helicasa de NS3, seguido de la síntesis de una cadena de ARN de polaridad negativa primaria, que sirve como molde para la obtención del ARN de polaridad positiva del VHC. Seguido, se produce la fosforilación de la cadena ARN- por parte de la NS5A, y, por último, se forman cadenas ARN+ mediante la acción polimerasa de la NS5B.

En este proceso replicativo tiene un papel fundamental el miR122. Este miRNA se encarga de reclutar a la proteína Argonauta 2, que se une al extremo 5' del ARN viral, evitando la actividad de exonucleasas que degradarían este genoma. También interviene la fosfatidil-inositol-4 quinasa III α , activada por NS5A. Mediante su interacción con NS5A, da lugar a una estructura de NS5A estable funcionando. Además, la producción de fosfatidil-inositol-4 fosfato, estabiliza la red membranosa que suporta el complejo replicativo, favoreciendo el acúmulo de colesterol en dicha red membranosa.

1.2.3. ENSAMBLAJE Y LIBERACIÓN.

Este último eslabón del ciclo biológico del VHC está íntimamente relacionado con el metabolismo lipídico.

Antes del ensamblaje, se produce alrededor de la red membranosa un reclutamiento de todos los componentes que darán lugar al virión final. De especial interés son los cuerpos lipídicos (CL), orgánulos formados por una bicapa fosfolipídica, encargados del depósito de acilglicéridos y ésteres de colesterol. Estas organelas se encuentran distribuidas de forma uniforme por el citoplasma en una célula sana, pero en el hepatocito infectado por el VHC se acumulan en la red membranosa. Se han propuesto los CL como lugar de ensamblaje del virión [8,9].

La proteína del core es el eje central de este proceso. Posee dos dominios, un dominio hidrófilo que se une al ARN viral, y otro lipófilo que se une al CL. Así, una vez sintetizada, el core es trasladado a los CLs, lo que sirve de señal para reclutar el resto de proteínas que forman la partícula viral. Existen diferentes factores que influyen en esta unión, lo que se refleja en una inhibición de esta fase. Estos factores actúan a tres niveles principalmente:

- Disminución de la unión core-CL: Es el caso de mutaciones puntuales en la proteína core.
- Descenso en la actividad de proteínas que facilitan la unión: como la proteína diacilglicerol aciltransferasa 1, el factor de transcripción IKK α .
- Alteración de la fluidez del CL: la fosfolipasa A2 citosólica modifica la estructura de los acilglicéridos que forman la CL, lo que modifica la fluidez de la bicapa fosfolipídica.

Tienen un papel protagonista en este proceso varias proteínas no estructurales del VHC. Por un lado, la proteína NS2, que se encarga de reclutar las proteínas de la envoltura (E1 y E2) mediante un proceso en el que, actúa como cofactor la proteína p7, se produce la formación de un complejo E1E2p7NS2. Este proceso es el inicio de la formación del virión, migrando al CL.

Por otro lado, la NS5A actúa también en este proceso, actuando la fosforilación de esta proteína como señal para su interacción con la proteína core, lo que inicia esta fase del ciclo biológico.

Reclutados todos los componentes finales del virión, se inicia el ensamblaje. Este proceso está relacionado con la biogénesis de las VLDL y LDL. En la envoltura del virión se han detectado Apoproteínas, en concreto apo B y apo E, involucradas en el ensamblaje de las lipoproteínas. Se han observado estas apoproteínas asociadas a la envoltura del virión y condicionan la infectividad del mismo. La acumulación de lípidos cerca de la red membranosa a nivel del retículo endoplasmático, durante la formación de la VLDL, da lugar, junto a la baja densidad de la partícula viral, a la PLV. Este proceso es mediado por apo B. Formada la PLV, esta es liberada del hepatocito mediante la misma vía de liberación de la VLDL desde el hepatocito al espacio de Disse [9].

1.3. EPIDEMIOLOGÍA DEL VHC.

La infección por el VHC afecta globalmente a unos 130-180 millones de personas [10, 11]. Esto supone que el 2-3% de la población mundial porta en suero anticuerpos frente al VHC (anti-VHC), lo que supone un grave problema de salud a nivel global [11]. De este número, aproximadamente, el 90% pertenece a población adulta (alrededor de 120 millones) y el 10% restante a población infantil [11]. Se ha encontrado carga viral, es decir, enfermedad activa, en unos 80 millones de estos pacientes [11]. A nivel global las áreas con mayor presencia de viremia son China, Pakistan, Nigeria, Egipto, India, y Rusia, que agrupan casi el 50% de los casos [11].

En Europa, el mayor pico de incidencia se produce entre los 55-64 años [12], siendo Italia y España, respectivamente, los países con mayor prevalencia de anti-VHC [11,12]. Se estima en Europa una prevalencia de 3,7-10 millones [11,12]. La prevalencia en España es aproximadamente de 688.000 pacientes con anti-VHC, de los que 470.000 presentan carga viral [11]. Es destacable el aumento de muertes por complicaciones secundarias a la infección por el VHC, aumentando estas de 330.000 en 1990 a 704.000 en 2013 [13]. Así, las

muertes por carcinoma hepatocelular (CHC) secundario a la infección por VHC ha incrementado entre 1990 y 2013 de 87.000 a 342.000 o las muertes por cirrosis secundaria al VHC [13].

A nivel de genotipo viral, el más común es el genotipo 1 (G1), agrupando al 46% de los virus aislados, de los que un tercio se agrupan en la parte este de Asia. Le siguen los genotipos G3 (22%), G2 (13%), G4 (13%), G6 (2%), y G5 (1%) [11,14,15]. En Europa, el G1 representa el 59%, seguido del G3 (24%), G2 (10%), G4 (5%) y G5 (1,5%), siendo el G6 casi residual (1%). En España, el G1 representa la mayoría de los casos de VHC (69%), de los que el 44% corresponden al genotipo 1b y el resto al genotipo 1a (11). En pacientes coinfectados VIH-VHC, la distribución de genotipos se altera sensiblemente, siendo el G1 el más prevalente (57,8%), seguido del G4 (24,5%), G3 (15,5%) y G2 (1,4%), siendo los genotipos 5 y 6 muy poco frecuentes y asociados a pacientes procedentes de países africanos [16].

Debido a que comparte con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) vías de transmisión, la coinfección VIH-VHC es frecuente, sobre todo en pacientes que han adquirido la infección por consumo de drogas de vía parenteral [17]. Se estiman entre 2,3-4 millones de coinfectados a nivel global [14,18]. En Europa, el 32% de pacientes VIH presentan anti-VHC [19]. En España, el 37% de los enfermos de VIH presentan anti-VHC, presentando enfermedad activa el 22% de los mismos [20].

2. PATOLOGÍA DE LA HEPATITIS C.

La historia natural de la hepatitis C comprende una fase aguda y, en la mayoría de los pacientes, una fase crónica. La hepatitis aguda por VHC es un proceso muy variable, abarcando desde formas subclínicas, hasta cuadros sintomáticos, a veces graves.

2.1. HEPATITIS C AGUDA.

Se estima una incidencia de 4 millones de casos nuevos anuales [21]. El VHC tiene un periodo de incubación de 2-12 semanas [22]. La fase aguda de la enfermedad, en la mayoría de los casos, es asintomática [22,23,24], manifestándose estos en un 15% de los enfermos [22]. Puede tener una duración de unos seis meses.

Suele ser una enfermedad leve, por lo que es infradiagnosticada. Cuando se manifiestan los síntomas, lo hacen de forma parecida a una gripe. En la minoría de los enfermos aparece clínica hepática, como es la ictericia (en un tercio de los pacientes), orina oscura, dolor en hipocondrio derecho y anorexia [23,24].

La mayor complicación clínica de la hepatitis C aguda es la cronificación de la infección. Así, se considera enfermedad crónica la presencia de carga viral detectable durante más de seis meses. Se estima que el 60-85% de los enfermos de hepatitis C aguda, cronificarán la infección [23].

En el 15-40% restante de los infectados por el VHC se va a observar un aclaramiento espontáneo del virus. Se denomina aclaramiento espontáneo del VHC a la presencia de anti-VHC con ausencia de carga viral, sin la administración de un tratamiento específico [23].

El aclaramiento espontáneo de la infección se asocia a varios factores, como es el sexo, encontrando en mujeres mayores tasas de aclaramiento que en hombres [25,26] o la presencia de ciertos genotipos favorables.

Algunos de estos genotipos protectores son el polimorfismo rs12979860 en el gen de la interleuquina 28 B (IL28B) o en el antígeno leucocitario de

histiocompatibilidad (HLA) DQB1*0301 [22,27,28]. Así, son diferentes los estudios que muestran la asociación del polimorfismo rs12979860 de la IL28B con el aclaramiento espontáneo del virus [26,27,29].

En el contexto de la infección aguda por el VHC, es primordial, una vez diagnosticada, reconocer cuales son ese 15-40% de pacientes que van a mostrar un aclaramiento espontáneo del VHC. Encontrar estos pacientes implica principalmente administrar un tratamiento a enfermos que no lo van a necesitar. Se disminuye de ese modo la incidencia de efectos adversos y se controla el gasto sanitario, al hacerse un uso racional de los recursos.

El principal problema de la categorización de los pacientes en base a los polimorfismos del gen IL28B, es que no explica el 100% de los casos. Es decir, según los diferentes estudios [26,27,29], alrededor del 60% de enfermos portadores del polimorfismo citosina-citosina (CC) favorable muestran aclaramiento espontáneo del virus. En el 40% de los pacientes con el polimorfismo CC cronifica la infección.

En contra partida, el 30% de los pacientes con genotipos desfavorables timina-timina (TT) o citosina-timina (CT), muestran aclaramiento espontáneo del VHC.

Aun con esta salvedad, en las diferentes guías clínicas [30,31], la determinación de los polimorfismos del gen de la IL28B, es el único marcador genético recomendado para considerar la evolución del paciente.

2.2. HEPATITIS C CRÓNICA.

Se trata de una enfermedad de lenta evolución, que, unido a la casi inexistencia de síntomas, hace que la mayoría de los pacientes sean diagnosticados en estados avanzados de la enfermedad [23]. Entre los signos más característicos se presentan las mialgias y artralgias, junto elevaciones de las transaminasas. La patología presenta complicaciones hepáticas o extrahepáticas.

2.2.1. COMPLICACIONES INTRAHEPÁTICAS DE LA HEPATITIS C.

Las complicaciones hepáticas derivan de la inflamación crónica y el daño que sufre el hígado durante la infección por el VHC, así como al estrés oxidativo generado por la respuesta inmunológica. Se trata de un proceso evolutivo, caracterizado por una evolución paulatina del grado de fibrosis hepática hasta cirrosis hepática, enfermedad hepática terminal y, en algunos casos, hepatocarcinoma [32].

2.2.2.1. FIBROSIS HEPÁTICA.

El primer escalón de este proceso es la fibrosis hepática. Se caracteriza por la formación de tejido conectivo en el hígado. La muerte de los hepatocitos da lugar a la activación de vías inmunológicas y fibrogénicas que terminan con el depósito de proteínas de la matriz extracelular que van a ser el inicio de la cicatrización del tejido hepático [33].

La fibrosis no es un proceso lineal en el paciente de hepatitis C, si no que se ve influenciada por la duración de la infección y el envejecimiento [34,35]. Además, en la fibrosis hepática intervienen diversos factores ambientales (enolismo) y factores metabólicos (esteatosis, insulino-resistencia, diabetes, obesidad).

Algunos de estos factores, especialmente los metabólicos, se ven exacerbados en el paciente con infección del VHC, lo que da lugar a una mayor incidencia de la fibrosis hepática en estos enfermos que en las otras condiciones de forma aislada [23]. En la mayoría de los casos de respuesta al tratamiento de la hepatitis C, se produce una regresión del proceso fibrótico [36,37,38].

2.2.2.2. CIRROSIS HEPÁTICA.

Conforme mayor es el grado de fibrosis, la lesión avanza hasta una cirrosis hepática, punto final de la mayoría de las patologías que afectan al hígado.

Además de la fibrosis del hígado, se observan zonas isquémicas, producto de la alteración de la circulación hepática, que terminan produciendo nódulos de regeneración.

El depósito progresivo de colágeno produce un aumento de la resistencia intrahepática al flujo portal, con el desarrollo de hipertensión portal y posterior disfunción circulatoria sistémica que caracteriza a la cirrosis. Esta situación de cirrosis se da en un 20-25% de los pacientes con hepatitis C crónica [39].

Debido a las descompensaciones de la cirrosis, aparecen complicaciones como la ascitis o las varices esofágicas y el riesgo de sangrado que conllevan, además de encefalopatía hepática e ictericia en casos avanzados.

Existen diferentes algoritmos para pronosticar el grado de cirrosis. El primero de estos fue el score de Child-Turcotte-Pugh (CTP). El CTP clasifica la cirrosis en tres clases A, B y C, según el resultado obtenido tras la suma de puntos que se le dan a una serie de medidas hepáticas. Las variables incluidas son bilirrubina total, albúmina, tiempo de protrombina/INR, presencia de ascitis y presencia de encefalopatía hepática (tabla 1).

La escala CTP tiene dos problemas fundamentales. El primero es no poder distinguir entre los diferentes grados de clase C o severidad (efecto “techo” para la bilirrubina y efecto “suelo” en la albúmina). El segundo problema es que no incluye el daño renal dentro de las variables, ya que es un marcador de pronóstico de cirrosis y daño hepático agudo.

	Clase A	Clase B	Clase C
Puntuación	5-6	7-9	10-15
Factor/puntuación asignada	1 punto	2 puntos	3 puntos
Bilirrubina total (µmol/L)	<34	34-50	>50
Albúmina sérica (g/L)	>35	28-35	<28
Tiempo protrombina/INR	<1.7	1.71-2.30	>2.30
Ascitis	No	Leve	Moderada-severa
Encefalopatía hepática	No	Grado I-II (suprimida con medicación)	Grado III-IV (refractaria)

Tabla 1. Clasificación CTP.

Otra escala usada para medir la cirrosis es el modelo de fase terminal de enfermedad hepática (MFTEH). La principal novedad es la inclusión de la función renal en el cálculo de probabilidad. Así, el algoritmo tiene en cuenta la bilirrubinemia, el INR, creatinina y la causa de la cirrosis (alcohólica u otra causa como hepatitis viral). El modelo a usar es: $R = 9.6 * \ln(\text{creatinina mg/dL}) + 3.8 * \ln(\text{bilirrubina mg/ dL}) + 11.20 * \ln(\text{INR}) + 0.64 * (\text{causa de la cirrosis; 0: enolismo o colestasis hepática; 1: hepatitis viral u otra enfermedad hepática})$.

2.2.2.3. CARCINOMA HEPATOCELULAR.

La principal complicación de la hepatitis C a largo plazo es el CHC. El VHC es el segundo factor de riesgo en paciente con CHC precedido de la hepatopatía alcohólica en Estados Unidos [40]. La incidencia del CHC debido a la infección por el VHC se incrementó en un 102% entre 1993 y 1999, manteniéndose incidencia por hepatopatía alcohólica constante [40]. En España, el 83% de los casos de CHC presenta hepatitis C crónica.

Las vías en que el VHC induce el CHC no están claras aún. Se estipula que la cirrosis que genera la infección crea un ambiente idóneo para la carcinogénesis. Además, se piensa que las proteínas víricas tienen efecto carcinogénico “per se” [41,42].

La liberación de radicales libres, la respuesta inmune y la liberación de proteínas matriciales desde las células estrelladas, que genera la fibrosis inducida por la infección del VHC, dan lugar a cambios genéticos en el hepatocito. Estas mutaciones alteran las vías oncogénicas paracrinas, estimulándose diferentes factores de crecimiento, dando lugar a la instauración del CHC [43].

En la infección por el VHC, el riesgo de sufrir CHC se aumenta según lo hace el grado de fibrosis hepática. Así, sobre el 90% de los CHC tienen como base una fibrosis hepática o una cirrosis [44]. La rigidez hepática indicativa de cirrosis es un factor predictivo de descompensación hepática, entre ello el CHC [45,46].

Así, el aumento de una unidad de rigidez hepática aumenta un 11% el riesgo de sufrir CHC [47]. En pacientes donde se observa eficacia del tratamiento frente al VHC, la consistencia de la fibrosis hepática es indicativo de mayor riesgo de padecer CHC [48].

2.3. LA COINFECCIÓN CON EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA.

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), comparte con el VHC vías de transmisión. Sobre todo, vías sexuales y por transfusión sanguínea [15].

Por este hecho, y por la inmunodeficiencia generada por el VIH [49,50,51], el paciente coinfectado VIH/VHC es una entidad patológica frecuente, con una serie de características clínicas propias.

Así, tras la infección aguda, la tasa de aclaramiento espontáneo disminuye al 10-15%, lo que supone que la coinfección favorece la cronicidad, favoreciéndose las complicaciones de la misma. Se ha observado en este sentido, que las células NK mejoran el aclaramiento del virus en estos pacientes por vías dependientes de interferón [52,53]

Instaurada la hepatitis C crónica, la viremia es mayor que en el paciente mono infectado, especialmente, esto es destacable cuando el recuento CD4 se ve muy comprometido [53,54,55]. Relacionado con esta mayor viremia, el curso de la enfermedad es peor. Así, la patología hepática de la infección por el VHC se ve favorecida [55,56,57,58,59,60,61,62].

Macías y colaboradores [56], en una muestra de 142 pacientes, observan que la esteatosis hepática es frecuente en el paciente coinfectado VIH/VHC, calculando una frecuencia de esteatosis del 60% al inicio del estudio. Además, en este estudio, se realizó seguimiento de los pacientes mediante biopsia hepática, separadas unos 3 años. Durante el seguimiento se ve un incremento de la hepatoesteatosis al 77%. También indican que, durante el seguimiento, el grado de esteatosis aumenta, presentándose en la segunda biopsia mayor frecuencia de pacientes con criterios de esteatosis. Así, observan un

incremento de al menos un grado, en la escala de medida de estosis, en el 40% de los pacientes. Estos cambios se vieron asociados al uso de antiretrovirales didesoxinucleosídicos y la glucemia.

En el metaanálisis de Graham y colaboradores [57], encuentran que la descompensación hepática es más frecuente en el paciente coinfectado VIH/VHC que en el mono infectado VHC. Además, esta descompesación es más rápida, especialmente en el caso de la fibrosis hepática, donde el aumento del grado de fibrosis puede ser de hasta 0,181 al año en el paciente coinfectado VIH/VHC y de 0,135 anual en el mono infectado, lo que genera que la descompesación cirrótica se exprese antes, a los 26 años desde la infección en el paciente coinfectado frente a los 36 años en el enfermo mono infectado VHC [58].

Sulkowski y colaboradores [59], observan en una muestra de 174 coinfectados no cirróticos que, en las biopsias hepáticas seperadas al menos 3 años, en el 24% se produce un aumento significativo de la fibrosis en al menos dos grados de la escala Ishak.

Soto y colaboradores [60] indican que a los 5, 10 y 15 primeros años de la coinfección VIH/VHC, aproximadamente el 15% de estos enfermos manifiestan cirrosis, frente al 3% de los pacientes mono infectados VHC. El tiempo medio de aparición de la cirrosis fue de de 7 años en el paciente coinfectado VIH/VHC y de 23 años en el enfermo mono infectado.

Macías y colaboradores [61] observan que el 54% de los pacientes incluidos en su estudio sufren un incremento en el grado de fibrosis. De los pacientes incluidos que no mostraban fibrosis al inicio del estudio, un 32% muestran aumento de al menos un grado la fibrosis.

Al igual que los anteriores, Konerman y colaboradores [62], observan una rápida evolución de la fibrosis hepática en el paciente coinfectado, con una aparición media de 2,5%. En estos pacientes, el nivel de transaminasa elevado se asoció estadísticamente a la rápida evolución de la fibrosis, al igual que los paneles séricos basados en la determinación de estos dos analitos. También,

la glucemia, la obesidad y el grado de hepatoesteatosis basales se relacionaron con la evolución de la fibrosis.

Lo Re y colaboradores [63] muestran que los pacientes coinfectados VIH/VHC presentan un peor pronóstico de la enfermedad hepática que los mono infectados por el VHC, incluso cuando el grado de fibrosis es mínimo. Así, observan mayor descompensación hepática, manifestada con la presencia de ascitis, peritonitis bacteriana espontánea, varices esofágicas o encefalopatía hepática, en el paciente coinfectado VIH/VHC. Esto se ve favorecido por una carga viral del VHC alta. En estos pacientes, la mortalidad también es mayor, al igual que la presencia de carcinoma hepatocelular.

En un estudio descriptivo de Pineda y colaboradores de 2005 [64], exponen que las principales descompensaciones en los pacientes coinfectados son la peritonitis bacteriana, la encefalopatía hepática, la ascitis y la ictericia. También muestran que las principales causas hepáticas de muerte en los pacientes coinfectados VIH/VHC son la peritonitis bacteriana espontánea y la encefalopatía hepática.

En este estudio de Pineda de 2005, se compara la supervivencia global de los pacientes VIH/VHC frente a la de los enfermos mono infectados VHC. Así, al año de seguimiento, la tasa de supervivencia es del 74% en el paciente VHC frente al 54% del paciente coinfectado VIH/VHC.

La fibrosis hepática se manifiesta en el paciente coinfectado VIH/VHC, aproximadamente, a los tres años de detectar la infección por el VHC, pero en pacientes donde el grado de fibrosis basal es bajo o moderado, la respuesta al tratamiento frente al VHC es positiva y el tratamiento antirretroviral es efectivo, esta progresión es más lenta [60]. Así, Macías y colaboradores [65], observan que, en los pacientes con menor grado de fibrosis hepática, independientemente del método de medida, el riesgo de sufrir fibrosis o de muerte por la descompensación hepática producida es menor que cuando el grado de fibrosis es mayor a nivel basal. Especialmente al inicio de la infección por el VHC.

En este sentido, son muchas las evidencias de que la eficacia del tratamiento frente al VHC mejora el transcurso de la hepatitis C en el paciente VIH [66,67,68]. En general, la medida de la eficacia del tratamiento frente al VHC se realiza en base a la respuesta viral sostenida (RVS), que se define como la carga viral del VHC indetectable a las 12 ó 24 semanas de haber terminado el régimen terapéutico [31].

Así, Berenguer y colaboradores [66], en pacientes coinfectados VIH/VHC, tratados con interferón pegilado y rivabirina, muestran que la descompensación hepática a la infección con el VHC se manifiesta en menor medida cuando se produce RVS. También, en estos pacientes, cuando la RVS es manifiesta, el grado de fibrosis es menor.

Estudiando pacientes coinfectados VIH/VHC con diferente grado de cirrosis hepática, Limketkai y colaboradores [67] observan que en los enfermos con nula RVS o no tratados, la incidencia de descompensación hepática es mayor que en los pacientes donde se manifiesta RVS, en los que no observan la presencia de descompensación hepática. En este estudio se relaciona la RVS con mayor tiempo libre de descompensación hepática.

Finalmente, Mira y colaboradores [68], observan que el riesgo de sufrir descompensación hepática al año es del 0% en pacientes con RVS y del 15% en enfermos no RVS, con una mortalidad global mayor en este segundo grupo de pacientes coinfectados VIH/VHC.

Otro aspecto importante en la coinfección VIH/VHC, es el genotipo infectante del VHC. Así, Price y colegas [69], comparando enfermos coinfectados VIH/VHC y mono infectados VHC, observan que los infectados por el genotipo 3 del virus, manifiestan menor grado de hepatoesteatosis que los individuos del grupo control (personas no infectadas por el VHC).

Al igual que ocurre con las complicaciones hepáticas, las complicaciones extrahepáticas asociadas a la infección por el VHC se ven alteradas en el paciente coinfectado VIH/VHC [70], viéndose una mayor celeridad en la aparición de las mismas.

La RVS es un factor protector frente a la aparición de las manifestaciones extrahepáticas, como muestra Berenguer y colaboradores [71]. En este estudio, demuestran que la RVS se relaciona con un descenso significativo del riesgo de padecer diabetes mellitus en el paciente coinfectado. También observan menor presencia de enfermedad renal en pacientes coinfectados VIH/VHC respondedores al tratamiento frente a la hepatitis C.

Esta resistencia a la insulina favorece la fibrosis hepática, además de acelerarla [72]. Pacientes coinfectados VIH/VHC con un índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR) superior o igual a 2 presentaron mayor grado de fibrosis hepática que los que presentaban un HOMA-IR inferior a dos.

Por el contrario, otros autores [73,74] no encuentran esta asociación del HOMA-IR con la progresión de la fibrosis hepática. En el estudio de Merchante y colaboradores, explican que la fibrosis se relaciona con el tratamiento previo al VIH con nevirapina [73].

Por su parte, en el estudio de Halfon y colegas [74], aunque los enfermos coinfectados VIH/VHC manifestaban más fibrosis hepática, ésta no se relacionó con la insulinoresistencia. En cambio, en este estudio sí se encuentra relación entre el grado de HOMA-IR y la esteatosis hepática. Por otra parte, relacionan de forma directa el grado de fibrosis con la actividad inflamatoria en los pacientes coinfectados VIH/VHC.

Algunas citoquinas proinflamatorias como la interleucina 18, se encuentran elevadas en los pacientes coinfectados VIH/VHC, lo que genera un mayor riesgo de enfermedades que cursan con inflamación como algunas patologías renales o las enfermedades cardiovasculares [75]. En este sentido, las enfermedades cardiovasculares, como son el infarto de miocardio o la angina de pecho, son más comunes en el paciente coinfectado VIH/VHC, en comparación con el enfermo mono infectado por el VHC o por el VIH [76].

3. RESPUESTA INMUNE FRENTE A VIRUS

La inmunidad innata o inespecífica es la primera barrera del organismo frente a la infección. Se caracteriza por ser de rápida respuesta y de no producir memoria inmunológica.

El VHC necesita invadir el hepatocito para usar la maquinaria sintética del mismo y poder replicarse. Frente a este, la inmunidad innata actúa de dos modos:

- 1) Fagocitando de modo directo el patógeno: mecanismo usado frente a bacterias.
- 2) Reconocimiento de la célula infectada y su lisis por células citotóxicas: proceso mediado por las células CD8, gracias a la exposición de antígenos propios del virus por moléculas HLA de clase I y reconocimiento por TCR [77]. Este segundo modo, es el usado normalmente frente a virus.

Para escapar de estos procesos de defensa relacionados con las células citotóxicas CD8, en general, los virus adoptan varios mecanismos relacionados con las moléculas HLA. [77]:

- Inhibición de la síntesis de proteínas: se bloquea la producción de las HLA clase I y con ello se evita el exponer los antígenos extraños a las CD8, por lo que no son reconocidas como extrañas.
- Evitar la exportación de moléculas HLA a la superficie celular: el resultado final es el mismo que en el anterior mecanismo.
- Alteración de los patrones de glicosilación.

Estos mecanismos eluden la respuesta por linfocitos T CD8 citotóxicos. Esta desregulación que se genera en la expresión HLA es el factor desencadenante de la respuesta de los linfocitos NK. La menor presencia o la ausencia total de HLA en la célula infectada y no en la sana es el inicio de una polarización de los gránulos citotóxicos hacia la sinapsis inmunológica carente de la interacción

KIR-HLA y consecuentemente de la citotoxicidad [78].

3.1. EL ANTÍGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD LEUCOCITARIO DE CLASE I.

Las moléculas HLA-I se codifican en el cromosoma 6. Son el ligando principal de los receptores KIR, modulando con ello su actividad.

Se expresan en la superficie de todas las células del organismo, siendo su función normal la de presentar antígenos (propios y extraños) generados en el interior de la célula, con lo que son la base de la autotolerancia que caracteriza al sistema inmunológico. En concreto, presentan antígenos a los linfocitos T.

Son moléculas altamente polimórficas, sobre todo a nivel de la ranura o hendidura de unión a péptidos, siendo esta característica en la que se basa su función biológica de presentación de antígenos.

Estructuralmente, las HLA de clase I se forman por dos cadenas polipeptídicas. La cadena pesada o α semeja dominios inmunoglobulina. Se forma por tres dominios ($\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$) y se distinguen dos partes en ella: una región más conservada formada por $\alpha 3$ (que ancla la estructura a la membrana celular) y una región variable ($\alpha 1$ y $\alpha 2$, encargadas de exponer los antígenos y es la porción polimórfica de la molécula).

Asociada se encuentra la $\beta 2$ -microglobulina. Esta segunda cadena polipeptídica se codifica desde el cromosoma 15 y no es polimórfica [79].

Para nombrar a las moléculas HLA, existen dos designaciones generales: serológica y alélica [80].

- Designación Serológica: según la reactividad de células del individuo frente a diferentes antisueros (A, B, C...) y un número que indica el orden de descripción de la especificidad. La designación serológica Bw4 y Bw6 se refiere a especificidades subtípicas de la molécula HLA-B a nivel de los dominios α en los aminoácidos 77 y 83.
- Designación Alélica: incluye el nombre del *locus* génico seguido de un

asterisco y un número como mínimo de dos dígitos. Los dos primeros dígitos se basan en la designación serológica y/o la secuencia nucleotídica similar a otros alelos. Tercer y cuarto dígito se refiere al orden de descripción del alelo. El quinto y sexto distinguen las diferentes secuencias de nucleótidos de los alelos. Los siguientes dos dígitos indican diferencias en las secuencias de ARN mensajero. Los alelos que finalmente no culminan en la expresión de proteína se añade al final de la serie numérica la letra N de “nulo”.

Las moléculas HLA de clase I se clasifican en clásicas (HLA-A, B y C) y no clásicas (HLA-E, F y G). Esta distinción se hace en base a que las HLA de clase I no clásicas son menos polimórficas, no están directamente relacionadas con la unión a péptidos [79], su expresión en la superficie celular es baja y normalmente tejido específica [80].

3.2. EL RECEPTOR KIR

La información referida al receptor KIR se estructura en 14 genes y 2 pseudogenes encuadrados en el brazo corto del cromosoma 19.

Se trata de una familia de genes inusualmente compacta [81] y altamente polimórfica [82,83]. El número y tipos de estos receptores son muy variables entre individuos. Desde este *locus* se transcribe información de la que finalmente se obtienen dos grandes grupos de receptores KIR: Activadores e Inhibidores.

La nomenclatura de los receptores KIR se forma desde las características estructurales de los mismos [84,85]. Así, se basa en el número de dominios extracelulares: 2D (dos dominios) o 3D (tres dominios) y en el tamaño del tallo intracitoplasmático: L (Largo) o S (Corto). Mediante un dígito al final se indica el gen que codifica a la proteína.

Estructuralmente los receptores pueden tener 2 ó 3 dominios globulares tipo inmunoglobulina extracelulares, encargados de reconocer a los ligandos. Existe diversidad en la configuración de estos dominios globulares [86]. Estas

configuraciones reflejan relaciones evolutivas, dando lugar a tres linajes de receptores KIR [86].

Cada grupo se diferencia en la longitud del tallo citoplasmático y en los motivos tirosin-quinasa asociados a los mismos. Estos dos componentes se encargan de transmitir la señal que regulará la actividad de la célula NK [84]. Así:

- Activadores: formados por un tallo citoplasmático corto y asociados a motivos tirosin-quinasa activadores o ITAMs.
- Inhibidores: tienen un tallo citoplasmático largo y se asocian a motivos tirosin-quinasa inhibidores o ITIMs.

Los motivos ITAMs contienen la secuencia $Yxx(L/I/V)_{x_{6-8}}xx(L/I/V)$. Estos se encuentran asociados a proteínas adaptadoras de la señal. Se trata de DAP12.

Por el contrario, los motivos ITIMs tienen la secuencia peptídica general $I/VxYxxL/V$, encargada de reclutar proteínas con actividad tirosin-fosfatasa, cruciales a la hora de mediar la actividad inhibidora y favorecer la cascada de reacciones inhibidoras.

La excepción de la norma general es el receptor KIR2DL4, ya que tiene acción activadora de la célula NK, pero el tallo citoplasmático es largo. El dominio ITAM se acopla a un adaptador diferente de la señal, FcεRI-γ. Este receptor es principalmente expresado en las células NK CD56^{bright}, involucrándose de este modo más en procesos de regulación que de citotoxicidad [84].

El alto polimorfismo de los receptores KIR se obtiene por dos eventos principales: Recombinación Homóloga y Recombinación Asimétrica. Estos procesos dan lugar a una gran diversidad de haplotipos, que se agrupan en dos grandes grupos de haplotipos [81]:

- Haplotipos A: Incluye a los receptores inhibidores KIR2DL1, KIR2DL3 y KIR3DL1; los receptores activadores KIR2DS4 y KIR2DL4, además del KIR3DL3 cuya función no es todavía entendida. Todos se expresan en los individuos que lo portan.

- Haplotipos B: Su composición es menos constante. Se incluyen los activadores KIR2DS1,2,3,5 y KIR3DS1 y al inhibidor KIR2DL5. Además, puede incluir a todos los KIR incluidos en el haplotipo A. Así, en este haplotipo B se dan diferentes combinaciones de receptores KIR [87].

El haplotipo A se considera más conservado, evitando la respuesta NK, mientras que el haplotipo B aparece en condiciones más experimentales, para deshacerse de la infección.

En principio, cada uno de ellos se relaciona con una finalidad, el haplotipo A con la respuesta a patógenos [88, 89, 90] y el haplotipo B con aptitudes reproductivas [88, 91].

Existe un conjunto de receptores KIR que son expresados en todos los individuos, siendo comunes en todos los haplotipos conocidos como “framework”. Se trata de los inhibidores KIR2DL4, KIR3DL2 y KIR3DL3, junto al pseudogen KIR3DP1 [81].

3.3. LA INTERACCIÓN KIR-HLA Y SU RELACIÓN CON EL PACIENTE INFECTADO POR VHC.

En la sinapsis inmunológica, los receptores KIR reconocen a su ligando HLA a nivel de los dominios variables $\alpha 1$ y $\alpha 2$. El reconocimiento del alelo HLA se produce por los dominios más distales del receptor KIR. Este se basa en el reconocimiento de residuos de aminoácidos considerablemente conservados, tanto en la molécula HLA como en receptor KIR, pero ligeros polimorfismos en estos residuos dan lugar al reconocimiento [83,92].

Un claro ejemplo de estos residuos conservados se observa en la interacción KIR/HLA-C [88]. La interacción receptor-ligando se produce sobre un residuo de 12 aminoácidos, 11 de ellos constantes en la molécula HLA. El reconocimiento se basa en un dimorfismo a nivel de las posiciones 77 y 80 del dominio $\alpha 1$ [93].

En esta interacción también influye el dimorfismo a nivel del receptor KIR, en concreto a nivel del residuo 44, involucrando a los aminoácidos metionina y

lisina [83].

Basado en estas interacciones, los diferentes alelos HLA-C se pueden agrupar en dos grupos [93, 94]:

- C1: caracterizado por la presencia de serina en posición 77 y de asparragina en 80. Encuadra a los alotipos HLA: Cw1, Cw3, Cw7, Cw8, Cw12, Cw13, Cw14 y Cw16. Son ligandos de los receptores KIR2DL2, KIR2DL3 y KIR2DS2 (contienen una lisina en 44).
- C2: se presenta una asparragina en 77 y lisina en posición 80. Se agrupan aquí a los HLA: Cw2, Cw4, Cw5, Cw6, Cw15, Cw17 y Cw18. Interaccionan con receptores KIR2DL1 y KIR2DS1 (con metionina en 44).

Estas interacciones tienen diferente intensidad según el receptor, así la unión KIR2DL3/HLA-C1 es más débil que la producida entre KIR2DL2/C1 o KIR2DL1/C2. La afinidad de unión también varía si se trata de un receptor activador, siendo en este caso más débil, que si es inhibidor, que se será más fuerte [95].

Los hitos que definen la interacción de KIR3DL1 y 3DS1 con HLA-B, en vez de con HLA-C, se deben a dos dimorfismos que existen en estos alotipos, que son el aminoácido 76 (valina en HLA-C y glutamato en HLA-B) y la polaridad del aminoácido en 69, apolar en HLA-C y polar en HLA-B [83].

La afinidad específica por HLA-Bw4 por parte de ese receptor se debe a la presencia de una isoleucina en posición 80 [83,92], leucina en 82 y arginina en 83 [83]. HLA-Bw6 no sirve de ligando para los receptores KIR.

KIR3DL1 interactúa también con algunas HLA-A, como 23, 24, 30 ó 34. La unión de KIR3DL2 con alotipos HLA-A3 y 11 se deben también a estos dimorfismos en estos residuos conservados.

Aun así, el ligando de algunos de los receptores KIR no ha sido identificado. Esto ocurre en los inhibidores: 2DL5 y 3DL3; y en los activadores: 2DS3 y

2DS5. Por su parte, el receptor KIR2DL4 interactúa con HLA-G, implicado en la tolerancia NK al feto durante el embarazo.

En el contexto de la infección por el VHC, se han observado asociaciones entre esta interacción KIR-HLA, las moléculas involucradas de forma aislada y la evolución del paciente con hepatitis C.

Así, la presencia de KIR2DL3/HLA-C1 favorece una mejor respuesta a la infección viral, sobre todo en la fase aguda de la enfermedad [96, 97]. Principalmente debido a su menor afinidad por su ligando HLA-C que el resto de KIR, favoreciéndose las interacciones KIR-HLA activadoras de la célula NK [96, 97]. Por tanto, KIR2DL3 es un factor protector frente a la infección por VHC. Además de esta característica, KIR2DL3 se relaciona con mejor pronóstico de la terapia con interferón [97, 98, 99].

Khakoo y colaboradores [100] también muestran que la interacción KIR2DL3/HLA-C1 es un factor protector frente al VHC. En este estudio, los pacientes con la presencia de KIR2DL3, pero la ausencia de HLA-C1, no resuelven la infección. Según Khakoo y colaboradores, la interacción tiene un efecto protector sinérgico en homocigosis (individuos KIR2DL3-2DL3/HLA-C1C1), en contra de los efectos opuestos de cada uno por separado.

Existen revisiones, como la de Bozzano y colaboradores [101] donde exponen que la interacción KIR2DL3/HLA-C1, además de la de KIR2DL1 y 2DL2 con la de sus ligandos HLA-C2 y C1 respectivamente, se asocian a una baja tasa de respuesta a la terapia.

Rauch y colaboradores, estudiando pacientes coinfectados VIH/VHC observan que la presencia de este genotipo KIR2DL3/HLA-C1 en homocigosis no aporta beneficio en el caso de VHC secundaria a una infección por VIH [102].

La coexpresión de KIR2DL3 y KIR2DS4 produce un efecto protector frente a VHC, facilitando además la eliminación espontánea del virus [103]. Además, la coexpresión de KIR2DL2 y KIR2DS4 es indicador de buen pronóstico de la infección [103].

Otro receptor KIR asociado a una buena eliminación viral es KIR2DS5, especialmente en persona infectadas con genotipo 1 del VHC [104].

Carneiro y colaboradores muestran que KIR2DL5 se asocia con el fracaso de la terapia y peores tasas de aclaramiento del virus. Este hecho, es muy significativo en pacientes infectados con genotipo 1, donde un 70% de los pacientes no respondedores portan este gen, frente al 42% en pacientes con RVS [105].

Ya sea con el uso de técnicas genéticas [29, 104] o de citometría de flujo [106, 107, 108], la expresión de KIR2DL2/3 se asocia a un peor pronóstico y cronicidad de la enfermedad, además de correlacionar de forma negativa con RVS. Golden-Manson y colaboradores [107] reportan que la presencia de KIR3DL1 y el receptor inhibidor NKG2A se relaciona con fallo en el tratamiento.

En enfermos coinfectados VIH/VHC, Rivero-Juárez y colaboradores muestran que la interacción KIR3DS1/HLA-Bw4, se relaciona con una respuesta viral rápida (RVR), definida como carga viral indetectable tanto en la semana 1, 2 y 4 tras iniciar la terapia. Tanto el no ser portador de KIR3DS1 o mostrar la interacción KIR3DS1/HLA-Bw6 se relaciona menores tasas de RVR. Cuando la interacción KIR3DS1/HLA-Bw4 se asocia a la presencia de un genotipo de buen pronóstico como es IL28B-CC, las tasas de RVR son mayores que si no se presenta la asociación. También, KIR3DS1/HLA-Bw4 se asocia a RVS [109]. En este mismo sentido, Khakoo y colaboradores [100] observan que la interacción KIR3DS1/Bw4 tiene efecto protector. Por el contrario, Paladino y colaboradores [110] muestran que la interacción KIR3DS1/HLA-Bw4 se relaciona con un mayor riesgo de cirrosis y lesión crónica.

Dring y colaboradores. [111] observan mayor frecuencia de KIR2DS3 en infectados crónicos. Suppiah et al. [29] expone que la interacción de KIR2DS1/2 y sus ligandos no afectan al aclaramiento en pacientes tratados. Khakoo y colaboradores [99] muestran que KIR2DS1/2 se asocia a casos resueltos. Keane et al. [112] observa que la presencia de KIR2DS3 se asocia a fallo de la terapia y aporta además que junto a la presencia de un genotipo TT

de IL28B, el riesgo de fallo en la terapia es alto.

4. MANEJO CLÍNICO DE LA INFECCIÓN.

4.1. ABORDAJE DE LA INFECCIÓN AGUDA.

Debido a las características propias de la fase aguda de la infección, la identificación de estos pacientes es difícil, como ya se comentó anteriormente.

Ante la presencia de un paciente sospechoso de padecer infección por el VHC, la primera acción es el diagnóstico de laboratorio.

Este diagnóstico se basa primero en el uso de pruebas de cribado, mediante la determinación de anticuerpos anti-VHC. Generalmente se realiza por técnicas de enzimoimmunoensayo, como ensayos por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) y los inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA) [113].

Tras la positividad de la prueba de cribado, se realiza una prueba de confirmación, más específica. Existen dos metodologías, las basadas en la determinación antígenos frente a proteínas específicas del VHC, mediante inmunotransferencia o western-blot (conocidas coloquialmente como RIBA), y las basadas en la búsqueda del material genético del VHC, mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) [113].

Es en este punto dónde, la búsqueda de los pacientes con alta probabilidad de mostrar aclaramiento espontáneo del virus, tiene un gran interés. Como se ha comentado, racionaliza el uso de la terapia frente al VHC y evita que se traten pacientes que no van necesitar del tratamiento para curarse de la infección. Actualmente, esta búsqueda presenta unas limitaciones ya comentadas.

4.2 ABORDAJE DE LA INFECCIÓN CRÓNICA. MONITORIZACIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA.

La principal consecuencia clínica de la hepatitis C crónica es la fibrosis hepática, especialmente por las complicaciones que derivan de ella, como la cirrosis y el carcinoma hepatocelular.

Así, es de especial interés el control de la fibrosis, existiendo diferentes métodos de evaluación, de los que la biopsia hepática es el gold estándar.

Los métodos de monitorización de la fibrosis y sus complicaciones se clasifican en procedimientos invasivos (biopsia hepática, medición del gradiente de presión venosa hepática [GPVH] y endoscopia) y no invasivos (marcadores séricos, métodos radiológicos clásicos y métodos elastográficos).

4.2.1 MÉTODOS INVASIVOS.

La biopsia hepática determina el estadio de fibrosis además de la actividad necroinflamatoria y la presencia de esteatosis. Permite establecer el pronóstico de la infección, la urgencia e indicación del tratamiento y predecir la respuesta al mismo. Sin embargo, tiene el inconveniente de ser una técnica invasiva.

La precisión diagnóstica de la biopsia depende del tamaño de la pieza biopsiada y del grado de fragmentación, que puede generar hasta un 30% de falsos positivos. Se puede aumentar la precisión diagnóstica mediante técnicas histológicas específicas como la tinción con Rojo Sirius.

Por otra parte, existe una variabilidad interobservador, no despreciable, en el análisis de la biopsia. Esta variabilidad se intenta disminuir con el uso de escalas realizadas específicas en el caso de las hepatitis virales, como es la escala METAVIR, tabla 2 [114], el índice de actividad histológica o índice de Knodell, tablas 3 y 4 (IAH) [115], la escala modificada de Ishak [116] o la clasificación de Scheuer [117].

Necrosis Progresiva		Necrosis Lobular		Puntuación de Actividad Histológica
0 (ninguna)		0 (ninguna o leve)		0 (ninguna)
0		1 (moderada)		1 (leve)
0		2 (grave)		2 (moderada)
1 (leve)		0,1	=	1
1	+	2		2
2(moderada)		0,1		2
2		2		3 (grave)
3 (grave)		0,1,2		3

Puntuación de la fibrosis.

Puntuación	Descripción
0	Sin fibrosis
1	Ampliación del tracto portal pero sin formación de tabiques
2	Ampliación del tracto portal con rara formación de tabiques
3	Numerosos tabiques sin cirrosis
4	Cirrosis

Tabla 2. Escala METAVIR.

Componente	Rango de puntos
1. Necrosis periportal con o sin necrosis puente	0-10
2. Degeneración intralobular y necrosis focal	0-4
3. Inflamación portal	0-4
4. Fibrosis	0-4

Tabla 3. Índice de Knodell.

Necrosis periportal en puente	ptos	Degeneración. intralobular y necrosis focal (1)	ptos	Inflamación portal	ptos	Fibrosis	ptos
Ninguna	0	Ninguna	0	Sin inflamación portal	0	Sin fibrosis	0
Necrosis progresiva leve	1	Leve (cuerpos acidofílicos, deg. en balón y/o necrosis focal en <1/3 de los lóbulos o nódulos)	1	Leve (pocas células inflamatorias en <1/3 de los tractos portales)	1	Expansión fibrosa portal	1
Necrosis progresiva moderada (afecta a menos del 50% de la circunferencia de la mayoría de los tractos portales)	3	Moderada (afectación de 1/3 ó 2/3 de los lóbulos o nódulos)	3	Moderada (aumento de células inflamatorias en 1/3 ó 2/3 de los tractos portales)	3	Fibrosis en puente (unión porto-portal o porto-central)	3
Necrosis progresiva marcada (afecta a más del 50% de la circunferencia de la mayoría de los tractos portales)	4	Marcada (afectación de >2/3 de los lóbulos o nódulos)	4	Intensa (denso infiltrado de células inflamatorias en >2/3 de los tractos portales)	4	Cirrosis	4
Necrosis progresiva moderada más necrosis en puente ²	5						
Necrosis progresiva marcada más necrosis en puente ²	6						
Necrosis multilobular ³	10						

La puntuación HAI es una puntuación combinada de necrosis, inflamación y fibrosis.

1: Degeneración: cuerpos acidofílicos, colicación en balón; necrosis focal: focos diseminados de necrosis hepatocelular

2: Necrosis en puente está definida por la presencia de ≥ 2 puentes en la muestra.

3: dos o más lóbulos contiguos con necrosis panlobular

Tabla 4. IAH: Puntuación numérica de la biopsia hepática por componentes.

El cateterismo de venas suprahepáticas se utiliza en la valoración de la hipertensión portal mediante la medición del gradiente de presión venosa hepática. Valores de GPVH superiores a 10 mmHg implica un incremento del riesgo de desarrollar varices esofágicas, descompensación clínica, aparición de CHC y una mayor mortalidad.

La endoscopia digestiva es una herramienta esencial para la valoración de la presencia de varices esofágicas y gástricas, así como del riesgo de hemorragia. A todo paciente con cirrosis se le debe realizar una evaluación endoscópica. Se puede evitar la endoscopia, con una fiabilidad superior al

90%, en pacientes con cirrosis compensada que presenten un valor de rigidez hepática $<20\text{KPa}$ y >150000 plaquetas.

4.2.2 MÉTODOS NO INVASIVOS.

Estos métodos usan biomarcadores séricos o se basan en la determinación de la rigidez hepática.

i. PANELES SÉRICOS PARA DETERMINAR LA FIBROSIS.

Los marcadores séricos son analitos medibles en suero en cualquier laboratorio de rutina. Se pueden clasificar en directos (cuando son producto del proceso de fibrosis) o indirectos (indicadores de daño hepático general). La combinación matemática de estos dará diferentes índices que correlacionan con el grado de fibrosis, tabla 5 [118, 119].

Un estudio que compara estos paneles séricos [120], muestra que el panel que mejor discrimina entre los diferentes grados de fibrosis es el Fibrometer[®], con curvas ROC con áreas bajo la curva (ABC), superiores al 0.85, tanto en grados de fibrosis moderada y avanzada. El mejor predictor de cirrosis fue el índice Forns con $\text{ABC}>0.90$. En este estudio, APRI y el ratio AST/ALT obtienen las peores ABCs.

En un estudio similar [121], se evalúan paneles de marcadores séricos indirectos. La escala de King ($\text{edad} \cdot \text{AST} \cdot \text{INR}$)/contaje plaquetas), fue el mejor indicador para clasificar a los pacientes de cualquier grado de fibrosis (moderada, avanzada y cirrosis), con $\text{ABC}=0.72$ en fibrosis moderada y $\text{ABC}>0.81$ en la fibrosis avanzada y cirrosis.

En ambos estudios, conforme mayor es el grado de fibrosis, mejor clasifican estos paneles séricos a los pacientes [120, 121].

Una limitación de estos paneles la muestra D'Ambrossio y colaboradores en un reciente estudio [122]. En este estudio se evalúan una serie de estos paneles para predecir la fibrosis residual en pacientes cirróticos tras RVS en terapia con PEG-interferón. Independientemente de que el grado de fibrosis disminuyera o

no, o estratificando por grados de fibrosis, los resultados de los paneles no mostraron diferencias significativas. Además, todos los paneles analizados presentaron baja precisión diagnóstica identificando pacientes con fibrosis residual tras RVS, con ABC entre 0.5-0.7.

Test	Fórmula	Componentes
Fibrotest® (Biopredictive, Paris, France)	patentada	α-2-macroglobulina, γGT, apolipoproteína A1, haptoglobina, bilirubina total, edad y sexo.
Índice Forns	$7.811 - 3.131 \times \ln(\text{n}^\circ \text{ plaquetas}) + 0.781 \times \ln(\text{GGT}) + 3.467 \times \ln(\text{edad}) - 0.014 \times (\text{colesterol})$	
APRI	$\text{AST} / (\text{ULN}) / \text{n}^\circ \text{ plaquetas} (10^9/\text{L}) \times 100$	
FibroSpectII® (Prometheus Laboratory Inc, San Diego, USA)	patentada	α-2-macroglobulina, ácido hialurónico and TIMP-1
MP3	$0.5903 \times \log(\text{PIIINP} [\text{ng/ml}]) - 0.1749 \times \log(\text{MMP-1} [\text{ng/ml}])$	
Enhanced Liver Fibrosis score® (ELF) (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany)	patentada	MMP-3 y TIMP-1, ácido hialurónico y edad
Índice de Probabilidad de Fibrosis (IPF)	$10.929 + (1.827 \times \ln(\text{AST})) + (0.081 \times \text{edad}) + (0.768 \times \text{enolismo}) + (0.385 \times \text{HOMA-IR}) - (0.447 \times \text{colesterol})$	
Hepascore® (PathWest, University of Western Australia, Australia)	patentada	α-2-macroglobulina, γGT, ácido hialurónico, bilirubina total, edad y sexo.
Fibrometer® (Echosens, Paris, France)	patentada	Contaje plaquetas, índice de protrombina, AST, α-2-macroglobulina, ácido hialurónico, urea y edad.
Índice Lok	$-5.56 - 0.0089 \times \text{plaquetas} (10^3/\text{mm}^3) + 1.26 \times \text{AST} / \text{ALT ratio} - 5.27 \times \text{INR}$	
Índice de Cirrosis de la Universidad de Goteborg (GUCI)	$\text{AST} \times \text{prothrombin} - \text{INR} \times 100 / \text{plaquetas}$	
Modelo Virahep-C	$-5.17 + 0.20 \times \text{raza} + 0.07 \times \text{edad} + 1.19 \ln(\text{AST} [\text{IU/L}]) - 1.76 \ln(\text{contaje plaquetas} [10^3/\text{ml}]) + 1.38 \ln(\text{FALC} [\text{IU/L}])$	
Fibroindex	$1.738 - 0.064 \times (\text{plaquetas} [10^4/\text{mm}^3]) + 0.005 \times (\text{AST} [\text{IU/L}]) + 0.463 \times (\gamma\text{GT} [\text{g/dl}])$	
Modelo HALT-C	$-3.66 - 0.00995 \times \text{plaquetas} (10^3/\text{ml}) + 0.008 \times \text{TIMP-1} + 1.42 \times \log(\text{AH})$	

Tabla 5. Índices séricos indicadores de fibrosis hepática. γGT: Gamma-glutamil transpeptidasa. AST: aspartato aminotransferasa. ULN: upper limited of normality. TIMP-1: inhibidor tisular de metaloproteasas 1. PIIINP: propéptido N-terminal de colágeno tipo 3. MMP-1: metaloproteinasas de matriz 1. MMP-3: metaloproteinasas de matriz 3. ALT: alanina aminotransferasa. INR: ratio internacional normalizado. FALC: fosfatasa alcalina. AH: ácido hialurónico.

ii. MEDIDA DE LA RIGIDEZ HEPÁTICA.

El interés de la determinación de la rigidez hepática (o el descenso en la elasticidad del tejido hepático) se debe a que está relacionada con el grado de fibrosis y de hipertensión portal.

La medición de la rigidez hepática se fundamenta en que la velocidad de propagación de una onda de cizallamiento de baja frecuencia (unos 50 hertzios), aumenta proporcionalmente a la rigidez del tejido o módulo elástico, según la relación: $E = 3 \rho v^2$ (E: módulo elástico, ρ : densidad del tejido constante, v: velocidad de propagación) [123].

Las técnicas para determinarla se conocen como técnicas elastográficas. Dentro de ellas se pueden distinguir tres variantes: elastometría transitoria (ET), point shear wave elastography y la elastografía 2D por onda de cizallamiento.

La variante técnica más extendida es la ET. El dispositivo más usado es FibroScan® (Echosens, Paris, Francia).

Los resultados de la ET se expresan en kilopascales (kPa). Los valores normales están alrededor de 5 kPa. El rango de linealidad se estima entre 1,5 hasta 75 kPa.

La determinación de la elasticidad se realiza con la media de 10 mediciones de un volumen de 1 cm de diámetro por 4 cm de largo y a una profundidad de unos 2.5-7.5 cm debajo de la piel. La pieza examinada es unas 100 veces más grande a la explorada en la biopsia hepática.

Además del valor de rigidez hepática, FibroScan® aporta dos mediciones que informan sobre la calidad de la medición:

- Tasa de éxito (success rate o SR): relaciona el número de mediciones totales con las mediciones consideradas válidas. Debe ser superior al 60%.
- Rango intercuartílico (RIQ): medida de la variabilidad de las mediciones.

Para aceptar la medición debe ser inferior al 30%.

Existen una gran variedad de propuestas de puntos de corte en FibroScan® para clasificar la fibrosis. Vergara y colaboradores [124] proponen como cut-offs <6.5 kPa (F0-F1, ausencia o mínima fibrosis); 6.5-9.4 kPa (F2, fibrosis significativa); 9.5-14.5 kPa (F3, fibrosis severa); y ≥ 14.6 kPa (F4, cirrosis). Castéra y colaboradores [125] proponen 7.1 kPa para $F \geq 2$ (fibrosis moderada), 9.5 kPa para $F \geq 3$ (fibrosis severa) y 12.5 kPa para $F \geq 4$ (cirrosis). Por otro lado, Ziol y colaboradores [126] proponen F0-1: 5.5 kPa; F2: 6.6 kPa; F3: 10.3 kPa y F4: 30.8 kPa.

FibroScan® alcanza una sensibilidad del 87% y una especificidad del 91% en el diagnóstico de la cirrosis y una sensibilidad del 70% y una especificidad del 84% para los estadios F2-F3 [127].

FibroScan® presenta ventajas [123], como:

- Es la técnica más usada y validada.
- Fácil de usar, rápida y de fácil aprendizaje.
- Alto rango de medida (1.5-75 kPa).
- Criterios de calidad bien definidos (SR e RIQ).
- Técnica reproducible.
- Alto rendimiento diagnóstico de la cirrosis ($ABC > 0.9$).

Del mismo modo, presenta desventajas [123], como:

- Necesidad de dispositivo específico.
- La región a estudio no se puede elegir.
- El rendimiento de discriminación entre estados intermedios de fibrosis no es elevado.
- Dificultad de aplicación ciertas circunstancias como obesidad,

ascitis o inexperiencia del operador.

- Posibilidad de falsos positivos en hepatitis aguda, colestasis extrahepática, congestión hepática, la ingesta de alimentos y la ingesta excesiva de alcohol.

5. TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C.

El objetivo principal de la terapia en la hepatitis C, es la erradicación del VHC en el enfermo, lo que evitará, las complicaciones extra e intrahepáticas asociadas a la infección.

La forma de medida de la eficacia del tratamiento es la RVS. Estudios de seguimiento de pacientes con RVS a las 24 semanas, han demostrado que la enfermedad está curada en el 99% de los casos [128].

5.1. FARMACOLOGÍA DE LA HEPATITIS C.

Los medicamentos usados en el tratamiento de la hepatitis se agrupan en: PEG-interferón, rivabirina (RBV), inhibidores de NS3-4A, inhibidores de NS5A, inhibidores de NS5B análogos de nucleótidos e inhibidores de NS5B no análogos de nucleótido.

a) INTERFERÓN ALFA PEGILADO (PEG-INF).

La molécula de interferón comenzó a usarse en clínica en 1986 [129]. El interferón alfa tiene una acción indirecta como antiviral, actuando sobre la célula infectada, favoreciendo la activación de vías metabólicas que terminan con la producción de intermediarios con actividad antiviral.

Es el caso de la enzima 2'-5'-oligoadenilsintetasa, que activa la endorribonucleasa latente, cuya actividad consiste en degradar ARN mensajero extraño al propio. También activa enzimas con actividad proteín-cinasa, que actúan sobre la subunidad alfa del factor 2 de inicio de la síntesis proteica, lo que da lugar a que se bloquee la síntesis de proteínas virales [130, 131].

Por otro lado, interferón alfa, es capaz de modular la respuesta inmune, como el aumento de la expresión de antígenos de histocompatibilidad leucocitaria tipo I y II (HLA-I y HLA-II), facilitar la actividad citotóxica *natural killer* (NK) y de linfocitos T CD8. En general, facilitan la actividad inmunológica frente al virus [130, 131].

Las tasas de RVS usando la molécula de interferón de forma aislada eran muy

bajas, alrededor del 8-15% [129]. La unión a polietilenglicol, formando la molécula de PEG-INF, mejora la tasa de RVS, ya que aumenta la semivida de eliminación y aumenta la biodisponibilidad al disminuir la eliminación renal y la velocidad de absorción [132].

Existen dos formulaciones de PEG-INF, PEG-INF alfa-2a y PEG-INF alfa-2b. Ambas tienen tasas de RVS parecida del 39 y 40% respectivamente [133]. Las dosis usadas son de 1.5 µg/kg/semana PEG-INF alfa-2b y de 180 µg/semana para PEG-INF alfa-2a [132].

Los efectos adversos son frecuentes (70-90%), destacando el síndrome pseudogripal que se inicia a las horas de ser administrado y puede durar 24-48 horas, desapareciendo a las 2-3 semanas. También son de interés los efectos hematológicos, como la neutropenia (27%) y la trombocitopenia (3-4%). La trombocitopenia es la principal causa de ajuste de dosis o interrupción del tratamiento [132].

PEG-INF ha sido el fármaco de elección, junto a RBV, en el tratamiento de la infección por el VHC durante un largo. Actualmente se ha visto relegado a líneas inferiores de tratamiento por la entrada en juego de los nuevos antivirales orales, sobre todo en los genotipos 1a, 1b, 2 y 4. En genotipo 3 sigue estando en la vanguardia del tratamiento [134].

b) RIBAVIRINA.

Análogo nucleosídico sintético de la guanosina, su mecanismo de acción se desconoce. Se trata de un antiviral de amplio espectro, actuando frente a numerosos agentes como el virus respiratorio sincitial, virus influenza y parainfluenza o los virus de la hepatitis B y C [130]. La combinación de PEG-INF con RBV aumenta las tasas de RVS hasta el 52-56% [135].

La dosis de RBV depende del peso, genotipo infectante y del PEG-INF que se va a utilizar, tabla 6.

Genotipo VHC	Combinado con PEG-INF alfa 2a	Combinado con PEG-INF alfa 2b
1 & 4-6	≤ 75 Kg : 1000 mg /día	<65 kg: 800 mg/día
		65-85 kg: 1000 mg/día
	>75 Kg : 1200 mg /día	86-105 kg: 1200 mg/día
		≥ 106 kg: 1400 mg/día
2 & 3	800 mg/día	800 mg/día
Coinfección VIH/VHC	800 mg/día	800 mg/día
Niños 2-17 años	15 mg/Kg/día en dos dosis	15 mg/Kg/día en dos dosis

Tabla 6. Ajuste de dosis de RBV según PEG-INF (Clin Infect Dis 2013; 56: 1629-36).

La principal complicación al usar RBV es la anemia hemolítica, observándose en 2/3 de los pacientes e inferior a 8 g/dL (anemia severa) en el 1% de los pacientes. También se observan prurito, fatiga y trastornos gástricos [136].

En combinación en regímenes con antiretrovirales orales, RBV disminuye la recaída y el desarrollo de resistencias. Así, el introducir RBV en estas terapias mejora la tasa de RVS del 39% al 69% y la recaída disminuye hasta el 5% [136]. La actuación del facultativo, debidas a la aparición de resistencias víricas, se reduce del 87% al 15% con la introducción de RBV en la terapia [137].

c) INHIBIDORES DE LA PROTEASA NS3-4A (IPNS3-4A).

Los IPNS3-4A son los primeros agentes antivirales directos frente al VHC. NS3-4A se encarga de la escisión de la poliproteína sin procesar que se obtiene de la traducción del genoma viral, dando lugar a los péptidos virales activos. Los IPNS3-4A alteran esta función, parando la replicación viral [138, 139].

Los dos primeros principios aprobados para la práctica clínica fueron

boceprevir (BOC) y telaprevir (TVR). La estructura molecular de ambos se observa en la figura 2.

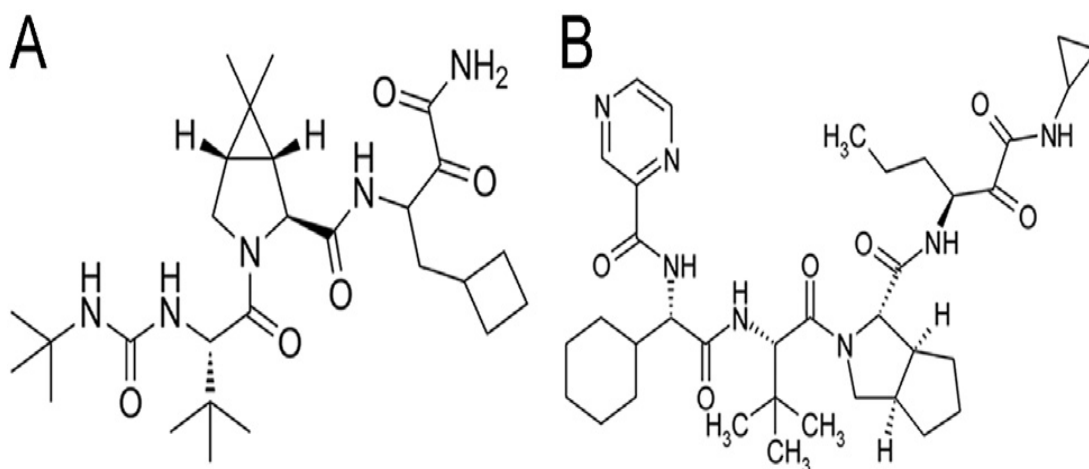


Figura 2. Estructura molecular de (A) boceprevir y (B) telaprevir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

Ambos fármacos son alfa-ketonamidas, que se unen de forma covalente a la proteasa NS3-4A. En el caso del boceprevir la unión es reversible y para telaprevir no [140]. Se trata de fármacos con una baja barrera de resistencias que conduce a la rápida selección de variantes asociadas a la resistencia [138, 139, 140].

La introducción de ambos fármacos en triterapia con PEG-INF y RBV aumenta las tasas de RVS hasta el 65-75% [141]. Ambos principios tienen gran interés en pacientes respondedores que sufren recaída, ya que la tasa de RVS en estos casos es superior al 80% [140]. Son fármacos con gran actividad sobre genotipo 1, pero prácticamente inactivos frente al resto de genotipo [139, 140, 141].

Las dosis usadas son de 750 mg cada 8 horas para telaprevir y de 800 mg cada 8 horas para boceprevir. Ambos son de administración oral [142].

El uso de estos medicamentos en triterapia genera efectos adversos en el paciente. Estas reacciones adversas se dan sobre todo en pacientes con cirrosis con signos de hipertensión portal (trombocitopenia) y disfunción hepática (hipoalbuminemia). Así, pacientes con plaquetopenia $<100000/\mu\text{L}$ y

albumina >3,5 g/dL muestran un 41% de sufrir estos efectos adversos [140].

Debido a esta toxicidad y la baja barrera biológica a las resistencias, se han desarrollado IPNS3-4A de segunda generación. El principal exponente de estos fármacos es simeprevir (SMV), destacando también paritaprevir (PTV), asunaprevir (ASV) y grazoprevir (GZP).

Simeprevir es un potente IPNS3-4A. Molécula de estructura macrocíclica, en concreto una sulfonamida (figura 3), se une de forma covalente y reversible al dominio activo de NS3 [138].

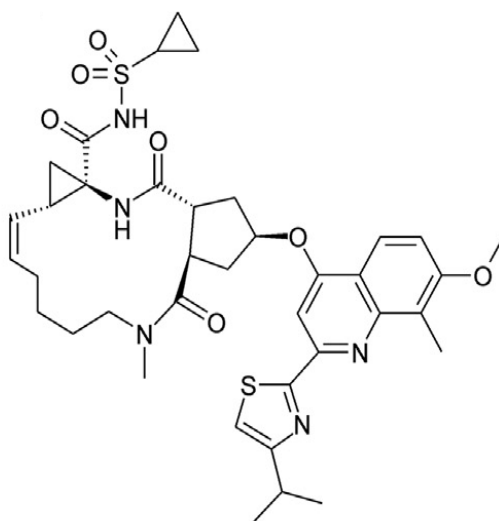


Figura 3. Molécula de simeprevir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

Las tasas de RVS son parecidas a los fármacos de primera generación. Presenta baja barrera de resistencias, pero es especialmente sensible a la presencia de la variable Q80K. La principal ventaja de este fármaco es su mayor espectro de acción, ya que es activo frente a VHC genotipo 1, 2 y 4, aunque sigue siendo inactivo frente a genotipo 3 [140].

Simeprevir presenta varios efectos adversos, destacando la fotosensibilidad y la hiperbilirrubinemia [138]. La fotosensibilidad es dosis dependiente, dándose incluso con el uso de protectores solares, lo que puede dar lugar al cese del tratamiento. La hiperbilirrubinemia se debe a que simeprevir inhibe dos transportadores hepáticos de bilirrubina hacia bilis. Se trata de OATP1B1 y MRP2.

Simeprevir sufre metabolismo hepático por acción de la isoforma 3A4 del citocromo P450 (CYP3A4). Este proceso da lugar a interacciones farmacológicas y puede variar la biodisponibilidad de simeprevir si se usa con inhibidores de este citocromo.

Paritaprevir (figura 4A) es también un IPNS3-4A activo frente a los genotipos 1a, 1b, 2, 3, 4 y 6. Se usa en combinación con otros antivirales directos frente al VHC, sobre todo en triterapia con ombitasvir y dasabuvir. Sufre metabolismo por citocromo 3A4, por lo que para aumentar su biodisponibilidad se utiliza junto a ritonavir (figura 4B), un inhibidor de este enzima [141].

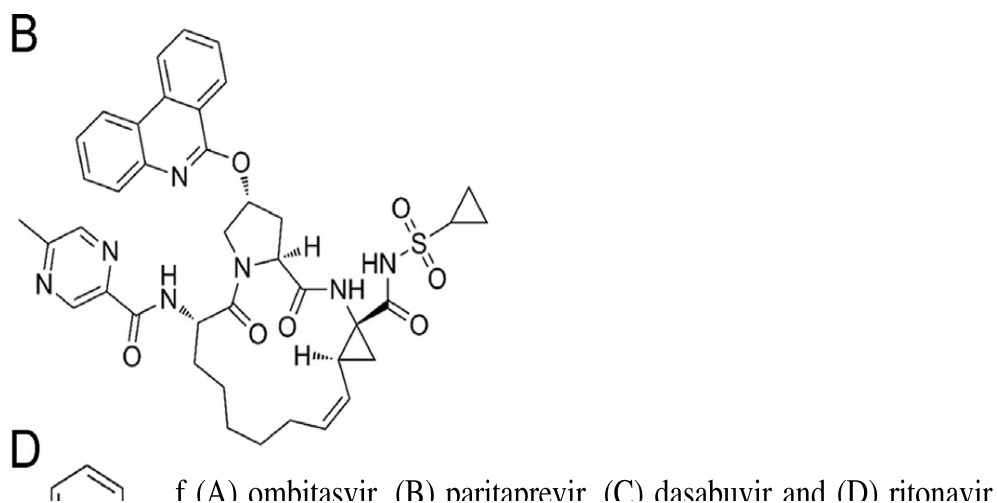


Figura 4. Estructuras de (A) paritaprevir y (B) ritonavir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

Aunque se trata de un medicamento bien tolerado, el uso de la triterapia produce reacciones adversas, principalmente hiperbilirrubinemia e hipertransaminasemia [138].

Asunaprevir (figura 5) también inhibe la proteasa NS3-4A, con actividad en todos los genotipos virales de la hepatitis C. Suele usarse en combinación con otros antivirales como daclatasvir mas beclabuvir [140]. Se trata de un fármaco bien tolerado, que en la triterapia mencionada muestra pocas reacciones adversas (1-3%), siendo la hepatotoxicidad la más destacada, produciendo hiperbilirrubinemia e hipertransaminasemia. La hepatotoxicidad es dosis dependiente [138].

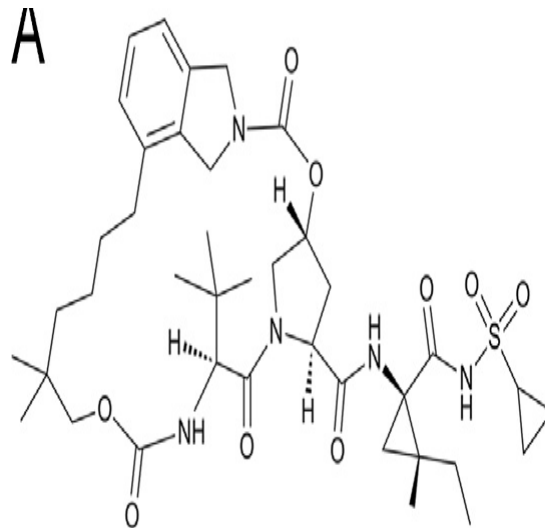


Figura 5. Molécula de asunaprevir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

Grazoprevir (figura 6) es un IP selectivo de NS3-4A del VHC con actividad sobre todos los genotipos del virus. Además, tiene actividad sobre variantes resistentes del virus [140]. Se trata de un fármaco bien tolerado, que, a diferencia del resto del grupo, tiene escasa hepatotoxicidad, por lo que la hiperbilirrubinemia y la hipertransaminasemia no son frecuentes en su uso. Sus efectos adversos más comunes son fatiga, náuseas y dolor de cabeza. [138].

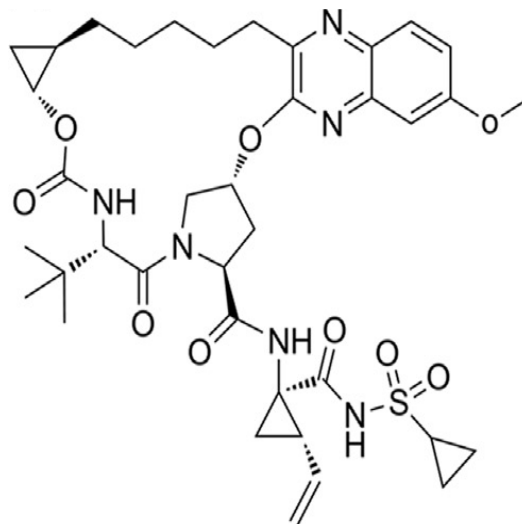


Figura 6. Molécula de grazoprevir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

d) INHIBIDORES DE NS5A.

El mecanismo de acción de este grupo de fármacos no es bien conocido ya que la actividad de su diana biológica no es conocida con precisión. Aun así,

parecen estar involucrados en prevenir la formación de la red membranosa, que da lugar al complejo replicativo del virus [139]. Por otro lado, parecen estar involucrados en la inhibición del ensamblaje de la partícula viral [143]. En este grupo se incluyen daclatasvir (DCV), ledipasvir (LDV), ombitasvir (OMV) y elbasvir (EBR).

Daclastavir (figura 7), fue el primer fármaco inhibidor de NS5A. Usado en monoterapia presenta grandes descensos de carga viral. Además, en un estudio de Lok y colaboradores [144], en el que comparan el uso de daclatasvir mas asunaprevir junto a PEG-INF o sin PEG-INF mostró la primera evidencia de que la infección del VHC podía curarse sin el uso de PEG-INF, ya que pacientes tratados con el régimen sin interferón mostraron RVS en el seguimiento.

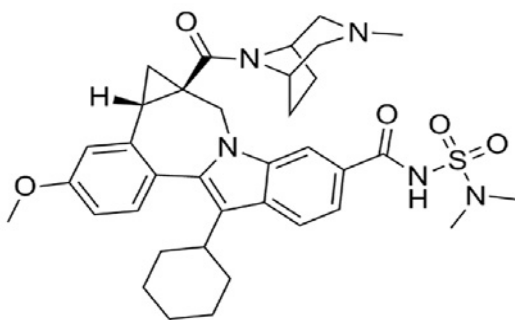


Figura 7. Molécula de daclatasvir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

Se trata de un fármaco de amplio espectro en el VHC, siendo activo frente a todos los genotipos. Es usado en triterapia con asunaprevir y beclabuvir a dosis 30/200/150 mg.

Es bien tolerado, con pocos efectos adversos, como fatiga y dolor de cabeza. Cuando es administrado junto a asunaprevir se observa hipertransaminasemia, pero es atribuida a este segundo principio [138].

Daclatasvir es metabolizado por CYP3A4, por lo que sufre interacciones farmacológicas. Así, los inductores de este citocromo dan lugar a ajustes de dosis, usándose en cantidades de 60 ó 90 mg.

Ledispavir es un potente inhibidor NS5A, pero esta inhibición es más visible

frente a genotipo 1, en menor medida en los genotipos 4, 5 y 6a. Frente a genotipos 2 y 3 carece de actividad [141]. Es bien tolerado en general, con pocos efectos adversos, como fatiga, insomnio o náuseas.

Se usa en biterapia con sofosbuvir en dosis de 30/400 mg, en pacientes naïve, no cirróticos o con cirrosis compensada y en pacientes que han tenido un tratamiento anterior. En esta biterapia puede incluirse RBV, de forma que la principal complicación es la anemia hemolítica. Tanto en biterapia como en triterapia, las tasas de RVS a las 12 semanas y a las 24 semanas son superiores al 98% [145].

Ombitasvir es un potente inhibidor de NS5A, ya que tiene acción antiviral en dosis picomolares. Es activo frente a todos los genotipos del VHC. Se usa de forma combinada con paritaprevir y dasabuvir, obteniendo tasas de RVS del 95% en genotipo 1a y del 98% en genotipo 1 [146, 147].

Elbasvir, fármaco con alta potencia, es un antiviral con amplio espectro de acción, al actuar sobre todos los genotipos del VHC, especialmente genotipos 1, 2, 3 y 4. Se puede usar en combinación con grazoprevir, con tasas de RVS del 93%. La biterapia con grazoprevir es bien tolerada, y gracias a la potencia del tratamiento puede ser administrado una vez al día [141].

Los diferentes ensayos clínicos de la combinación grazoprevir/elbasvir están mostrando resultados bastante exitosos, con tasas de RVS alrededor del 90-100% en diferentes situaciones clínicas, como pacientes naïve o con fracaso en la terapia con IPNS3-4A [148, 149, 150].

e) INHIBIDORES NO NUCLEOSÍDICOS DE LA ApdA.

Se trata de un grupo de fármacos químicamente muy diferentes, con una baja barrera de resistencias y menor actividad antiviral que otros grupos de drogas como los inhibidores nucleosídicos, siendo útiles en los genotipos 1a y 1b [139]

El mecanismo de acción consiste en inhibir la NS5B de forma alostérica, es decir, no interactúan con el dominio activo de la ApdA. Se pueden unir a cuatro dominios de la enzima conocidos como Thumb I y II y Palm I y II [142]. Esta

unión produce cambios conformacionales en la diana farmacológica que hacen que se trunque la actividad polimerasa, deteniendo la replicación viral [139].

El fármaco más representativo del grupo es dasabuvir (DSV, figura 8). Se une a dominio Palm I de la ApdA. Se trata del único principio activo de este grupo comercializado [140]. Se administra en terapia combinada con paritaprevir/ombitasvir/dasabuvir.

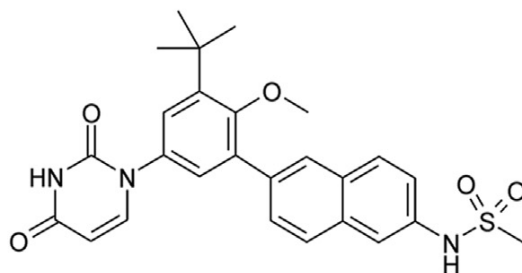


Figura 8. Molécula de dasabuvir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

Beclabuvir también es un inhibidor no nucleosídico de la ApdA. Se une de forma alostérica al dominio Thumb I de la ApdA [140]. Actúa sobre los genotipos 1, 3, 4 y 5, siendo la actividad sobre genotipo 6 variable e inactivo en genotipo 2 [151].

Se trata de un fármaco que está en fase de ensayo clínico en triterapia con asunaprevir y daclatasvir [152]. En este estudio, pacientes cirróticos naïve y pacientes que ya han recibido un tratamiento previo muestran tasas de RVS a las 12 semanas del 98% y del 93% respectivamente cuando la triterapia se asocia a RBV. Cuando son tratados sin RBV, las tasas de RVS a las 12 semanas son del 93% y del 87%. En este mismo estudio, la reacción adversa más crítica, que indicó suspender el tratamiento, fue la hipertransaminasemia. También se describieron dolor de cabeza y fatiga.

f) INHIBIDORES NUCLEOSÍDICOS DE LA ApdA.

Son fármacos, análogos químicamente, de nucleótidos. Detienen la replicación viral mediante su unión competitiva al dominio activo de la polimerasa. La ApdA incorpora estos análogos a la cadena de ARN viral que se está sintetizando y van a parar la replicación actuando como terminadores, evitando que la

polimerasa pueda incorporar nuevos nucleótidos [153].

El primer compuesto de estas características que ha demostrado actividad frente al VHC es sofosbuvir (SOF, figura 9). Este principio activo es el isómero levógiro de PSI-7851, un profármaco análogo de uridina [154].

Sofosbuvir, como profármaco, necesita una activación en el hepatocito, que da lugar a la molécula activa, PSI-7409. La activación se lleva a cabo por una vía metabólica que termina con la forma trifosforilada y activa PSI-7409. Este compuesto es el que se introduce en la ApdA, actuando como terminador de cadena, parando la transcripción viral [155].

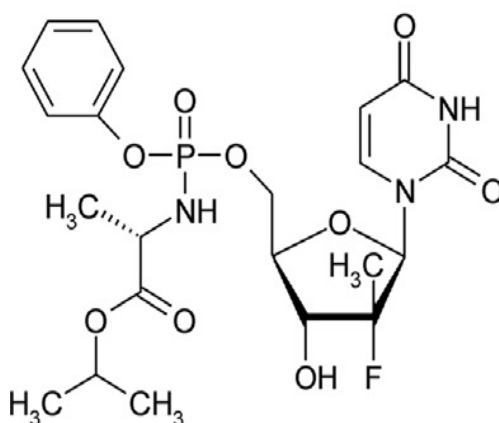


Figura 9. Molécula de sofosbuvir. (Acta Pharm Sin B. 2016; 6: 26-31).

La actividad antiviral de sofosbuvir es de amplio espectro, afectado a todos los genotipos del VHC, especialmente a los genotipos 1a, 1b, 2 y 3 [156]. El polimorfismo S282T en la NS5B produce resistencias a sofosbuvir, especialmente en genotipo 1b [156].

Sofosbuvir se administra en diferentes regímenes terapéuticos: SOF/PEG-INF/RBV, SOF/RBV, SOF/LDV, SOF/SMV y SOF/DCV.

- SOF/PEG-INF/RBV: esta combinación es evaluada en el ensayo clínico NEUTRINO [157]. En este estudio, se tratan pacientes naïve infectados con los genotipos 1, 4, 5 y 6 con esta combinación durante 12 semanas. Se evalúa la RVS a las 12 semanas del final

del tratamiento. La tasa global de RVS fue del 90%. Durante el tratamiento, a las dos semanas de mismo, el 91% de los pacientes mostró carga viral indetectable (<25UI/mL) y un 99% a las cuatro semanas. En la muestra estudiada, la mayoría de los pacientes estaban infectados por los genotipos 1 (89%) y 4 (9%). Por separado, las RVS fueron 92% en genotipo 1a, 83% en 1b y 96% en genotipo 4. En pacientes infectados con los genotipos 2 y 3, con o sin cirrosis, que previamente han recibido tratamiento con PEG-INF/RBV, el uso de SOF/PEG-INF/RBV produce un rápido descenso de la viremia. Así, a la semana 4 de tratamiento, el 100% de los pacientes con genotipo 2 y el 91% con genotipo 3 presentan carga viral indetectable. En este estudio, la tasa de global RVS a las 12 semanas fue del 89%, siendo del 96% en genotipo 2 y del 83% en genotipo 3. En genotipo 3 se observó mayor fracaso terapéutico, con un 9% de recaída y el resto por no adherencia. En el 9% de los pacientes se observaron reacciones adversas severas como colestasis, sepsis, anemia, hemorragia esofágica o anemia [158].

- SOF/RBV: esta combinación está ampliamente estudiada en pacientes infectados con los genotipos 2 y 3, que suelen ser los que peores tasas de RVS presentan en general. En pacientes naïve, se produce un gran descenso de la viremia a las dos y cuatro semanas de tratamiento, siendo indetectable la carga viral en el 92% y >99% de los pacientes [157]. Cuando se compara este régimen con el clásico PEG-INF/RBV, en pacientes naïve, la tasa global de RVS a las 12 semanas es la misma, un 67% [157]. Estratificando por genotipos, se observa que la RVS a las 12 semanas es del 97% en genotipo 2 en régimen SOF/RBV y del 78% para PEG-INF [157]. El uso de este régimen en pacientes infectados por los genotipos 2 y 3, donde existe fracaso terapéutico previo, muestra tasas de RVS a las 12 semanas del 78% sin la aparición de recaída tras este periodo [159]. Cuando se compara este régimen con diferente duración, 12 o 16 semanas, se obtienen tasas de RVS del 50% y del 73%

respectivamente, cifras mayores a las mostradas con la terapia previa, que era del 25% [159]. Zeuzem y colaboradores [160], en pacientes que ya han tenido tratamiento previo para la hepatitis C, obtienen cargas virales indetectables a las cuatro semanas en el 100% de los enfermos, independiente del genotipo infectante. Las tasas de RVS a las 12 semanas sí varían en este estudio según genotipo, siendo del 93% en genotipo 2 y del 83% en genotipo 3. Foster y colaboradores [161], en pacientes naïve infectados con genotipo 2 y cirrosis compensada, comparan tres regímenes SOF/RBV 16 y 24 semanas y SOF/PEG-INF/RBV 24 semanas. La terapia con interferón mostró una respuesta más rápida, con un 88% de viremia indetectable a las 2 semanas, por un 40% y un 41% en los otros dos regímenes. La tasa de RVS a las 12 semanas fue parecida en los tres grupos, 87% en SOF/RBV 16 semanas, 100% en SOF/RBV 24 semanas y 94% en SOF/PEG-INF/RBV 24 semanas. En este mismo estudio, los tres regímenes se comparan en pacientes infectados con genotipo 3 y con fracaso terapéutico previo. Se obtuvieron resultados similares a los de estudios anteriores, con RVS a las 12 semanas de 71% en SOF/RBV 16 semanas, 84% en SOF/RBV 24 semanas y 93% en SOF/PEG-INF/RBV 24 semanas. En los estudios comentados, en general, los pacientes cirróticos presentan menor RVS a las 12 semanas que los no cirróticos.

- SOF/LDV, 400/90 mg: el estudio ION se encarga de la evaluación clínica de esta combinación en pacientes naïve (ION-1) [162] y en pacientes sin respuesta a tratamiento previo con interferón (ION-2) [163], infectados en ambos casos con VHC genotipo 1. En pacientes naïve, comparan cuatro regímenes, SOF/LDV con o sin RBV 12 semanas y SOF/LDV con o sin RBV 24 semanas. En todos los grupos, la tasa de RVS a las 12 semanas fue >97%. En el estudio ION-1, estratificando según factores pronósticos de mala evolución, se obtuvo tasas de RVS a las 12 semanas elevadas, en todos los

casos. Así, en cirróticos la RVS a las 12 semanas fue >94%, en genotipo 1a el >97% y en pacientes con genotipo no IL28B-CC el >91%. Respecto a los efectos adversos, en las cuatro ramas, la mayoría de los pacientes las sufrieron, siendo la mayoría de moderada severidad, como fatiga o dolor de cabeza. En ION-2 se evalúa la eficacia de SOF/LDV en pacientes que ya tenido un tratamiento previo. Estudian los mismos regímenes terapéuticos que ION-1, pero clasifican los resultados según genotipo 1a o 1b, la presencia o no de cirrosis y la causa del motivo de ser retratados (no respuesta o recaída). En cifras globales, todos los grupos obtuvieron tasas de RVA a las 12 semanas >94%, especialmente en las terapias de 24 semanas. En ambas la RVS fue del 99%. Estratificando según los grupos considerados, en la mayoría los casos se obtuvieron RVS superiores al 93%, exceptuando a los pacientes cirróticos fueron tratados con tratamientos de 12 semanas, que la RVS a las 12 semanas fueron 86% en SOF/CLV y 81% en SOF/CLV más RBV. En pacientes con cirrosis descompensada y enfermos con o sin cirrosis postrasplante, el estudio SOLAR [164] evalúa la respuesta de SOF/LDV más RBV 12 y 24 semanas. En pacientes no trasplantados, la RVS a las 12 semanas fue del 87% y del 89% respectivamente. En pacientes trasplantados, los enfermos con cirrosis compensada mostraron tasas de RVS del 96-98%, en cirrosis descompensada 86-88%. A pesar de ser enfermos con una patología hepática avanzada de base, solo el 4% tuvo que interrumpir el tratamiento.

- SOF/SMV (400/150mg): terapia probada en pacientes infectados por genotipo 1, con fracaso con interferón. El estudio COSMOS [165] evalúa las combinaciones SOF/SMV con o sin RBV durante 12 y 24 semanas, divididos en dos cohortes, una con fibrosis leve o moderada (F0-F2) y otra con fibrosis avanzada o cirrosis (F3-F4). La RVS a las 12 semanas se observó en el 95% de la cohorte F0-F2 y en el 94% de la cohorte F3-F4.

- SOF/DCV (400/60 mg): este régimen se ha estudiado en paciente infectados con genotipo 3 [166] y con cirrosis descompensada [167]. En el estudio ALLY [166], se evalúa la presentación en pacientes infectados con genotipo 3 del VHC, tanto naïve como no respondedores. Todos los pacientes recibieron el tratamiento durante 12 semanas. La tasa de RVS a las 12 semanas fue del 90% en pacientes naïve y del 84% en tratados anteriormente. La carga viral al final del tratamiento fue indetectable en el 100% de los pacientes incluidos. Los pacientes cirróticos tienen peor respuesta, observándose RVS en el 70% en pacientes F4, siendo en pacientes F0-F3 del 93%. En pacientes con descompensación hepática [167], SOF/DCV con o sin RBV se administró durante 24 semanas. La RVS global a las 12 semanas fue del 95%, tanto en pacientes con RBV como en los que no. En pacientes con genotipo 3 se obtuvo la peor tasa de RVS, el 92%. En ambos se observó un 3% de muertes. En el grupo con RBV hubo un 30% de pacientes con anemia.

En general, sofosbuvir implica tasas de RVS mayores al 90%, cercanas al 100%, siendo un fármaco de enorme interés en la terapia del VHC.

A modo de resumen, la tabla 7 muestra las combinaciones orales comercializadas en Europa, a las que hay que añadir como alternativas tanto la rivabirina como el interferón.

Combinación	Presentación	Posología
SOF	Comprimidos 400mg	1 comprimido diario
SOF/LDV	Comprimidos 400mg SOF/ 90mg LDV	1 comprimido diario
SOF/VPV	Comprimidos 400mg SOF/ 100mg VPV	1 comprimido diario
PTV/OMV/ ritonavir	Comprimidos 75mg PTV/ 12,5 mg OMV/ 50 mg ritonavir	2 comprimidos diarios
DSV	Comprimidos 250mg	2 comprimidos diarios
GZV/EBV	Comprimidos 100mg GZV/ 50mg EBV	1 comprimido diario
DCV	Comprimidos 30 ó 60 mg DCV	1 comprimido diario
SMV	Cápsula 150 mg SMV	1 cápsula diaria

Tabla 7: Antivirales orales comercializados en Europa. SOF: sofosbuvir; CLV: ledipasvir; VPV: velpatasvir; PTV: paritaprevir; OMV: ombitasvir; DSV: dasabuvir; GZV: grazoprevir; EBV: elbasvir; DCV: daclastavir; SMV: simeprevir.

5.2. LIMITACIONES EN EL TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C.

Las diferentes opciones farmacológicas en el tratamiento de la hepatitis C, como se ha comentado anteriormente, tienen una alta tasa de curación, sobre todo los regímenes libres de PEG-INF, en especial los basados en sofosbuvir.

Ante esto, existen una serie de limitaciones que pueden disminuir la aplicabilidad de estas terapias. Se trata principalmente de cuestiones económicas (en los tratamientos más novedosos) y de las complicaciones clínicas, ya sean en forma de interacciones medicamentosas o efectos adversos directos del fármaco, que derivan del uso de estos medicamentos (tanto en los regímenes más nuevos como en los que ya se tienen amplia experiencia como el PEG-INF).

5.2.1. LIMITACIONES ECONÓMICAS.

En el plano económico, los nuevos tratamientos para la infección el virus de la hepatitis C son caros. Los precios en los diferentes regímenes terapéuticos que se pueden ofertar en el tratamiento de la infección por el VHC son similares, exceptuando la opción de PEG/INF+RBV [168].

En contraste con estos datos de costes, diferentes estudios de coste/efectividad avalan el uso de las terapias sin PEG/INF. Así, Chhatwal y colaboradores [168] comparan el uso de la terapia de PEG/INF+RBV con o sin boceprevir o telaprevir frente a SOF/LDV. Ajustando los resultados por calidad de vida (QOL, quality of life), obtuvieron mejores datos en el uso de SOF/LDV. Ésto se observó más en pacientes con cirrosis, donde el uso de SOF/LDV puede prevenir, por cada 10000 pacientes tratados, 600 casos de evolución del grado de cirrosis, 310 de CHC, 60 trasplantes hepáticos y 510 muertes relacionadas con la infección por el VHC. Además, respecto a los años ganados ajustados por calidad de vida (AVAC), estos autores obtienen una ganancia de 0,56 AVAC en el uso de SOF/LDV.

Younossi y colaboradores [169], compara el uso de SOF/LDV frente a las diferentes recomendaciones, dadas por las Sociedades Americanas para el Estudio de la Enfermedad Hepática y de las Enfermedades Infecciosas (AASCL/IDSA) para el tratamiento de la hepatitis C, en términos de coste/efectividad. Entre las diferentes opciones de incluyen regímenes con PEG/INF. Tanto en pacientes naïve como en los que se ha encontrado un fracaso terapéutico previo, el uso de SOF/LDV genera una menor incidencia de complicaciones a largo plazo (CHC, enfermedad asociada), reduciéndolas entre un 0-93% en pacientes naïve y un 75% en pacientes con tratamiento previo, respecto a las otras opciones farmacológicas. En términos económicos, el coste anual ajustado por RVS para SOF/LDV, produce grandes ahorros. En datos de coste/efectividad, SOF/LDV y la opción SOF/SMV fueron las mejores opciones con mayores ahorros y AVACs, además de ser las opciones con una mejor relación coste/efectividad incremental (RCEI).

Martin y colaboradores [170], estudiando pacientes que toman drogas por vía parenteral, compara diferentes estrategias libres de interferón, con diferentes incidencias de hepatitis C y grados de enfermedad hepática. Considerando unas incidencias del 20% y del 40% de hepatitis C en este tipo de paciente, la opción más coste/efectiva es el tratar a todos los pacientes con enfermedad leve o moderada antes de llegar al grado de cirrosis.

Nafajzadeh y colaboradores [171], realizan un estudio sobre pacientes naïve, infectados con los genotipos 1, 2 y 3 del VHC. Comparan, en cada genotipo un régimen basado en PEG/INF frente a diferentes estrategias libres de interferón. En la fecha de publicación del estudio, los autores desconocen algunos costes de los fármacos considerados en las diferentes estrategias, por lo que consideran evaluar un intervalo de precios para encontrar la mejor opción. Expresando los resultados en términos de coste/efectividad, en G1 la mejor opción es SOF/LDV, al tener mayor AVAC (12,40 AVACs frente 11,28 de la opción basada en interferón) y un RCEI más bajo, incluso si la tasa de RVS fuera inferior al 85%. Para pacientes infectados con el genotipo 2 SOF/RBV resultó ser la opción más coste/efectiva (AVAC de 12,37 frente a 11,86 de la opción con interferón) con un RCEI de 102000 euros por AVAC ganado. En el caso de G3 la mejor opción es PEG/RBV que, aunque no supone una mejora de AVACs, si tiene un menor coste, que hace disminuir el RCEI. En este genotipo, si la fibrosis es severa, las mejores opciones son SOF/LDV +RBV y SOF/daclastavir.

5.2.2. LIMITACIONES FARMACODINÁMICAS

Los fármacos usados en el tratamiento de la infección por el VHC sufren una degradación metabólica que finaliza con la excreción del fármaco y la eliminación del mismo del organismo.

En este proceso de eliminación metabólica, los diferentes productos que se generan pueden interactuar con otras vías de eliminación o con dianas farmacológicas de otros principios activos. Estas interacciones pueden llegar a ser perjudiciales, al evitar o exacerbar la eliminación de uno de los fármacos, dando lugar a procesos tóxicos.

Por otro lado, los fármacos pueden interactuar con diferentes dianas biológicas en el organismo, dando reacciones o efectos adversos, que son potencialmente dañinos para el paciente que recibe el tratamiento. Estas reacciones adversas han sido descritas para cada combinación en apartados anteriores de este texto.

En el caso de las interacciones farmacológicas, pueden dar lugar a que no se use alguno de estos medicamentos. Es el caso de SOF con amiodarona, donde se aumenta el riesgo de arritmia [31, 172]. En general, las combinaciones basadas en SOF se desaconsejan o llegan a contraindicarse cuando el paciente tiene algún tratamiento cardiovascular.

Por otra parte, la interacción puede provocar que las concentraciones plasmáticas no sean las correctas para una buena eficacia farmacológica.

Es el caso de los inductores del transportador P-gp, involucrado en la eliminación de SOF, como son la hierba de San Juan, carbamacepina o fenitoína. Éstos aceleran la eliminación del SOF, disminuyendo la biodisponibilidad de SOF, no llegando así a dosis farmacológicamente eficaces.

También es el caso de los antiácidos, que aumentan el pH gástrico, lo que disminuye la absorción de CLV, que no es soluble a pHs básicos. En el contexto clínico del paciente coinfectado VIH/VHC, son de especial interés las interacciones que se producen entre los antirretrovirales VIH y los antivirales orales para el VHC.

Así, el uso de SOF/CLV se admite con todas las combinaciones de antirretrovirales. Pero en regímenes con tenofovir hay que tener cuidado con la función del riñón, que debe monitorizarse de forma precisa. Es debido a la eliminación de SOF por el transportador P-gp.

Algunos de los antirretrovirales frente al VIH son inductores metabólicos, lo que puede alterar las concentraciones plasmáticas de los antivirales orales frente al VHC. Es el caso de efavirenz, que puede reducir hasta un 50% la concentración de VPV, por favorecer su degradación. De forma parecida, para la combinación GZV/EBV, SMV y daclastavir, se ve modificada su eliminación con el uso de antirretrovirales que producen activación metabólica (y otros fármacos no antirretrovirales), al verse afectadas sus vías de eliminación. En el caso de GZV/EBV, no es necesario ajuste de dosis, ya que el efecto inductor no afecta drásticamente a las concentraciones efectivas [31]

En el caso de usar PrOD como tratamiento de la hepatitis C en pacientes coinfectados VIH/VHC, presenta una gran cantidad de interacciones. Ritonavir se usa en esta formulación por su capacidad de inhibir citocromos hepáticos involucrados en la eliminación de PTV, concretamente CYP3A4, lo que permite alargar la semivida de eliminación de PTV, consiguiendo una administración oral dos veces al día. Así, esta combinación se contraindica en coadministración con fármacos que usen este citocromo como vía de eliminación. Se produce esto en regímenes con Cobicistat, atazanavir o darunavir. Es el caso de efavirenz, etravirina y neviraparina, potenciadores metabólicos, también se contraindica esta combinación [31].

6. CRITERIOS DE PRIORIZACIÓN DE LA TERAPIA FRENTE AL VHC EN PACIENTE COINFECTADO VIH/VHC.

Las diferentes guías clínicas sobre hepatitis C [14, 30, 31] coinciden en que el objetivo del tratamiento es el de reducir todas las causas de mortalidad y morbilidad derivadas de la infección, mediante la consecución de una RVS.

En los inicios del tratamiento con interferón, debido a su menor eficacia terapéutica, se priorizaba sobre los pacientes más críticos, donde la aparición de las complicaciones era más probable [15].

La introducción de los fármacos orales frente al VHC ha cambiado la perspectiva de la priorización ligeramente, debido a su mayor eficacia. También se debe tener en cuenta la evidencias que van apareciendo sobre los beneficios que hay al iniciar el tratamiento en fases más tempranas de la enfermedad.

En general, las diferentes guías recomiendan tratar a todos los pacientes con una hepatitis C crónica, ya sean naïve o que hayan sufrido un fracaso terapéutico previo [30, 31].

Por otro lado, estas mismas guías, dentro de estos enfermos, los clasifican según criterios que pueden acelerar la generación de las complicaciones de la hepatitis C, dando una serie de pautas de priorización del tratamiento.

Así, antes de iniciar el tratamiento habrá que estudiar los siguientes aspectos [15, 30]:

- Mayor riesgo de muerte: pacientes cirróticos o con fibrosis avanzada y pacientes trasplantados.
- Mayor riesgo de acelerar el proceso de fibrosis: coinfectados con VIH, VHB y enolismo.
- Presencia de manifestaciones extrahepáticas y síndrome metabólico.
- Reducir la incidencia: estudio de poblaciones de riesgo como el uso de drogas inyectables, homosexuales varones con VIH, encarcelados o trabajadores de la salud.

De forma global, priorizar el tratamiento del VHC en estas poblaciones de riesgo consigue el gold estándar de la terapia.

Como se observa, una de las poblaciones sobre las que hay priorizar la terapia es en el paciente coinfectado VIH/VHC, debido a la mayor celeridad en la que progresa la fibrosis y las complicaciones.

También, la priorización se observa que se hace sobre pacientes donde el grado de enfermedad es mayor. Contrario a este hecho, se ha observado que iniciar la terapia en fases más tempranas de la infección da lugar a mejores tasas de RVS [173, 174, 175, 176].

En este sentido es de interés buscar marcadores que identifiquen los pacientes que, aún estando en un estadio temprano de la enfermedad, puedan beneficiarse de iniciar el tratamiento antiviral de forma temprana.

Así, categorizando a estos pacientes, se optaría por iniciar en ellos el tratamiento, consiguiendo el objetivo de disminuir la morbilidad y mortalidad asociada al VHC.

6.1 HOMA-IR.

El HOMA-IR es un marcador del grado de insulinoresistencia que presenta un paciente. Es clara la relación que hay entre el proceso inflamatorio de la infección del VHC con la presencia de DM2, como se comentó anteriormente. En 2001, Cimino y colaboradores [177], en una muestra de 1195 individuos, observan que la DM es un factor de riesgo para la progresión de la infección viral.

Huang y colaboradores [178], comparan pacientes con infección por VHC diabéticos y no diabéticos. En el seguimiento, observan que en los pacientes diabéticos, la cirrosis se presenta significativamente antes que en los pacientes no diabéticos al inicio del estudio. Esta cirrosis también se descompensa antes en los pacientes diabéticos. Así, indican que el riesgo de padecer cirrosis es 1,53 mayor en los infectados diabéticos.

Aghemo y colaboradores [179], estudian una muestra de pacientes afectados por el VHC que no son diabéticos al inicio del estudio. Un 12% de estos pacientes muestran insulinoresistencia, con HOMA-IR \geq 2. Observan que el estado de insulinoresistencia basal no influye en la RVS, pero si estaba relacionado con esteatosis y fibrosis hepática basal. En consultas de seguimiento, a los 24 meses, HOMA-IR de peor pronóstico se encontraron en pacientes con fracaso terapéutico, incrementándose la incidencia de la insulinoresistencia en esta consulta de seguimiento frente a la medida basal. Los casos *de novo* también se dieron más frecuentemente en los pacientes que no experimentaban una RVS. Así, el análisis de regresión logística mostró que el desarrollo de insulinoresistencia se asociaba al fallo en el tratamiento y un incremento del índice de masa corporal \geq 10%

Merchante y colaboradores [180] en una muestra de pacientes coinfectados VIH/VHC, estudian la relación de la insulinoresistencia con la rigidez hepática. Encuentran que conforme mayor es el valor obtenido en el cálculo del HOMA-IR, mayor es el grado de rigidez. Así, según estos autores, el riesgo de sufrir rigidez hepática en pacientes coinfectados VIH/VHC es 3 a 5 veces mayor cuando el HOMA-IR \geq 2.

Así, junto a otros estudios similares, se propuso el HOMA-IR como un índice de priorización en el tratamiento, ya que se relaciona con la presencia de fibrosis hepática y la generación de cirrosis en el paciente infectado por el VHC.

Este índice presenta limitaciones como criterio de priorización, ya que, al ser un marcador de síndrome metabólico, se ve afectado por este. Es decir, en pacientes que ya presentan signos clínicos de síndrome metabólico, es un marcador de poco interés, ya que su alteración no se debe a la presencia del VHC. De hecho, en los estudios mencionados anteriormente, el primer cribado que se usó fue que los pacientes no tuvieran DM2, signo de síndrome metabólico, población que de por sí sufren insulinoresistencia y el HOMA-IR se encuentra alterados en ellos.

Por esto es de interés la búsqueda de otros criterios de priorización que no se

vean afectados por el estado clínico previo del paciente.

6.2. MARCADORES GENÉTICOS.

El estudio del ácido desoxirribonucleico (ADN) es de especial interés, ya que su información es prácticamente constante a lo largo de la vida del individuo, ya esté sano o enfermo.

Así, el uso de técnicas de biología molecular para conocer el genotipo que presenta el paciente tiene gran interés por esta invariabilidad de la secuencia de ADN.

En el caso del enfermo por el VHC, los genes más estudiados son los relacionados con la respuesta inmunológica frente al virus.

En este sentido, se han descrito genes relacionados con el pronóstico del éxito de la terapia frente al VHC o el aclaramiento del mismo [29,100]. Los genes encontrados son los de los complejos mayores de histocompatibilidad humana o antígenos leucocitarios humanos (HLA de sus siglas en inglés, *human leucocyte antigen*), interleuquina 28B (IL28B) y los KIR (*killer-cell immunoglobulin-like receptors*).

Por el contrario, no existe la presencia de genotipos que puedan servir como criterio de priorización terapéutico en el paciente infectado por el VHC. O por lo menos que pueda predecir en que pacientes, el riesgo de aparición de las diferentes complicaciones esté aumentado, ya sean éstas de la propia infección o por la terapia usada.

La búsqueda de estos marcadores mejoraría la categorización de los pacientes, favoreciendo al clínico sobre cuales actuar primero y que tratamiento será más eficaz y menos reacciones adversas le creará.

HIPÓTESIS/OBJETIVO

1. HIPÓTESIS

Variaciones en las moléculas HLA y los receptores KIR pueden predecir la historia natural de la infección por el VHC y el desarrollo de efectos adversos al tratamiento en pacientes coinfectados por el VIH

2. OBJETIVOS

1. Evaluar el valor predictivo de las moléculas HLA en la progresión de la fibrosis hepática en pacientes coinfectados por el VIH y VHC
2. Evaluar el valor predictivo de las moléculas de HLA y KIRs en el desarrollo de infección crónica o aclaramiento espontáneo tras una infección aguda por VHC en pacientes coinfectados por el VIH.
3. Evaluar la influencia de los receptores KIRs en el desarrollo de trombocitopenia secundaria a la administración de IFN en pacientes coinfectados por el VIH/VHC.

MATERIAL Y MÉTODO

1. DISEÑO

1.1. OBJETIVO 1: Evaluar el valor predictivo de las moléculas HLA en la progresión de la fibrosis hepática en pacientes coinfectados por el VIH y VHC.

1.1.1.- Pacientes naïve

Se incluyeron en el estudio pacientes coinfectados VIH/VHC genotipo 1 naïve. Se revisaron los registros de enfermos procedentes de la cohorte de pacientes coinfectados por VIH/VHC de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Reina Sofía de Córdoba, incluidos en la misma entre enero de 2007 y diciembre de 2014.

Los pacientes fueron censurados del estudio cuando:

- i. Alcanzan la variable de desenlace.
- ii. Se inició tratamiento para la hepatitis C.
- iii. Pérdida de seguimiento.
- iv. Final del estudio, 31 de diciembre de 2014,

1.1.1.1.- Criterios de inclusión:

- i. Infección por el VHC por genotipo 1 al inicio del estudio y durante el periodo de seguimiento, definida como carga viral detectable en sangre periférica.
- ii. Tener mínimo dos determinaciones de rigidez hepática, separadas al menos por un periodo de 12 meses.
- iii. En el caso de pacientes naïve, más de 12 meses de seguimiento de la enfermedad, sin la administración de tratamiento.

iv. No ser cirrótico al inicio del estudio.

1.1.1.2.- Criterios de exclusión:

- i. Presencia de cirrosis al inicio del estudio, definida como valores de rigidez hepática ≥ 14.6 kPa.
- ii. Infección VHC por genotipos distintos al 1

1.1.1.3.- Diseño:

1.1.1.3.1.- Variables:

Variable desenlace: Progresión del grado de fibrosis hepática, considerada como el incremento de al menos un grado en la escala de fibrosis.

Variables explicativas:

Características clínicas o sociodemográficas: edad, género, características sociodemográficas, consumo de alcohol, recuento de linfocitos CD4⁺ (células/mL), subtipo del VHC, carga viral del VIH, carga viral del VHC, grado de fibrosis hepática, valor de la elastometría (kPa), uso de terapia antirretroviral y vía de transmisión del VIH.

La carga viral de VHC y VIH se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa a tiempo real (q-PCR). Se midieron los niveles en plasma de material génico del VHC q-PCR con el kit Cobas Taqman, Roche Diagnostic Systems Inc., Planton, CA, USA. El límite de detección de la técnica es de 15 UI/mL. Para mostrar la presencia de infección activa por el VHC, las determinaciones de la viremia se realizaron a lo largo de todo el tiempo de seguimiento del estudio. Para el VIH, se utilizó una q-PCR con el kit Cobas Taqman, Roche Diagnostic Systems Inc., Planton, CA, USA. El límite de detección de la técnica es de 20 UI/mL.

Para la determinación de la rigidez hepática, se utilizó la técnica de elastometría transitoria hepática mediante dispositivo FibroScan®, Echosens, París, Francia. Las medidas se realizaron por técnicos entrenados para la

labor, siguiendo el procedimiento establecido con anterioridad [181]. La medida de la rigidez hepática se realizó al menos una vez al año. Se utilizaron como cutt-offs para determinar el grado de fibrosis hepática los siguientes valores obtenidos por Elastografía hepática transitoria [124]: <6.5 kPa (F0-F1, ausencia o mínima fibrosis); 6.5-9.4 kPa (F2, fibrosis significativa); 9.5-14.5 kPa (F3, fibrosis severa); y ≥ 14.6 kPa (F4, cirrosis).

Para el análisis genómico de los pacientes, el ADN se extrajo con el método automatizado MagNa Pure DNA extraction (Roche Diagnostics Corporación. Indianapolis, IN 46250, USA), a partir de 20-200 μ L de sangre periférica total remitidas en tubos con EDTA tripotásico como anticoagulante. El método utiliza proteinasa K para la rotura celular (células polimorfonucleares y mononucleares). El aislamiento del ADN se realizó con partículas de vidrio magnéticas [182].

El tipaje HLA-B se realiza mediante PCR-SSO con kits INNO-LIPA HLA-B Multiplex kit (Innogenetics N.V.). El kit, para la amplificación por PCR, emplea cebadores complementarios a las secuencias exónicas segunda y cuarta del locus HLA-B y para el exón 2 de los alelos HLA-Bw4. Se continúa la técnica con una hibridación con sondas oligonucleotídicas específicas de secuencia (SSO) de tipo reverso, ya que son estas sondas las que se encuentran fijadas en una membrana de nylon [183]. Para determinar el genotipado se usa el software LIRASTM para INNO-LIPA HLA. Solamente los alelos con una frecuencia superior al 5% se incluyeron en el análisis.

Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan como media, mediana y cuartiles (índice intercuartílicos o RIQ). Para la comparación entre grupos se usaron los tests t-Student, U-Mann-Whitney y el test de Kruskal-Wallis. Las variables categóricas se expresan como número de casos y porcentajes. Las frecuencias se estudiaron usando los test χ^2 o el test exacto de Fisher. Para medir la asociación entre las variables explicativas y la variable desenlace se usó un análisis de regresión logístico multivariante. Se ajustó el modelo según edad,

sexo y carga viral basal. Se calculó la razón de probabilidad (Odd ratio; OR) con un intervalo de confianza del 95%. Las variables relacionadas con la variable desenlace, se introducen en un modelo de regresión Cox, para estimar el tiempo libre de evento. Se ajustó este modelo por edad, sexo, presencia de y carga viral basal. Se calcularon curvas de supervivencia libre de evento, usando el método de Kaplan-Meier, comparando los tiempos de supervivencia con el test log-rank. Se calculó la razón de probabilidad temporal (Hazard ratio; HR) con un intervalo de confianza (IC) del 95%.

1.1.2.- Pacientes con fracaso a tratamiento previo

Se incluyeron en el estudio pacientes coinfectados VIH/VHC genotipo 1 no respondedores, a un tratamiento previo con PEG-INF/RBV \pm boceprevir o telaprevir. Se revisaron los registros de enfermos procedentes de la cohorte de pacientes coinfectados por VIH/VHC de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Reina Sofía de Córdoba, incluidos en la misma entre enero de 2007 y abril de 2016

1.1.2.1.- Criterios de inclusión:

- i. Infección crónica por el VHC por genotipo 1
- ii. Tener mínimo dos determinaciones de rigidez hepática, separadas al menos por un periodo de 12 meses.
- iii. Fallo a la terapia con PEG-INF/RBV \pm boceprevir o telaprevir.
- iv. No ser cirrótico al inicio del estudio.

1.1.2.2.- Criterios de exclusión:

- i. Presencia de cirrosis al inicio del estudio, definida como valores de rigidez hepática \geq 14.6 kPa.
- ii. Infección VHC por genotipos distintos al 1.

1.1.2.3.- Diseño: Ver punto 1.1.1.3

1.1.2.4.- Criterios de censura de los pacientes durante el seguimiento.

Los pacientes fueron censurados del estudio cuando:

- i. Alcanzaron la variable de desenlace.
- ii. Iniciaron tratamiento para la hepatitis C.
- iii. Pérdida de seguimiento.
- iv. Final del estudio, abril de 2016.

1.2. OBJETIVO 2: Evaluar el valor predictivo de las moléculas de HLA y KIRs en el desarrollo de infección crónica o aclaramiento espontáneo tras una infección aguda por VHC en pacientes coinfectados por el VIH.

Se incluyeron en el estudio pacientes infectados por VIH en los que se pudo demostrar la existencia de aclaramiento espontáneo de la infección por el VHC. Se revisaron los registros de enfermos procedentes de la cohorte de pacientes infectados por el VIH y de la cohorte de pacientes coinfectados por VIH/VHC de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Reina Sofía de Córdoba, incluidos entre enero de 2014 y 2016.

1.2.1.- Criterios de inclusión

- i. Presencia de anticuerpos frente al VHC (confirmados mediante inmunofijación de anticuerpos).
- ii. No haber recibido tratamiento para el VHC.
- ii. ARN-VHC negativo después de los 6 meses de la seroconversión del VHC.

1.2.2.- Grupo Control:

Se incluyó un grupo control de pacientes con infección crónica del VHC definido como pacientes con carga viral positiva para VHC durante más de seis meses después de la infección aguda. Para ello se incluyeron todos los pacientes con infección crónica por VHC incluidos en la cohorte de pacientes coinfectados por VIH/VHC de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del

Hospital Reina Sofía de Córdoba entre enero de 2014 y 2016.

1.2.3.- Diseño

Variable desenlace:

Aclaramiento espontáneo definido por presencia de anticuerpos frente al VHC (confirmados mediante inmunofijación de anticuerpos), no haber recibido tratamiento para el VHC y presentar ARN-VHC negativo después de los 6 meses de la seroconversión del VHC.

Variables explicativas:

Características clínicas o sociodemográficas: edad, género, características sociodemográficas, consumo de alcohol, recuento de linfocitos CD4⁺ (células/mL), genotipo y subtipo del VHC, carga viral del VIH, carga viral del VHC, grado de fibrosis hepática, valor de la elastometría (kPa), uso de terapia antirretroviral y vía de transmisión del VIH.

Para el análisis genómico de los pacientes, el ADN se extrajo con el método automatizado MagNa Pure DNA extraction (Roche Diagnostics Corporación. Indianapolis, IN 46250, USA), a partir de 20-200 μ L de sangre periférica total remitidas en tubos con EDTA tripotásico como anticoagulante. El método utiliza proteinasa K para la rotura celular (células polimorfonucleares y mononucleares). El aislamiento del ADN se realizó con partículas de vidrio magnéticas [182].

El tipaje HLA-B se realiza mediante PCR-SSO con kits INNO-LIPA HLA-B Multiplex kit (Innogenetics N.V.). El kit, para la amplificación por PCR, emplea cebadores complementarios a las secuencias exónicas segunda y cuarta del locus HLA-B y para el exón 2 de los alelos HLA-Bw4. Se continúa la técnica con una hibridación con sondas oligonucleotídicas específicas de secuencia (SSO) de tipo reverso, ya que son estas sondas las que se encuentran fijadas en una membrana de nylon [183]. Para determinar el genotipado se usa el software LIRASTM para INNO-LIPA HLA. Solamente los alelos con una frecuencia superior al 5% se incluyeron en el análisis.

El genotipo IL28B rs129679860 se realizó usando sondas TAQMAN siguiendo las recomendaciones del fabricante (Applied Biosystems, Foster City, California, USA). Los pacientes se clasificaron cómo genotipo CC o no-CC (TT/CT).

El genotipado KIR se realiza mediante PCR con cebadores específicos de secuencia (PCR-SSP, de Invitrogen Corporation). Se detecta la presencia de hasta 17 genes KIR: 2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4FULL, 2DS4DEL, 2DS5, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 3DS1, 2DP1, 3DP1 (214). En este método, los primers de la PCR están diseñados para hibridar con regiones específicas de los genes KIR, en concreto regiones polimórficas situadas en cis [185, 186].

Para realizar el genotipo HLA-C, se realizó una Nested-PCR basada en el método de Turner y colaboradores [187], seguida de la secuenciación de las regiones de interés, los exones 2 y 3 del gen HLA-C. Se realizan dos PCRs, con cebadores degenerados, usando el kit AmpliTaq Gold™ DNA Polymerase (Applied Biosystem™, Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, USA). Tras limpieza de la placa, se secuencia usando el kit BrightDye MIX, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los resultados, se comparan en las bases de datos BLAST (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine, USA) e IPD-IMGT/HLA (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>), base de datos específica para polimorfismos de HLA.

Análisis estadístico.

Se compararon las características de los pacientes incluidos en el grupo de estudio (pacientes con aclaramiento espontáneo de VHC) y las del grupo control (pacientes con infección crónica). Se realizó un modelo de regresión logística para identificar los genes relacionados con aclaramiento espontáneo del VHC. Se evaluó el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) se definieron como la probabilidad de alcanzar o no aclaramiento espontáneo del VHC. Para el VPN y VPP, se calculó un intervalo de confianza del 95% a ambos lados (IC del 95%) utilizando la distribución

binomial exacta.

1.3. OBJETIVO 3: Evaluar la influencia de los receptores KIRs en el desarrollo de trombocitopenia secundaria a la administración de IFN en pacientes coinfectados por el VIH/VHC.

Se incluyeron en el estudio pacientes coinfectados VIH/VHC procedentes de la cohorte de pacientes coinfectados por VIH/VHC de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Reina Sofía de Córdoba, que iniciaron tratamiento con PEG/RBV durante el período de estudio.

1.3.1.- Criterios de inclusión:

- i. Infección crónica por VHC sin tratamiento previo.
- ii. Infección por VIH.
- iii. Iniciar tratamiento anti-VHC con PEG/RBV.
- iv. Recuento de plaquetas basal superior a 100.000 cels/mL.

1.3.2.- Criterios de exclusión

- i. Pérdida de seguimiento antes de las 12 semanas de tratamiento sin haber alcanzado la variable desenlace.
- ii. Recuento de plaquetas basal inferior a 100.000 cels/mL.
- iii. Tratamiento anti-VHC previo.

1.3.3.- Diseño

Todos los pacientes recibieron tratamiento con 180 µg/kg/semana de Peg-IFN-α 2a en combinación con RBV a dosis de 1000 mg/día en los pacientes de <75 kg o de 1200 mg/día en >75 kg. Se evaluaron los pacientes que recibieron al menos 12 semanas.

Variable desenlace:

La variable desenlace del estudio fue el desarrollo de trombocitopenia definida como recuento de plaquetas inferior a 150.000 células/mililitro.

Variables explicativas:

Se recogieron las siguientes variables basales: edad, género, consumo de alcohol, conteo de células CD4⁺ (células/mL), genotipo del VHC, carga viral del VIH, carga viral del VHC, elastometría (kPa), uso de terapia antirretroviral y vía de transmisión del VIH. Las determinaciones de carga viral de VHC y VIH se realizaron mediante los procedimientos expuestos en puntos anteriores. La elastometría hepática transitoria se realizó con los mismos procedimientos descritos anteriormente.

En todos los pacientes se realizó un control hematológico que incluyó el recuento de cifra de plaquetas en la visita basal del estudio y durante el tratamiento en las semanas 1, 2, 4, 8 y 12 del seguimiento. c. Se definió la trombocitopenia como un conteo de plaquetas <150000 células/mililitro (cells/mL) [188].

El análisis genómico se realizó con los procedimientos descritos anteriormente. Se obtuvo una muestra basal para la determinación del genotipo KIR. Esta muestra se almacenó congelada a -80°C hasta su análisis genético. El genotipado KIR se realizó mediante PCR con cebadores específicos de secuencia (PCR-SSP, de Invitrogen Corporation), descrito anteriormente.

Los pacientes fueron censurados en el seguimiento del estudio cuando:

- i. Alcanzaron la variable de desenlace.
- ii. Pérdida de seguimiento.
- iii. Alcanzar 12 semanas de tratamiento con PEG/RBV

Análisis estadístico:

Las variables continuas se expresan como media, mediana y cuartiles (índice intercuartílicos o RIQ). Para la comparación entre grupos se usaron los tests t-Student, U-Mann-Whitney y el test de Kruskal-Wallis. Las variables categóricas se expresan como número de casos y porcentajes. Las frecuencias se estudiaron usando los test χ^2 o el test exacto de Fisher. Para medir la

asociación entre las variables a estudio y las variables desenlace se usó un análisis de regresión logístico multivariante. Se ajustó el modelo según edad, sexo y carga viral basal. Se calculó la razón de probabilidad (Odd ratio; OR) con un intervalo de confianza del 95%. Las variables relacionadas con la variable desenlace, se introducen en un modelo de regresión Cox, para estimar el tiempo libre de evento. Se ajustó este modelo por edad, sexo, presencia de cirrosis y carga viral basal. Se calcularon curvas de supervivencia libre de evento, usando el método de Kaplan-Meier, comparando los tiempos de supervivencia con el test log-rank. Se calculó la razón de probabilidad temporal (Hazard ratio; HR) con un intervalo de confianza (IC) del 95%.

2.- ASPECTOS ETICOS

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité ético y de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba. El estudio fue diseñado y realizado según la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes firmaron consentimiento informado de participación en el estudio y de almacenamiento y procesamiento de las muestras según los procesos de diagnóstico de rutina en el Biobanco del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba (ISCIII referencia: B.0000419), integrado en el Biobanco del Sistema Sanitario Público de Andalucía.

RESULTADOS

1.- OBJETIVO 1.- EVALUAR EL VALOR PREDICTIVO DE LAS MOLÉCULAS HLA EN LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIH Y VHC

1.1.- PACIENTES NAÏVE:

1.1.1. PACIENTES INCLUIDOS:

Se evaluaron 306 pacientes coinfectados VIH/VHC para su inclusión en el estudio. De estos, 104 reunieron los criterios de inclusión en el estudio (figura 10).

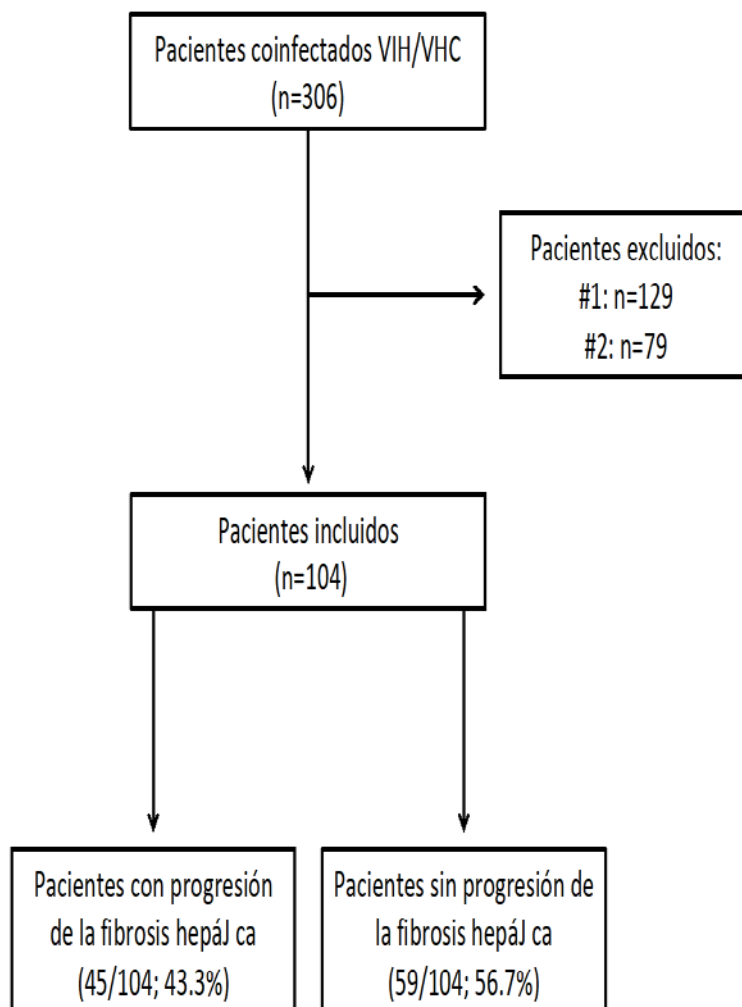


Figura 10. Diagrama de flujo de pacientes durante el estudio. #1: pacientes con tratamiento frente al VHC previo al seguimiento o que inician terapia en los primeros 12 meses del inicio del seguimiento. #2: pacientes cirróticos F4 al inicio del seguimiento.

En la tabla 8 se muestran las variables basales recogidas. Al inicio del estudio, 62 enfermos no presentaban fibrosis hepática (59.6%), 22 (21.2%) mostraban fibrosis leve y 20 (19.2%) presentan fibrosis avanzada.

En este periodo 45 (43.3%) de los enfermos progresaron en el grado de fibrosis y 59 (56.7%) no progresaron.

Características clínicas	Condición	n=104 pacientes
Edad (RIQ: años)	-	48 (44-53)
Sexo, n (%)	Hombre	89 (85.6)
	Mujer	15 (14.4)
CDIV, n (%)	-	102 (98.1)
Consumo de alcohol en g/día, n (%)	0-20	73 (70.2)
	20-50	16 (15.4)
	>50	15 (14.4)
Recuento CD4 ⁺ basal (RIQ: cell/mL)	-	413 (283-597)
Carga viral VIH, n (%)	Indetectable	73 (70.2)
	Detectable	31 (29.8)
Uso de TAR, n (%)	Si	93 (89.4)
	No	11 (10.6)
Criterios de SIDA, n (%)*	Si	40 (38.4)
	No	64 (61.6)
Genotipo VHC, n (%)	1	63 (60.6)
	2	3 (2.9)
	3	17 (16.3)

	4	18 (17.3)
	Desconocido	3 (2.9)
Carga viral basal VHC (RIQ: log ₁₀ IU/mL)	-	6.2 (5.4-6.6)
Medida de rigidez hepática basal (kPa)	F0-F1	62 (59.6)
	F2	22 (21.2)
	F3	20 (19.2)
Genotipo HLA-B, n (%)		
B*07	Positivo	11 (10.6)
	Negativo	93 (89.4)
B*08	Positivo	10 (9.6)
	Negativo	94 (90.4)
B*14	Positivo	22 (21.2)
	Negativo	82 (78.8)
B*15	Positivo	8 (7.7)
	Negativo	96 (92.3)
B*18	Positivo	15 (14.4)
	Negativo	89 (85.6)
B*35	Positivo	19 (18.7)
	Negativo	85 (81.7)
B*40	Positivo	12 (11.5)
	Negativo	92 (88.4)
B*44	Positivo	28 (26.9)
	Negativo	76 (73.1)

B*49	Positivo	14 (13.5)
	Negativo	90 (86.5)
B*51	Positivo	18 (17.3)
	Negativo	86 (82.7)
B*57	Positivo	9 (8.7)
	Negativo	95 (91.3)

Tabla 8. Principales características basales de los pacientes. n: número de casos; RIQ: rango intercuartílico; CDIV: consumo de drogas intravenosas; TAR: terapia antirretroviral; SIDA: síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; VHC: virus de la hepatitis C; IU/mL: unidades internacionales/mililitros; kPa: kilipascales; HLA: antígeno leucocitario humano.

*Clasificación en base a las recomendaciones del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) (definiciones de casos de vigilancia revisado para la infección por VIH entre adultos, adolescentes y niños <de 18 años y para la infección por el VIH y el SIDA entre los niños de 18 meses a <13 años- Estados Unidos, 2008. MMWR 2008; 57 (n RR-10): 1-14).

1.1.2. CAMBIOS DEL GRADO DE FIBROSIS HEPATICA DURANTE EL SEGUIMIENTO

El tiempo de seguimiento medio fue de 54.5 (RIQ: 26.2-77) meses. Durante el seguimiento, se realizaron 461 medidas de rigidez hepáticas, que supuso una media de 4 determinaciones en cada paciente (RIQ:3-6).

En este periodo, 45 (43.3%) de los enfermos progresaron su grado de fibrosis respecto al basal. El tiempo medio de aparición del evento fue de 29 (RIQ: 14-49.5) meses. Según el grado basal de fibrosis hepática, 24 de 62 (38.7%) de los pacientes F0-F1 experimentaron aumento del grado de rigidez hepática. El tiempo medio de aparición del evento fue de 29.5 (RIQ: 11.7-40) meses. De los 22 pacientes con grado F2 basal, 13 (59.1%) sufrieron aumento del grado de fibrosis hepática, con un tiempo medio de aparición de evento de 26 (RIQ: 13.5-53.5) meses. Entre los pacientes con F3, el 40% (8 de 20), aumentaron el grado de fibrosis durante el seguimiento, con un tiempo medio de aparición del evento de 33.5 (RIQ: 16.5-60) meses.

De los pacientes que iniciaron el seguimiento con un grado de fibrosis F0-F2, un 29.7% progresaron a F3-F4. El tiempo medio de aparición del evento fue de

30.5 (RIQ: 16.5-51) meses. De toda la población incluida en el estudio, 18 pacientes (17.3%) progresaron a F4. El tiempo de aparición de evento fue de 40 (RIQ: 20.5–58.2) meses. En 12 pacientes (11.5%) se registró regresión de la fibrosis durante el seguimiento. De estos, 10 (9.6%) disminuyeron al menos un grado el valor de rigidez hepática y en 2 (19.2%) disminuyeron 2 grados el valor de la rigidez.

1.1.3. VARIABLES ASOCIADAS A LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS.

Las variables asociadas con la progresión de la fibrosis hepática se muestran en la tabla 9. La presencia del alelo HLA-B*18 se asoció con progresión de la fibrosis. Así, el 73.3% de los pacientes HLA-B*18^{pos} mostraron progresión de al menos un grado de fibrosis hepática, respecto al 38.2% de los pacientes HLA-B*18^{neg} ($p=0.011$). El tiempo medio de aparición del evento fue 24 (RIQ: 8-29) meses en pacientes HLA-B*18^{pos} y de 34.5 (RIQ: 14.7-51.2) meses en pacientes HLA-B*18^{neg}. El análisis de supervivencia mostró que, los pacientes portadores del alelo HLA-B*18 presentaron mayor riesgo de progresión de la fibrosis hepática que los pacientes HLA-B*18^{neg} (long rank: $p<0.001$; figura 11a).

Respecto a la progresión de grados F0-F2 hasta grados F3-F4, los pacientes HLA-B*18^{pos} presentaron mayores frecuencias de progresión que los pacientes HLA-B*18^{neg} (9/13:69.2% vs 20/71: 28.2%; $p=0.009$). El tiempo medio de progresión a F3-F4 fue 18 (RIQ: 6.5-37) meses para los enfermos HLA-B*18^{pos} y de 37 (RIQ: 1-52) meses en los pacientes no portadores del alelo HLA-B*18. El análisis de supervivencia muestra que, los pacientes HLA-B*18^{pos} presentan mayor riesgo de sufrir progresión en la fibrosis hepática desde F0-F2 hasta F3-F4, que lo pacientes HLA-B*18^{neg} (long rank: $p<0.001$; figura 11b).

En el análisis Cox, HLA-B*18^{pos} y la carga viral basal del VIH fueron los únicos factores asociados a progresión de la fibrosis en al menos un grado de valor de rigidez hepática. Se obtuvo un HR 5.84 (95% IC: 2.69-12.69; $p<0.001$) para HLA-B*18^{pos}. En el caso de la carga viral del VIH se obtuvo un HR 0.50 (95% IC: 0.26-0.97; $p=0.041$).

Características Clínicas	Condición	Sujetos con PRH	Análisis univariante (p)	HR (95% CI)	Análisis multivariante (p)
Edad (años)	<45	12 (42.9)	0.873	0.87 (0.42-1.83)	0.733
	≥45	33 (43.4)		1	
Sexo, n (%)	Hombre	40 (44.9)	0.871	1.28 (0.48-3.42)	0.621
	Mujer	5 (33.3)		1	
Recuento CD4 ⁺ basal (cell/mL)	<350	18 (43.9)	0.815		
	≥350	27 (42.9)			
Carga viral VIH, n (%)	Indetectable	28 (38.4)	0.167	0.50 (0.26-0.97)	0.041
	Detectable	17 (54.8)		1	
Uso TAR, n (%)	Si	40 (43)	0.619		
	No	5 (45.5)			
Criterio de adquisición	Si	19 (47.5)	0.552	1.92 (0.97-3.79)	0.058

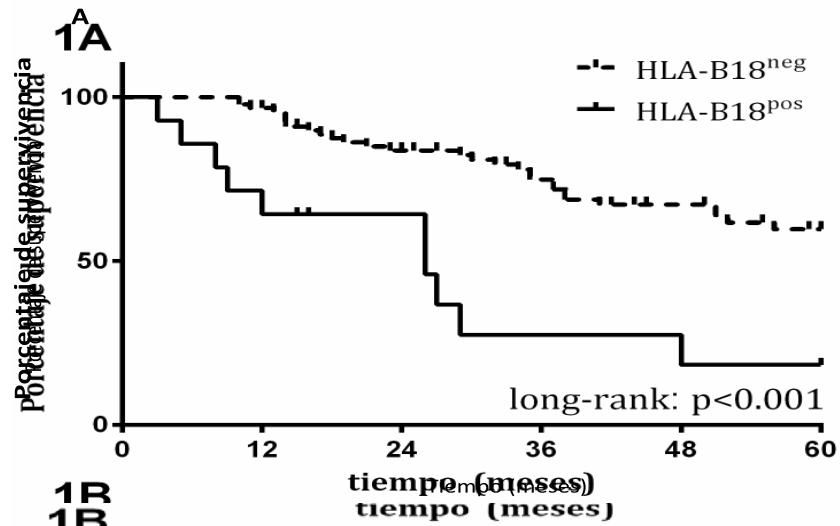
de SIDA , n (%)*	No	26 (40.6)		1	
Genotipo VHC, n (%)	1	26 (41.3)	0.671		
	2	0			
	3	8 (47.1)			
	4	10 (55.6)			
	Desconoci do	1 (33.3)			
Carga viral VHC basal (log10 IU/mL)	<600.000	13 (39.4)	0.425	1	0.067
	≥600.000	32 (45.1)			
Medida de rigidez hepática basal (kPa)	F0-F1	24 (38.7)	0.296		
	F2	13 (59.1)			
	F3	8 (40)			
Genotipo HLA-B, n (%)					
B*07	Positive	4 (36.4)	0.292		
	Negative	41 (44.1)			

B*08	Positive	7 (70)	0.137		
	Negative	38 (40.4)			
B*14	Positive	9 (40.9)	0.627		
	Negative	36 (43.9)			
B*15	Positive	2 (25)	0.321		
	Negative	43 (44.8)			
B*18	Positive	11 (73.3)	<0.001	5.84 (2.69- 12.69)	<0.001
	Negative	34 (38.2)			
B*35	Positive	5 (26.3)	0.283		
	Negative	40 (47.1)			
B*40	Positive	7 (58.3)	0.583		
	Negative	38 (41.3)			
B*44	Positive	11 (39.3)	0.618		
	Negative	34 (44.7)			

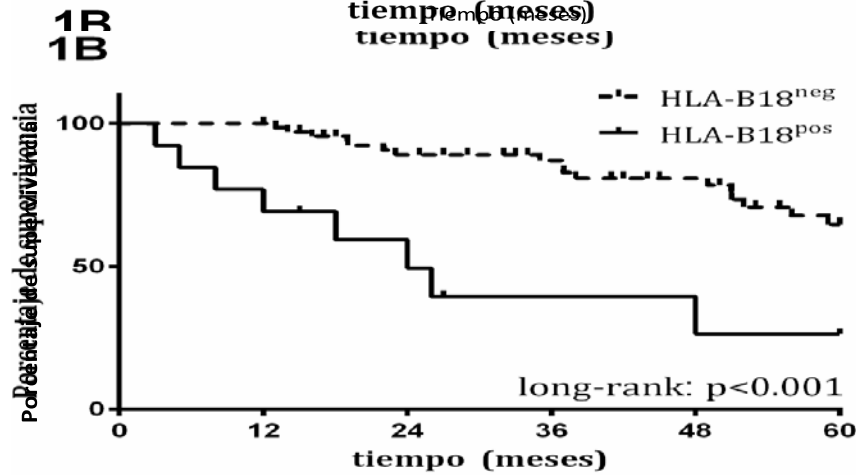
B*49	Positive	7 (50)	0.191
	Negative	38 (42.2)	
B*51	Positive	5 (27.8)	0.088
	Negative	40 (46.5)	
B*57	Positive	2 (22.2)	0.245
	Negative	43 (5.3)	

Tabla 9. Análisis univariante y multivariante de factores asociados a la progresión de al menos un grado en el valor de rigidez hepática. PRH: progresión de la rigidez hepática; p: p-valor; HR: hazard ratio; n: número de casos; TAR: terapia antirretroviral; SIDA: síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; VHC: virus de la hepatitis C; IU/mL: unidades internacionales/mililitros; kPa: kilipascales; HLA: antígeno leucocitario humano.

*Clasificación en base a las recomendaciones del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) (definiciones de casos de vigilancia revisado para la infección por VIH entre adultos, adolescentes y niños <de 18 años y para la infección por el VIH y el SIDA entre los niños de 18 meses a <13 años- Estados Unidos, 2008. MMWR 2008; 57 (n RR-10): 1-14)



Time	Haplotype B18	Survival	Typ. Error	Accumul. events	Remain. cases
1 year	negative	0.96	0.01	3	86
	positive	0.66	0.12	5	10
2 years	negative	0.84	0.03	13	67
	positive	0.57	0.13	6	6
3 years	negative	0.75	0.04	19	49
	positive	0.28	0.13	9	3
5 years	negative	0.60	0.06	28	30
	positive	0.19	0.11	10	2



Time	Haplotype B18	Survival	Typ. Error	Accumul. events	Remain. cases
1 year	negative	1	0	0	70
	positive	0.69	0.12	4	9
2 years	negative	0.89	0.03	7	54
	positive	0.49	0.14	6	5
3 years	negative	0.87	0.04	8	43
	positive	0.39	0.14	7	4
5 years	negative	0.64	0.07	17	21
	positive	0.26	0.14	8	2

Figura 11. Curvas y tablas de supervivencia que muestran de que los pacientes estén libres de progreso de la fibrosis según HLA-B*18^{pos/neg}. A: pacientes que progresan al menos un grado. B: pacientes F0-F2 que progresan a F3-F4

1.2. PACIENTES NO RESPONDEDORES A TERAPIA ANTI-VHC PREVIA.

1.2.1. PACIENTES INCLUIDOS.

Se incluyeron 65 enfermos coinfectados VIH/VHC no respondedores a la combinación de PEG-INF/RBV \pm boceprevir o telaprevir. En la tabla 10 se recogen los datos demográficos de estos pacientes.

Características clínicas	Condición	n=65 pacientes
Edad (RIQ: años)	-	49 (47-53)
Sexo, n (%)	Hombre	55 (84.6)
	Mujer	10 (15.4)
Recuento CD4 ⁺ basal (RIQ: cell/mL)	-	552 (390-689)
Carga viral VIH, n (%)	Indetectable	55 (84.6)
	Detectable	10 (15.4)
Criterios de SIDA, n (%)*	Si	19 (29.2)
	No	46 (70.8)
Genotipo VHC, n (%)	1	47 (72.3)
	3	9 (13.8)
	4	7 (10.8)
Carga viral basal VHC (RIQ: log ₁₀ IU/mL)	-	6.2 (5.8-6.7)
Medida de rigidez hepática basal (kPa)	F0-F1	28 (43.1)
	F2	16 (24.2)
	F3	19 (29.2)
Genotipo HLA-B, n (%)		
B*07	Positivo	13 (20)

	Negativo	52 (80)
B*08	Positivo	8 (12.3)
	Negativo	57 (87.7)
B*14	Positivo	10 (15.4)
	Negativo	55 (84.6)
B*18	Positivo	11 (16.9)
	Negativo	54 (83.1)
B*27	Positivo	7 (10.8)
	Negativo	58 (89.2)
B*35	Positivo	10 (15.4)
	Negativo	55 (84.6)
B*44	Positivo	18 (27.7)
	Negativo	47 (72.3)
B*49	Positivo	7 (10.8)
	Negativo	58 (89.2)
B*51	Positivo	9 (13.8)
	Negativo	56 (86.2)

Tabla 10. Principales características basales de los pacientes. n: número de casos; RIQ: rango intercuartílico; SIDA: síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; VHC: virus de la hepatitis C; IU/mL: unidades internacionales/mililitros; kPa: kilipascales; HLA: antígeno leucocitario humano.

*Clasificación en base a las recomendaciones del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) (definiciones de casos de vigilancia revisado para la infección por VIH entre adultos, adolescentes y niños <de 18 años y para la infección por el VIH y el SIDA entre los niños de 18 meses a <13 años- Estados Unidos, 2008. MMWR 2008; 57 (n RR-10): 1-14).

1.2.2. CAMBIOS DEL GRADO DE FIBROSIS HEPATICA DURANTE EL SEGUIMIENTO.

El tiempo medio de seguimiento fue de 53 (RIQ: 36-70) meses. De los 65

pacientes incluidos en el estudio, 31 (47.7%) progresaron al menos un grado el valor de rigidez hepática durante el seguimiento. El tiempo de aparición medio del evento fue de 30.5 (RIQ: 12.5-45) meses. De estos, tres (9.7%) progresaron a F2, dieciséis (51.6%) progresaron a F3 y 12 (38.7%) progresaron a cirrosis. El resto de pacientes, 34 (52.3%), no aumentaron el grado de rigidez hepática. De los pacientes que iniciaron el seguimiento con un grado de fibrosis F0-F2, 20 (45.7%) pacientes progresaron a F3-F4. El tiempo medio de aparición del evento fue de 41.8 (RIQ: 15.3-63) meses.

1.2.3. VARIABLES ASOCIADAS A LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS.

De los pacientes incluidos en el estudio, 54 fueron HLA-B*18^{neg} y 11 fueron HLA-B*18^{pos}. Se identificó HLA-B*18^{pos} como factor asociado a la progresión del grado de fibrosis hepática. Así, de los pacientes HLA-B*18^{pos}, el 81.1% desarrollaron progreso de al menos un grado en la fibrosis hepática, frente al 38.9% de los pacientes HLA-B*18^{neg} ($p=0.017$). El tiempo medio de aparición del evento fue de 24 (RIQ: 8-43) meses en HLA-B*18^{pos} y de 39.5 (RIQ: 14.7-56.2) meses en los pacientes HLA-B*18^{neg}. El análisis de supervivencia mostró, que los portadores de HLA-B*18 presentan mayor riesgo de progresar en al menos un grado el valor de rigidez hepática que los pacientes HLA-B*18^{neg} (long Rank: $p=0.006$; figura 12a). Respecto a la progresión de pacientes con F0-F2 basal hasta F3-F4, los pacientes HLA-B*18^{pos} presentaron mayor frecuencia de progresión que los pacientes HLA-B*18^{neg} (7/9: 77.7% vs. 12/41: 29.2%; $p=0.018$). El tiempo medio de progresión a F3-F4 fue 43 (RIQ: 8.5-70.5) meses para los enfermos HLA-B*18^{pos} y de 42.5 (RIQ: 15.7-60) meses en los pacientes no portadores del alelo HLA-B*18. El análisis de supervivencia mostró que los pacientes HLA-B*18^{pos} presentaron mayor riesgo de sufrir progresión en la fibrosis hepática desde F0-F2 hasta F3-F4, que lo pacientes HLA-B*18^{neg} (long rank: $p<0.049$; figura 12b). En el análisis Cox, HLA-B*18^{pos} el único factor asociado a progresión de la fibrosis en al menos un grado de valor de rigidez hepática; HR=2.9 (IC del 95%: 1.2-6.6); $p=0.012$.

2.- OBJETIVO 2.- EVALUAR EL VALOR PREDICTIVO DE LAS MOLÉCULAS DE HLA Y KIRS EN EL DESARROLLO DE INFECCIÓN CRÓNICA DEL VHC TRAS UNA INFECCIÓN AGUDA EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIH.

2.1. PACIENTES INCLUIDOS.

Se incluyeron en el estudio 57 pacientes infectados por VIH que mostraron aclaramiento espontáneo del VHC y 81 pacientes VIH con infección crónica del VHC. Las características basales de ambos grupos se muestran en la tabla 11. Del mismo modo, la distribución de los genes evaluados en el estudio para el aclaramiento espontáneo se muestra en las tablas 12, 13, 14.

Característica clínica	Condición	n= 57 AC	n= 81 VHC-C
Edad (RIQ: años)	-	49 (44-51)	50 (47-54)
Sexo, n (%)	Hombre	38 (36.9)	65 (63.1)
	Mujer	19 (54.3)	16 (45.7)
Contaje CD4 ⁺ (RIQ: cell/mL)	-	461.5 (267-599)	545 (330-654)
Carga viral VIH, n (%)	Indetectable	52 (41.6)	73 (58.4)
	Detectable	5 (38.5)	8 (61.5)
Uso de TAR, n (%)	Si	55 (40.4)	81 (59.6)
	No	2 (100)	0
Criterios de SIDA, n (%) [*]	Si	16 (45.7)	19 (54.3)
	No	41 (39.8)	62 (60.2)

Genotipo IL28B, n (%)	No-CC	12 (18.5)	53 (81.5)
	CC	45 (61.6)	28 (38.4)
Genotipo HCV, n (%)	1	2 (3.1)	62 (96.9)
	2	0	1 (100)
	3	4 (50)	4 (50)
	4	0	13 (100)
	Desconocido	51 (98.1)	1 (1.9)

Tabla 11. Principales características basales de los pacientes. AC: aclaramiento espontáneo. VHC-C: infección crónica del VHC. n: número de casos; RIQ: rango intercuartílico; cell/mL: células/mililitro. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; TAR: terapia antirretroviral. SIDA: síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida. IL28B: interleuquina 28B; VHC: virus de la hepatitis C.

*Clasificación en base a las recomendaciones del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) (definiciones de casos de vigilancia revisado para la infección por VIH entre adultos, adolescentes y niños <de 18 años y para la infección por el VIH y el SIDA entre los niños de 18 meses a <13 años- Estados Unidos, 2008. MMWR 2008; 57 (n RR-10): 1-14).

HLA-B ¹	Condición	AC; n (%)	VHC-C; n (%)	<i>p</i>
*07	Ausencia	38 (40.9)	55 (59.1)	0.335
	Presencia	10 (31.2)	22 (68.8)	
*14	Ausencia	37 (37)	63 (63)	0.520
	Presencia	11 (44)	14 (56)	
*15	Ausencia	46 (39)	72 (61)	0.706
	Presencia	2 (28.6)	5 (71.4)	
*18	Ausencia	43 (39.1)	67 (60.9)	0.667
	Presencia	5 (33.3)	10 (66.7)	
*27	Ausencia	45 (38.8)	71 (61.2)	1
	Presencia	3 (33.3)	6 (66.7)	
*35	Ausencia	41 (40.2)	61 (59.8)	0.385
	Presencia	7 (30.4)	16 (69.6)	
*38	Ausencia	47 (40.5)	69 (59.5)	0.151
	Presencia	1 (11.1)	8 (88.9)	
*40	Ausencia	44 (39.3)	68 (60.7)	0.765
	Presencia	4 (30.8)	9 (69.2)	
*44	Ausencia	41 (43.6)	53 (56.4)	0.033
	Presencia	7 (22.6)	24 (77.4)	
*49	Ausencia	44 (37.9)	72 (62.1)	0.732
	Presencia	4 (44.4)	5 (55.6)	
*51	Ausencia	41 (37.3)	69 (62.7)	0.483
	Presencia	7 (46.7)	8 (53.3)	

*52	Ausencia	42 (38.2)	68 (61.8)	0.892
	Presencia	6 (40)	9 (60)	

Tabla 12. Distribución alélica HLA-B. Se tienen en cuenta los alelos con una frecuencia >5%. p: p valor. HLA-B: antígeno leucitario tipo B; AC: aclaramiento espontáneo; VHC-C: infección crónica por el virus de la hepatitis C.

HLA-C ²	Condición	AC; n (%)	VHC-C; n (%)	p
*02	Ausencia	44 (41.5)	62 (58.5)	0.522
	Presencia	3 (27.3)	8 (72.7)	
*03	Ausencia	44 (41.5)	62 (58.5)	0.522
	Presencia	3 (27.3)	8 (72.7)	
*04	Ausencia	38 (41.3)	54 (58.7)	0.818
	Presencia	9 (36)	16 (64)	
*05	Ausencia	35 (38.5)	56 (61.5)	0.480
	Presencia	12 (46.2)	14 (53.8)	
*06	Ausencia	45 (41.3)	64 (58.7)	0.472
	Presencia	2 (25)	6 (75)	
*07	Ausencia	39 (46.4)	45 (53.6)	0.028
	Presencia	8 (24.2)	25 (75.8)	
*08	Ausencia	38 (39.6)	58 (60.4)	0.782
	Presencia	9 (42.9)	12 (57.1)	
*12	Ausencia	44 (45.8)	52 (54.2)	0.008
	Presencia	3 (14.3)	18 (85.7)	
*15	Ausencia	40 (38.1)	65 (61.9)	0.219
	Presencia	7 (58.3)	5 (41.7)	
*16	Ausencia	41 (40.2)	61 (59.8)	0.988
	Presencia	6 (40)	9 (60)	

Tabla 13. Distribución alélica HLA-C. Se tienen en cuenta los alelos con una frecuencia >5%. p: p valor. HLA-C: antígeno leucitario tipo C; AC: aclaramiento espontáneo; VHC-C: infección crónica por el virus de la hepatitis C

KIR	Condición	AC; n (%)	VHC-C; n (%)	p
2DS2	Ausencia	30 (46.2)	35 (53.8)	0.202
	Presencia	24 (35.3)	44 (64.7)	
2DL2	Ausencia	18 (35.3)	33 (64.7)	0.397
	Presencia	35 (42.7)	47 (57.3)	
2DL3	Ausencia	3 (33.3)	6 (66.7)	1
	Presencia	49 (40.2)	73 (59.8)	
2DL5	Ausencia	23 (37.7)	38 (62.3)	0.531
	Presencia	31 (43.1)	41 (56.9)	
2DS3	Ausencia	22 (31)	49 (69)	0.071
	Presencia	24 (47.1)	27 (52.9)	
2DS5	Ausencia	41 (43.2)	54 (56.8)	0.188
	Presencia	11 (30.6)	25 (69.4)	
2DP1	Ausencia	1 (20)	4 (80)	0.648
	Presencia	53 (41.4)	75 (58.6)	
2DL1	Ausencia	1 (20)	5 (55.6)	1
	Presencia	53 (41.1)	76 (58.9)	
3DL1	Ausencia	9 (60)	6 (40)	0.119
	Presencia	48 (39)	75 (61)	
3DS1	Ausencia	50 (47.6)	55 (52.4)	0.001
	Presencia	4 (13.8)	25 (86.2)	
2DS1	Ausencia	30 (37)	51 (63)	0.296
	Presencia	24 (46.2)	28 (53.8)	
2DS4	Ausencia	40 (42.6)	54 (57.4)	0.376
	Presencia	13 (34.2)	25 (65.8)	
1D	Ausencia	12 (50)	12 (50)	0.300
	Presencia	42 (38.5)	67 (61.5)	

Tabla 14. Distribución alélica KIR. Se tienen en cuenta los alelos con una frecuencia >5%. p: p valor. KIR: killer-cell immunoglobulin-like receptor; AC: aclaramiento espontáneo; VHC-C: infección crónica por el virus de la hepatitis C.

2.2. VARIABLES ASOCIADAS A ACLARAMIENTO ESPONTÁNEO DEL VHC EN PACIENTES COINFECTADOS VIH/VHC.

En primer lugar, considerando los genes estudiados de forma aislada, ser portador de un genotipo IL28B CC supuso un VPP para aclaramiento espontáneo del VHC de 61,6% (IC del 95%: 50,1-71,9%). En cambio, entre los pacientes con el genotipo IL28B no-CC, 12/65 lograron aclaramiento espontáneo del VHC lo que supone un VPN del 81,5% (IC del 95%: 70,4 - 89,1%).

Cuando se analizaron los alelos HLA-B, la ausencia de HLA-B44 supuso un VPP para aclaramiento espontáneo del VHC de 43,6% (IC del 95%: 33,8-53,7%), y su presencia un VPN sobre el aclaramiento espontáneo del 77,4% (IC del 95%: 60,3 -89,5%).

Para los alelos HLA-C, la ausencia de HLA-C*07 supuso un VPP para aclaramiento espontáneo del VHC de 46,4% (IC del 95%: 35,9-57,1%) y su presencia un VPN del 75,8% (IC del 95%: 59,1-88%). Por su parte, la ausencia de HLA-C*12 supuso un VPP del 45,8% (IC del 95%: 36-55,8%) y un VPN del 85,7% (IC del 95%: 65,8-96,2%).

Cuando se analizaron los genes KIR, la ausencia de KIR3DS1 tuvo un VPP para aclaramiento espontáneo del VHC de 47,6% (IC del 95%: 38,2-57,1%) y su presencia un VPN del 86,2% (IC del 95%: 70-95,4%).

Mediante análisis multivariante se comprobó que la presencia de genotipos IL28B no-CC, HLA-B*44, HLA-C*12 o KIR3DS1 fueron factores predictivos independientes asociados negativamente con el aclaramiento espontáneo del VHC (tabla 15). Por el contrario, la ausencia de estos genotipos fueron factores predictivos independientes de aclaramiento espontáneo del VHC. Evaluamos el valor predictivo de aclaramiento espontáneo del VHC de asociaciones de estos genes (tabla 16). Definimos la ausencia de HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1 como un perfil genotípico favorable para el aclaramiento espontáneo del VHC (PGF), mientras que la presencia de al menos uno de estos tres genotipos (HLA-B*44, HLA-C*12 o KIR3DS1) se definió como un perfil genotípico

desfavorable (PGD) para el aclaramiento espontáneo del VHC. Ser portador de un PGD y de un genotipo IL28B no-CC supuso un VPN para aclaramiento espontáneo del VHC del 100% (IC del 95%: 91,8-100%; figura 12A). En cambio, ser portador de PGD y IL28B CC supuso un VPN para aclaramiento espontáneo del VHC de 62,5% (IC del 95%: 42,2-79,9%; figura 12B).

Por otro lado, ser portador de PGF y de un genotipo IL28B-CC supuso un VPP para aclaramiento espontáneo del VHC del 74,1% (IC del 95%: 55,3-87,8%) (figura 12C). En cambio, ser portador de PGF y de un genotipo IL28B-no-CC supuso un VPP (figura 12D) para aclaramiento espontáneo del VHC del 50% (IC del 95%: 27,8-72,1%).

Factor	Condición	OR	IC del 95%	p
IL28B	CC	6.46	2.22-18.77	0.001
HLA-B*44	Presencia	0.18	0.05-0.61	0.006
HLA-C*07	Presencia	0.75	0.22-2.61	0.662
HLA-C*12	Presencia	0.15	0.02-0.83	0.030
KIR3DS1	Presencia	0.09	0.01-0.51	0.006

Tabla 15. Analisis multivariante de factores asociados con aclaramiento espontáneo del VHC. OR: odd ratio; IC del 95%: intervalo de confianza al 95%; IL28B; interleucina 28B; HLA-B*44: antígeno leucocitario tipo B44; HLA-C*07: antígeno leucocitario tipo C07; HLA-C*12: antígeno leucocitario tipo C12; KIR3DS1: killer-cell immunoglobulin-like receptor 3DS1.

IL28B	HLA-B*44	HLA-C*12	KIR3DS1	n	AC	VPP (IC del 95%)	VPN (IC del 95%)
CC	Presencia	Presencia	Presencia	1	0	0% (0-95)	100% (5-100)
	Presencia	Ausencia	Presencia	2	0	0% (0-77.6)	100% (22.3-100)
	Presencia	Ausencia	Ausencia	11	5	45.4% (18.9-74)	54.5% (25.9-81)
	Presencia	Presencia	Ausencia	2	1	50% (2.5-97.5)	50% (2.5-97.5)
	Ausencia	Presencia	Presencia	1	0	0% (0-95)	100% (5-100)
	Ausencia	Presencia	Ausencia	3	1	33% (1.6-86.8)	66.7% (13.2-98.3)
	Ausencia	Ausencia	Presencia	4	2	50% (9.5-90.5)	50% (9.5-90.5)
	Ausencia	Ausencia	Ausencia	27	20	74.1% (55.3-87.8)	25.9% (12.1-44.6)
No-CC	Presencia	Presencia	Presencia	1	0	0% (0-95)	100% (50-100)
	Presencia	Ausencia	Presencia	0	0	0%	0%
	Presencia	Ausencia	Ausencia	9	0	0% (0-28.3)	100% (71.6-100)
	Presencia	Presencia	Ausencia	0	0	0%	0%
	Ausencia	Presencia	Presencia	5	0	0% (0-45)	100% (54.9-100)
	Ausencia	Presencia	Ausencia	7	0	0% (0-34.8)	100% (65.1-100)
	Ausencia	Ausencia	Presencia	13	0	0% (0-20.5)	100% (79.4-100)
	Ausencia	Ausencia	Ausencia	18	9	50% (27.8-72.1)	50% (27.8-72.1)

Tabla 16. Efecto de las diferentes combinaciones de genes sobre el aclaramiento espontáneo del VHC. %; IL28B; interleucina 28B; HLA-B*44: antígeno leucocitario tipo B44; HLA-C*12: antígeno leucocitario tipo C12; KIR3DS1: killar-cell inmunoglobulin-like receptor 3DS1; AC: aclaramiento espontáneo; IC del 95%: intervalo de confianza al 95%.

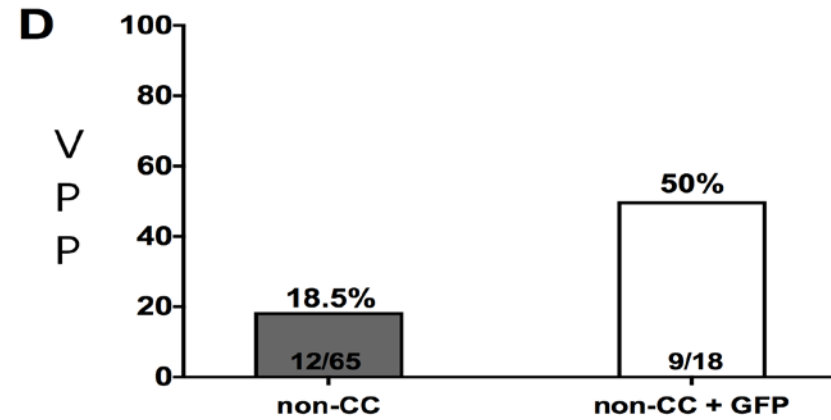
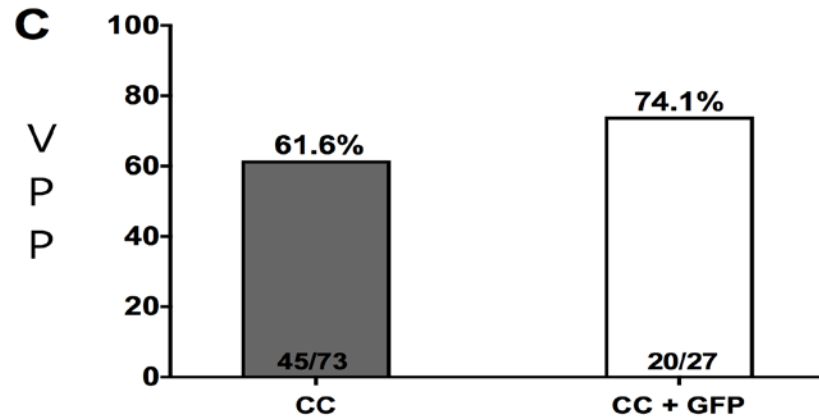
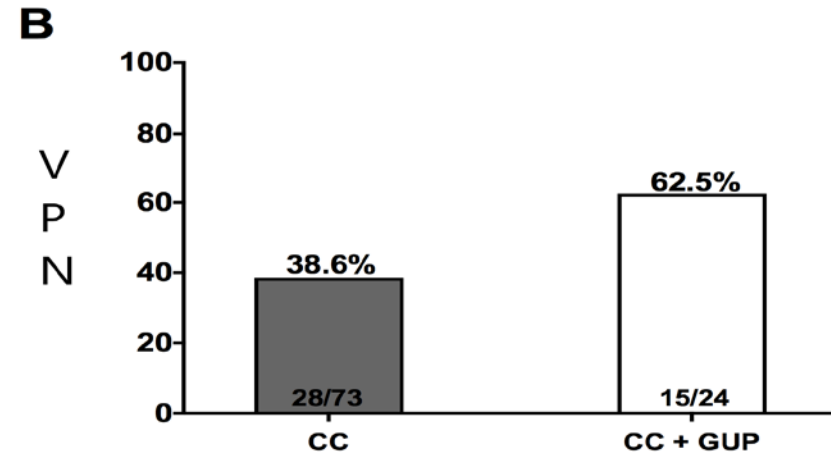
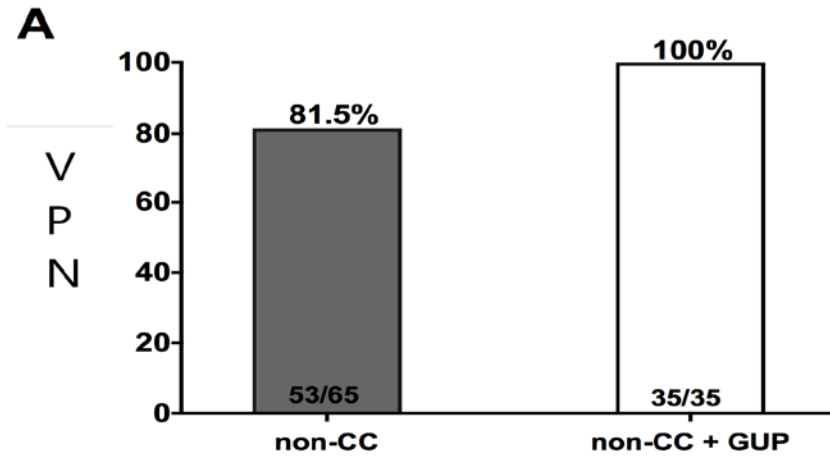


Figura 12. Valores predictivos de las combinaciones de IL28B con los perfiles genéticos. A: VPN de IL28B no-CC más PGD. B: VPN de IL28B CC más PGD. C: VPP de IL28B CC más PGF. D: VPP de IL28B no-CC más PGF. VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo. GUP: genetically unfavorable profile; GFP: genetically favorable profile.

3.- OBJETIVO 3.- EVALUAR LA INFLUENCIA DE LOS RECEPTORES KIRS EN EL DESARROLLO DE TROMBOCITOPENIA SECUNDARIA A LA ADMINISTRACIÓN DE IFN EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIH/VHC.

3.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES INCLUIDOS.

Se incluyeron 58 enfermos coinfectados VIH/VHC naïve que iniciaban tratamiento frente a la hepatitis C con régimen PEG-INF/RBV. Las principales características de estos pacientes se incluyen en la tabla 17. En todos ellos se realizó el genotipado los receptores KIR, y se incluyeron en el estudio aquellos genotipos cuya frecuencia era superior al 90%. Así, se incluyeron en el estudio los genotipos de KIR 2DL2, 2DL5, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4_{FULL}, 2DS5 y 3DS1, y se descartaron para su inclusión en el estudio los genotipos KIR: 2DL1, 2DL3, 2DL4, 2DS4_{DEL}, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 2DP1 y 3DP1. De los 25 pacientes que portaban KIR2DL2, 24 portaban también KIR2DS2.

Ninguno de los genotipos KIR evaluados se asoció con la presencia de cirrosis. Así, KIR2DL2 (ausencia de cirrosis: 36% vs presencia de cirrosis: 42.4%; P=0.787), KIR2DL5 (ausencia: 44.4% vs presencia: 35.4%; P=0.335), KIR2DS1 (ausencia: 47.1% vs presencia: 29.1%; P=0.188), KIR2DS3 (ausencia: 37.5% vs presencia: 44.4%; P=0.773), KIR2DS4_{FULL} (ausencia: 35.3% vs presencia: 41.4%; P=0.772), KIR2DS5 (ausencia: 30.4% vs presencia: 45.7%; P=0.283) y KIR3DS1 (ausencia: 47.1% vs presencia: 29.1%; P=0.188).

Características	Condición	N=58
Edad (años). Media (SD)		43.8 (4.6)
Sexo. n (%)	Hombre	51 (87.9)
	Mujer	7 (12.1)
Criterio de SIDA, n (%)		12 (20.7)
Incluidos en HAART		56 (96.5)
Carga viral VIH. n (%) [†]	Indetectable	56 (96.6)
	Detectable	2 (3.4)
Recuento CD4 ⁺ (cells/mL). Mean (SD)		492 (213)
Cirrosis hepática, n (%)		16 (27.5)
Genotipo IL28B. n (%)	CC	22 (37.9)
	No-CC	36 (62.1)
Genotipo KIR. n (%)		
<i>2DL1</i>		56 (96.5)
<i>2DL2</i>		33 (56.9)
<i>2DL3</i>		54 (93.1)
<i>2DL4</i>		58 (100)
<i>2DL5</i>		31 (53.4)
<i>2DS1</i>		24 (41.3)
<i>2DS2</i>		34 (58.6)
<i>2DS3</i>		18 (31)
<i>2DS4_{FULL}</i>		17 (29.3)
<i>2DS4_{DEL}</i>		54 (93.1)

<i>2DS5</i>	23 (39.6)
<i>3DL1</i>	54 (93.1)
<i>3DL2</i>	58 (100)
<i>3DL3</i>	58 (100)
<i>3DS1</i>	24 (41.4)
<i>2DP1</i>	55 (94.8)
<i>3DP1</i>	58 (100)

Tabla 17. Principales características basales de los pacientes. SD: desviación estándar; n: número de casos; HAART: terapia antirretroviral de alta actividad; SIDA: síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; IU/mL: unidades internacionales/mililitros; cells/mL: células/mililitro; IL28B: interleuquina 28B; KIR: k killer-cell immunoglobulin-like receptors.

*Clasificación en base a las recomendaciones del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) (definiciones de casos de vigilancia revisado para la infección por VIH entre adultos, adolescentes y niños <de 18 años y para la infección por el VIH y el SIDA entre los niños de 18 meses a <13 años- Estados Unidos, 2008. MMWR 2008; 57 (n RR-10): 1-14).

3.2. DESARROLLO DE TROMBOCITOPENIA DURANTE EL SEGUIMIENTO

El recuento de trombocitos basal medio fue de 190,000 (RIQ: 154,500-212,000) cells/mL. A nivel global, el descenso plaquetario medio durante el tratamiento fue:

- Semana 1: 40,000 (RIQ: 19,000-60,000) cells/mL.
- Semana 2: 38,000 (RIQ: 8,000-61,000) cells/mL
- Semana 4: 43,000 (RIQ: 30,000-93,000) cells/mL.
- Semana 8: 64,000 (RIQ: 30,000-93,000) cells/mL
- Semana 12: 60,000 (RIQ: 24,000-93,000) cells/mL

Durante las 12 primeras semanas de tratamiento, 20 (34.4%) pacientes desarrollaron trombocitopenia. De estos, nueve (45%) la desarrollaron en la primera semana, uno (5%) en la semana 2, cuatro (20%) en la semana 4, cinco (25%) en la semana 8 y uno (5%) en la semana 12 del tratamiento. Tres

pacientes (5.8%) necesitaron ajuste de dosis de RBV. De estos, en uno se redujo la dosis a la semana 4 y en los otros pacientes la reducción se hizo en la semana 8.

De los 16 pacientes con cirrosis al inicio del estudio, 9 (56.2%) desarrollaron trombocitopenia, comparado con los 11 (26.1%) de los 42 pacientes no cirróticos ($p=0.048$). Un comportamiento similar se observó en los pacientes diferenciándolos por su genotipo IL28B (CC: 36.4% vs no-CC: 33.3%; $p=0.99$).

3.3. VARIABLES ASOCIADAS AL DESARROLLO DE TROMBOCITOPENIA

De los KIR incluidos en el análisis (figura 13), solamente KIR2DS2 (figura 13d) se relacionó con el desarrollo de plaquetopenia secundaria al tratamiento PEG-INF/RBV. En concreto los pacientes que no portaban el gen KIR2DS2, desarrollaron con mayor frecuencia plaquetopenia, respecto a los que enfermos portadores del mismo (KIR2DS2^{neg}: 13/24 (54.2%); KIR2DS2^{pos}: 7/34, (22.5%); $p=0.012$).

Mediante un ajuste logístico multivariante, la ausencia de KIR2DS2 ($p=0.005$), junto al grado de cirrosis ($p=0.04$), fueron factores independientes asociados al desarrollo de trombocitopenia (tabla 18). Estudiando de forma combinada el grado de cirrosis y el tipaje KIR2DS2 de forma basal, la probabilidad de desarrollar trombocitopenia secundaria al tratamiento es del 87% (7/8) en pacientes cirróticos/KIR2DS2^{neg} ($p=0.027$; tabla 19). La probabilidad de estar desarrollar plaquetopenia fue mayor en pacientes cirróticos con genotipo KIR2DS2^{neg}, que en los enfermos KIR2DS2^{pos} (long rank: $p=0.008$; figura 14). El tiempo de aparición de trombocitopenia en pacientes KIR2DS2^{neg} fue de 6.6 (RIQ: 5.7-9.43) semanas, respecto a las 10.3 (9.05-11.7) semanas en los enfermos KIR2DS2^{neg}. Por ajuste de regresión Cox multivariante, solo la ausencia de KIR2DS2 se asoció con la plaquetopenia secundaria ($p=0.007$; tabla 18).

Modelo de Regresión Logístico				
Parámetro	Condición	B	95% IC	p
Cirrosis	Ausencia	0.457	0.217-0.963	0.04
Carga viral VHC basal	Log ₁₀ IU/mL	1.345	0.367-4.933	0.655
KIR2DS2	Ausencia	6.31	1.747-22.799	0.005

Modelo de Regresión Cox				
Parámetro	Condición	HR	95% IC	p
Cirrosis	Ausencia	0.604	0.364-1.002	0.051
Carga viral VHC basal	Log ₁₀ IU/mL	1.287	0.494-3.351	0.605
KIR2DS2	Ausencia	3.641	1.418-9.348	0.007

Tabla 18. Modelos de Regresión Logístico y Cox multivariantes, para el desarrollo de trombocitopenia secundaria al tratamiento con PEG-INF/RBV. B: coeficiente de ajuste. IC: intervalo de confianza; p: p-valor; log: logaritmo; IU/mL: unidades internacionales/mililitro; HR: hazard ratio.

Cirrosis	KIR2DS2	n (%)	p
Presencia	Presencia	2 (25)	0.021
	Ausencia	7 (87.5)	
Ausencia	Presencia	5 (27.7)	0.597
	Ausencia	6 (37.5)	

Tabla 19. Frecuencia de trombocitopenia secundaria durante tratamiento de 12 semanas con PEG-INF/RBV en pacientes naïve, según estado cirrótico y genotipo KIR. n: número de casos; %: porcentaje.

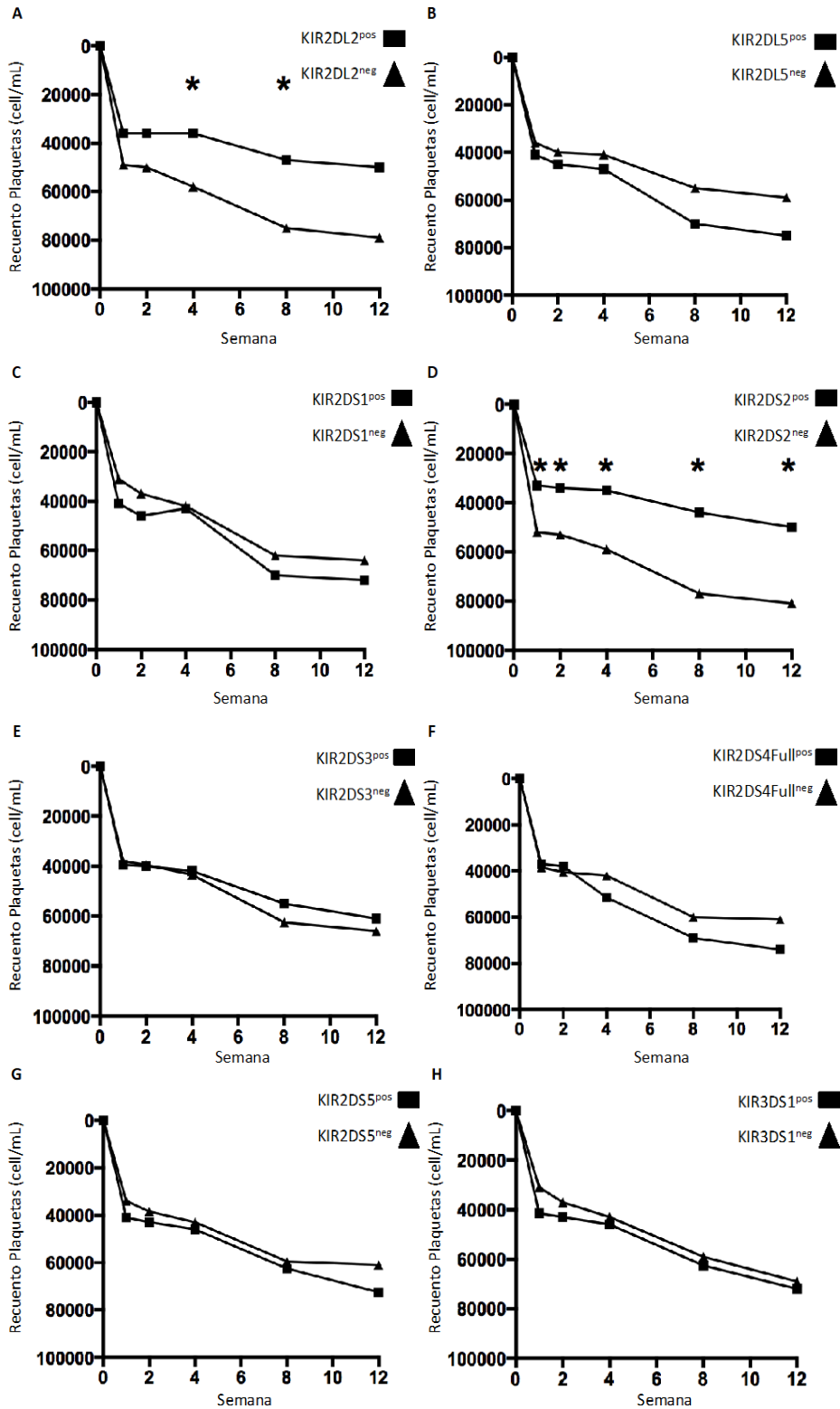


Figura 13. Descenso en el recuento de plaquetas a las semanas 1, 2, 4, 8 y 12 de tratamiento según presencia o ausencia de A: KIR2DL2; B: KIR2DL5; C: KIR2DS1; D: KIR2DS2; E: KIR2DS3; F: KIR2DS4_{Full}; G: KIR2DS5; H: KIR3DS1. *: $p < 0.05$ según test U de Mann-Whitney.

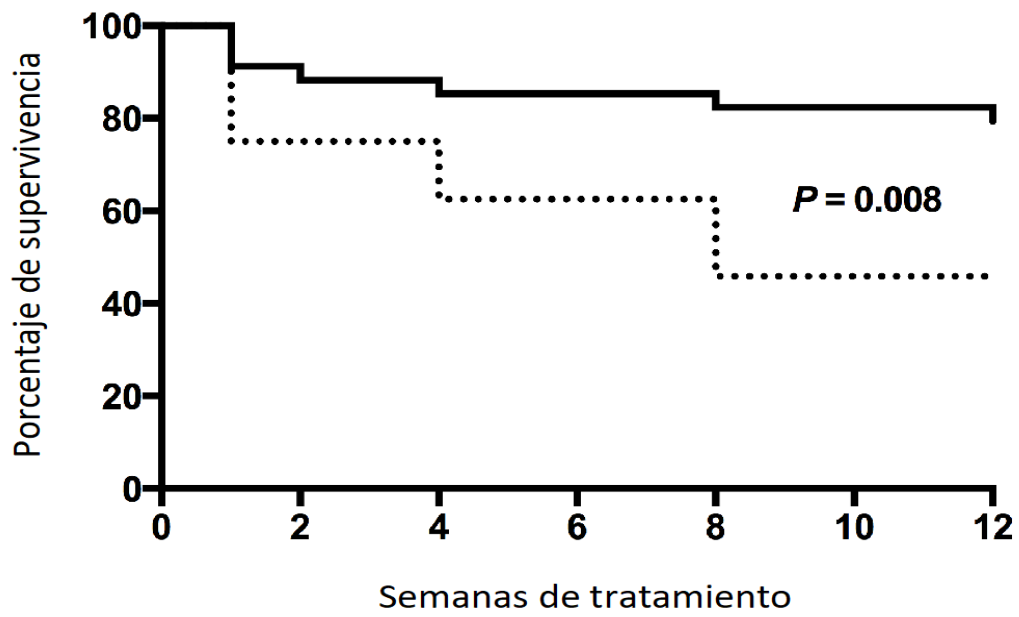


Figura 14. Porcentaje de pacientes libres de plaquetopenia secundaria al tratamiento PEG-IFN/RBV, según genotipo KIR2DS2. p-valor se calcula mediante test long rank.

DISCUSIÓN

Estructuraremos la discusión en los siguientes apartados que corresponden a los 3 objetivos planteados:

1. Valor predictivo de las moléculas HLA en la progresión de la fibrosis hepática en pacientes coinfectados por el VIH y VHC
2. Valor predictivo de las moléculas de HLA y KIRs en el desarrollo de infección crónica del VHC tras una infección aguda en pacientes coinfectados por el VIH.
3. Influencia de los receptores KIRs en el desarrollo de trombocitopenia secundaria a la administración de IFN en pacientes coinfectados por el VIH/VHC.

1. VALOR PREDICTIVO DE LAS MOLÉCULAS HLA EN LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIH Y VHC

La fibrosis hepática es uno de los parámetros más importantes en la evaluación y en el manejo de los pacientes con infección por el VHC. En la época anterior al tratamiento con agentes de acción directa (AAD), el grado de fibrosis era el criterio más importante a la hora de decidir que pacientes debían iniciar tratamiento anti-VHC. También en los primeros años de la era AAD, el grado de fibrosis hepática se utilizó como criterio de priorización para el inicio de tratamiento del VHC [30, 31].

En pacientes con grado bajo de fibrosis hepática (F0-F1), diversos modelos matemáticos en los que se estimaba los años y calidad de vida ganados, demostraron una mayor efectividad del inicio precoz de la terapia [189, 190, 191]. Sin embargo, también han sido comunicados estudios que utilizando una metodología similar han obtenido resultados contrapuestos [192, 193]. Por este motivo con anterioridad a la era AAD y en los primeros años de ésta, las guías de práctica clínica y documentos de consenso [30, 31], recomendaban individualizar la decisión de iniciar tratamiento en pacientes con bajo grado de fibrosis. Uno de los factores a tener en cuenta a la hora de individualizar el inicio de tratamiento en estos pacientes es el riesgo de progresión de la fibrosis y de desarrollo de complicaciones.

En pacientes coinfectados VIH/VHC, la progresión de la fibrosis es más rápida que en pacientes mono infectados por el VHC [194, 195]. Se han realizado diversos estudios con el objetivo de identificar marcadores de progresión de la fibrosis, tanto en enfermos mono infectados por VHC [196, 197, 198, 199, 200, 201, 202] como en pacientes coinfectados por VIH/VHC [195, 203, 204, 205, 206]. Algunos estudios han encontrado una buena correlación entre el riesgo de progresión de la fibrosis y parámetros bioquímicos, como los niveles de transaminasas (especialmente ALT) [198, 200, 201], parámetros hematológicos como el recuento de plaquetas o el tiempo de protrombina [198], o las características histológicas de la biopsia hepática [199]. En pacientes

coinfectados por VIH/VHC, además de las anteriores, se han identificado otras variables asociadas al riesgo y velocidad de progresión de la fibrosis como el uso o no de tratamiento antirretroviral (TAR) [195] y el recuento de linfocitos CD4+. Así, se ha demostrado que, recibir TAR y un recuento de linfocitos CD4+ superior a 350 cells/mL [203, 204] disminuyen el riesgo de progresión de la fibrosis hepática. En cambio, no recibir TAR, bajos recuentos de linfocitos CD4+, niveles de GGT o ALT se asociaron a mayor riesgo de progresión de la fibrosis [203-205]. Sin embargo, todos estos factores no son propios del enfermo, sino de su enfermedad, y pueden variar según el momento de la enfermedad en que son evaluados. Por ello su valor puede ser limitado y la interpretación de los mismos en algunos casos contradictoria [206]. Además, dificultades en la obtención de la muestra (por ejemplo, hemólisis) pueden alterar de forma significativa el resultado de algunos de éstos factores, especialmente los parámetros bioquímicos (transaminasas, GGT o recuentos celulares) [207, 208].

Frente a los marcadores comentados, los marcadores genéticos eliminan los sesgos anteriores. No se ven influenciados por el estado del enfermo o por manipulaciones defectuosas de las muestras, y son invariables durante todo el curso de la enfermedad.

En la evolución de la fibrosis hepática, la respuesta inmunológica y la inflamación juegan un papel crucial [209, 210]. En ambas respuestas, las moléculas HLA desempeñan un rol central, tanto en la presentación de antígenos a células CD8+ [77] como en el control de las células NK [78]. No es de extrañar por ello, que distintos genotipos de moléculas HLA, como HLA-B*18, pueden dar lugar a diferentes perfiles inmunológicos que pueden influir en la progresión de la fibrosis hepática en el contexto de la infección por VHC.

Estas moléculas han sido bien relacionadas con diferentes aspectos de la infección por el VHC. Así diferentes HLAs, como HLA-B*57 [211], HLA-A*1, HLA-B*27, HLA-DRB1*01:01, HLA-DRB1*04:01, se han asociado a aclaramiento del virus tras una infección aguda. Otros se han relacionado con la probabilidad de alcanzar RVS, como los alelos HLA-Bw4 y HLA-C*1 [213] o

el alelo HLA-A*2 [214]. Sin embargo, estudios que evalúen la relación de estas moléculas HLA con el grado de fibrosis o el desarrollo de complicaciones hepáticas son muy escasos y en su mayor parte adolecen de tener un diseño transversal que impide se pueda valorar su papel en la progresión de la fibrosis hepática [215-219]. En este sentido, Patel y colaboradores relacionaron el genotipo HLA-B*18 con el grado de fibrosis hepática de pacientes con infección por VHC [218]. Estos resultados están en consonancia con los hallados en nuestro estudio. Sin embargo, por su diseño transversal, el estudio no pudo evaluar la relación de dicho genotipo con el grado de progresión de la fibrosis hepática.

En nuestro estudio identificamos el genotipo HLA-B*18 como un marcador del riesgo de progresión de la fibrosis hepática, tanto a largo como a corto plazo, en pacientes coinfectados por el VIH/VHC. Así, el 31% de los pacientes con HLA-B*18^{pos} presentaron progresión de la fibrosis desde F0-F2 a F3-F4 durante el primer año de seguimiento. Este hecho no se produjo en ninguno de los pacientes HLA-B*18^{neg}. Del mismo modo al segundo año de seguimiento, el 50% de los pacientes HLA-B*18^{pos} progresaron de F0-F2 a F3-F4, frente al 11% de los pacientes HLA-B*18^{neg}.

En una segunda fase del estudio evaluamos el valor predictivo de progresión de la fibrosis hepática del alelo HLA-B*18 en pacientes con fracaso terapéutico previo. En este estudio observamos que el 81.1% de los enfermos que portaban HLA-B*18^{pos} presentaron progresión de la fibrosis hepática frente al 38.9% de los pacientes HLA-B*18^{neg}.

Ambos estudios adolecen de diversas limitaciones. En primer lugar, el número de pacientes evaluados es relativamente bajo. En segundo lugar, el consumo de alcohol, un factor bien asociado con la progresión de la fibrosis hepática no fue identificado como factor de riesgo en ninguno de los estudios. Esto podría ser debido al pequeño número de pacientes con consumo moderado o significativo de alcohol incluidos en los estudios (n =16 y 15, respectivamente). Tercero, sólo se incluyeron pacientes coinfectados VIH/VHC; por lo tanto, los resultados no pueden ser extrapolados a pacientes

monoinfectados por el VHC. Por último, estos resultados sólo se pueden aplicar a la infección por el VHC y no en hepatitis crónicas u otras patologías que cursan con fibrosis hepática progresiva (por ejemplo, consumo de alcohol, la esteatohepatitis no alcohólica o enfermedad de hígado graso no alcohólica).

Los resultados de ambos estudios sugieren que los pacientes con HLAB*18^{pos} pueden constituir una población con alto riesgo de progresión de la fibrosis hepática a corto y medio plazo. Este hallazgo puede tener aplicabilidad clínica en la decisión del momento de inicio del tratamiento del VHC en pacientes coinfectados por VIH/VHC, especialmente en áreas con recursos limitados en las que el tratamiento del VHC no se recomienda de forma general a todos los pacientes. Nuestros hallazgos sugieren que pacientes con HLAB*18^{pos} deberían ser tratados precozmente, o en su defecto deberían ser evaluados de forma mas estrecha debido a mayor riesgo y velocidad de progresión de la fibrosis hepática.

2. VALOR PREDICTIVO DE LAS MOLÉCULAS DE HLA Y KIRS EN EL DESARROLLO DE INFECCIÓN CRÓNICA DEL VHC TRAS UNA INFECCIÓN AGUDA EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIH.

La asociación de los polimorfismos del gen de la IL28B con el aclaramiento espontáneo del VHC ha sido ampliamente descrita es un hecho que apoya el importante papel que el interferón lambda y la inmunidad innata juegan en la respuesta frente al VHC [27, 220, 221, 22, 223]. La primera evidencia de esta asociación comunicada por Thomas y colaboradores [27], que demostraron que los pacientes con el polimorfismo CC del gen IL28B tenían una mayor tasa de aclaramiento espontáneo tras una infección aguda por VHC (53%) que aquellos con los polimorfismos TT o CT de dicho gen (28%). Del mismo modo, Tillmann y colaboradores [220] encontraron que el 64% de los pacientes con el genotipo CC experimentaban aclaramiento espontáneo del virus, mientras que la tasa de aclaramiento en los genotipos no-CC fue del 19%. De forma similar, Knapp y colaboradores [221] mostraron una mayor frecuencia del genotipo IL28B-CC en pacientes con aclaramiento espontáneo, que en aquellos con infección crónica (69,7% y 43,6%, respectivamente). Por el contrario, el porcentaje de genotipo IL28B no-CC fue menor en pacientes con aclaramiento que en aquellos con hepatitis C crónica (30,3% y 56,4%, respectivamente).

A pesar de la fuerte asociación del genotipo protector IL28B-CC con el control natural de la infección por el VHC, existe un considerable número de pacientes que no son adecuadamente clasificados por este polimorfismo. Así, un 30-40% de los pacientes con el genotipo IL28B-CC desarrollarán una infección crónica por el VHC. En contrapartida, aproximadamente el 20-40% de los pacientes con un genotipo IL28B no-CC experimentarán aclaramiento espontáneo del virus.

En nuestro estudio, el 61,6% de los pacientes con IL28B-CC presentaron aclaramiento espontáneo del VHC mientras que el 38,4% desarrollaron infección crónica. Por esta razón, la valoración aislada de los polimorfismos del gen IL28B, no permite predecir el aclaramiento espontáneo o el desarrollo de

infección crónica tras una infección aguda por VHC, con el adecuado VPP o VPN para que poder ser aplicado a la práctica clínica habitual. Por ello, es necesaria la identificación de otros factores que contribuyan a aumentar la capacidad predictiva de IL28B en este escenario.

Los complejos mayores de histocompatibilidad (MHC) de clase I tienen un papel central en el control y evolución de la mayoría de enfermedades inflamatorias e infecciosas [224, 225, 226]. Existen HLAs específicos que pueden aumentar o disminuir la eliminación de las células infectadas por el VHC [100, 227, 228]. Se han descrito dos alelos HLA-B, HLA-B*27 y HLA-B*57, asociados con el aclaramiento espontáneo del VHC. En primer lugar, dos estudios [212, 229] mostraron la relación de HLA-B*27 con el aclaramiento del VHC. En otro estudio, sin embargo, esta asociación se limitó sólo a los pacientes infectados con el VHC-genotipo 1 [230]. En segundo lugar, varios estudios han comprobado la asociación de HLA-B*57 el aclaramiento espontáneo del VHC [211, 231], aunque esta asociación no ha sido confirmada por otros estudios [232]. También se ha demostrado que los alelos HLA-C afectan la evolución de la infección aguda por VHC. Así dos estudios comprobaron una asociación entre HLA-C*05 y el desarrollo de cronicidad. [231, 233].

En nuestro estudio, comprobamos que la presencia de HLA-B*44 y HLA-C*12 son factores independientes asociados con el desarrollo de infección crónica por VHC, con una frecuencia de desarrollo de infección crónica en el 77,4% de pacientes con HLA-B*44 y en el 85,7% en los portadores de HLA-C*12.

Diversos estudios han comprobado también la relación genes KIR y la evolución de la infección aguda por VHC. Así, Dring y colaboradores demostraron que la frecuencia del receptor KIR2DS3 fue significativamente mayor en pacientes en los que cronificaba la infección por VHC [111]. Del mismo modo, De Re y colaboradores, también comprobaron que KIR2DS3 fue el principal gen relacionado con el desarrollo de cronicidad [234]. En un estudio en el que se evaluó el riesgo de transmisión vertical del VHC la

presencia del gen KIR3DS1 se asoció con transmisión de la infección por VHC. De modo que los hijos de madres portadoras de KIR3DS1 tenían un mayor riesgo de infección crónica por VHC que los hijos de madres sin este receptor (75% y 19%, respectivamente) [235]. Del mismo modo, en nuestro estudio, se comprobó la presencia del receptor KIR3DS1 en el 86,2% de los pacientes con infección crónica por el VHC.

La combinación de marcadores inmunológicos para la predicción del aclaramiento espontáneo del VHC ha sido escasamente evaluada [212, 236, 237, 238, 239]. Mangia y colaboradores observaron que el genotipo IL28B-CC en combinación con el HLA-DBQ1*0301 aumentaba la precisión de la predicción del aclaramiento del VHC de un 63% al 69% [236]. Del mismo modo, Duggal y colaboradores observaron que la misma combinación (HLA-DQB1*0301 y IL28B-CC) aumentaba el valor predictivo de la IL28B sobre el aclaramiento del VHC del 45% al 60% [237]. Por el contrario, el estudio de Huang y colaboradores [238] comprobó que los alelos HLA-A*02 y HLA-DRB1*1 no mejoraba significativamente el VPP para aclaramiento espontáneo del VHC del IL28B-CC (57,0% a 57,8%).

En pacientes con infección aguda por VHC, puede resultar problemática la decisión de iniciar el tratamiento del VHC o retrasar el mismo hasta comprobar que no se ha producido el aclaramiento de la infección. Esta última opción permitiría evitar la instauración de un tratamiento potencialmente innecesario [239]. En nuestro estudio, demostramos que la combinación de tres marcadores genéticos, HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1, mejora el valor predictivo negativo de los polimorfismos del gen de la IL28B para el aclaramiento espontáneo del VHC. En consecuencia, la consideración del polimorfismo no-CC de la IL28B junto con alguno o varios de los los siguientes alelos HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1, identifica a una población de pacientes en los que la probabilidad cronificación tras una infección aguda por VHC es muy alta.

En nuestro estudio proponemos el concepto Perfil Genético Desfavorable (PGD) para aclaramiento espontáneo del VHC, para aquellos pacientes que

son portadores de al menos uno de dichos alelos (HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1). Por el contrario, proponemos el concepto de Perfil Genético Favorable (PGF) para aclaramiento espontáneo del VHC, para aquellos pacientes que no son portadores de ninguno de dichos alelos (HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1). En nuestro estudio, ninguno de los pacientes con IL28B no-CC y PGD (VPN: 100%) presentó aclaramiento espontáneo del VHC. Por otra parte, el VPP para el aclaramiento espontáneo del VHC en pacientes portadores de IL28B aumento significativamente (del 61% al 74,1%) cuando se valoró de forma combinada con la ausencia de HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1, es decir con un PGF. Al contrario, la presencia de PGD reduce significativamente el VPP para aclaramiento espontáneo del VHC de IL28B-CC (del 61% al 30.4%). La utilización de una bioherramienta que incluyera el genotipo de IL28B y la presencia o ausencia de los genotipos HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1 podrían mejorar significativamente la capacidad predictiva de la IL28B para determinar la probabilidad de que un paciente con infección aguda por VHC desarrolle cronicidad o alcance el aclaramiento espontáneo del virus. En pacientes con alta probabilidad de cronificación (IL28 no-CC y PGD) sería innecesario esperar los 6 meses necesarios para diagnosticar una infección crónica por VHC y podría valorarse el inicio inmediato del tratamiento. Por el contrario, en pacientes con alta probabilidad de aclaramiento espontáneo favorables (IL28B CC genotipo y PGF) podría considerarse diferir el tratamiento hasta confirmar o no el desarrollo de cronificación.

Nuestro estudio tiene diversas limitaciones que deben ser tenidas en cuenta al valorar sus resultados. En primer lugar, este estudio incluyó sólo pacientes coinfectados con VIH/VHC por lo que los resultados no deben extrapolarse a pacientes mono infectados por el VHC. En segundo lugar, el estudio no contempla toda la variedad de moléculas HLA (HLA-A y todos los genotipos HLA-II). Por lo tanto, no se sabe el papel que pueden tener el resto de moléculas HLA. En tercer lugar, este estudio incluyó un número relativamente pequeño de pacientes. Por lo tanto, es posible que no tengan suficiente poder estadístico para detectar asociaciones con otros alelos HLA y genotipos KIR. Por último, aunque los resultados de nuestro estudio podrían tener aplicabilidad

en la práctica clínica habitual, sus hallazgos deben ser confirmados en nuevos estudios que incluyan un mayor número de pacientes antes de ser trasladados a la clínica.

3. INFLUENCIA DE LOS RECEPTORES KIRS EN EL DESARROLLO DE TROMBOCITOPENIA SECUNDARIA A LA ADMINISTRACIÓN DE IFN EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIH/VHC.

El mecanismo exacto por el que se produce la trombocitopenia durante el tratamiento con interferón no es bien conocido. En el contexto de la infección por el VHC, era en la era pre-AAD una complicación común y multifactorial [240, 241]. Varios estudios han propuesto diferentes mecanismos responsables de la trombocitopenia secundaria a PEG-INF como la inhibición de los megacariocitos, la generación de una reacción autoinmune o el secuestro de plaquetas [240]. También aspectos derivados de la propia infección por el VHC pueden estar implicados en la producción de trombocitopenia. Así, en pacientes cirróticos se observa mayor incidencia de plaquetopenia. La disfunción del hepatocito por el desarrollo de fibrosis disminuye la producción de trombopoyetina, lo que disminuye la síntesis en médula ósea o el hiperesplenismo, secundario a la cirrosis, son procesos que influyen en la plaquetopenia [240, 241].

En nuestro estudio hemos observado que la ausencia del marcador genético KIR2DS2, está fuertemente asociada con el desarrollo de la trombocitopenia durante el tratamiento con PEG-INF. La actividad citotóxica de las células NK tiene un complejo sistema de control. Su actividad se ve modulada por la interacción de los receptores del linfocito NK (KIR, receptores de citotoxicidad natural o los receptores tipo lecitina) con los ligandos naturales (moléculas HLA principalmente) en las células inmunológicas, tales como monocitos o células dendríticas, y células no inmunológicas, como las plaquetas [242]. Aunque la interacción del linfocito NK con las plaquetas no ha sido bien estudiada, varios estudios realizados tanto *in vitro* e *in vivo* (modelos en ratones) han demostrado la interacción entre células NK y plaquetas. Esta comunicación plaquetas-linfocito NK tiene un papel crucial en la progresión y pronóstico de varios tumores ya que permite el desarrollo de metástasis favoreciendo el escape de la célula tumoral circulante del ataque del linfocito NK [243, 244,

245, 246]. La comunicación entre las plaquetas y las células NK puede ser directa, por unión ligando-receptor, o indirecta, por la liberación de quimiocinas [243]. En la interacción directa, la activación de las plaquetas al unirse a la célula tumoral circulante, exponen en su superficie una serie de ligandos, como son las moléculas HLA, que interactúan con los receptores de células NK, en concreto las moléculas KIR, modulando la actividad tanto activadora e inhibidora del linfocito NK [246, 247].

Está bien documentado que el tratamiento basado en interferón disminuye el recuento de plaquetas [248, 249]. Los resultados de nuestro estudio sugieren que existe una interacción entre los receptores plaquetarios y los receptores KIR de las células NK que se activaría al añadir interferón exógeno como parte del tratamiento del VHC. Otros estudios también han encontrado una fuerte relación entre los KIR, incluyendo KIR2DS2, y el desarrollo de trombocitopenia [250, 251].

La identificación de factores predictivos que permitan identificar subgrupos de pacientes con alta o baja probabilidad de desarrollar trombocitopenia pueden servir para optimizar el tratamiento de enfermedades en cuyo tratamiento es necesario interferon. Así, en primer lugar, en pacientes infectados por el VHC, el principal factor asociado al desarrollo de trombocitopenia es la propia fibrosis hepática. Aquellos pacientes con cirrosis hepática son una población con alto riesgo de desarrollar trombocitopenia secundaria al tratamiento con interferón [252]. En nuestro estudio, la presencia de cirrosis hepática resultó un factor independiente asociado con trombocitopenia. Sin embargo, el 55% de los enfermos que desarrollaron trombocitopenia no eran cirróticos. La utilización de la cirrosis como único factor predictivo del desarrollo trombocitopenia secundaria al tratamiento con interferón no clasificaría correctamente a la mayoría de los pacientes en riesgo de sufrir dicho efecto adverso. Otro factor asociado al desarrollo de trombocitopenia secundaria al tratamiento con interferón es un recuento basal de plaquetas inferior a 150,000 cells/mL [253, 254, 255]. Hernos y colaboradores [253] observaron que los pacientes con recuentos basales

inferiores a 50,000 presentaban mayor riesgo de desarrollar plaquetopenia grave, definida como cifras de plaquetas inferior a de 25,000 cells/mL durante las primeras 12 semanas de tratamiento. Del mismo modo Lin y colaboradores [254] observaron que los pacientes con recuentos basales de plaquetas inferior a 100,000 cells/mL presentaban mayor probabilidad de desarrollar plaquetopenia grave (<25,000 cells/mL) durante las primeras 12 semanas de tratamiento. Por su parte, Mira y colaboradores [255], encuentran como factor independiente de desarrollar trombocitopenia secundaria un conteo basal de trombocitos <175,000 cells/mL. En nuestro estudio, la utilidad del recuento de plaquetas basal como factor predictivo del desarrollo de trombopenia fue limitada, ya que el 34.4% de los pacientes que desarrollaron trombocitopenia, presentaban recuento basal de plaquetas basal mayor de 130,000 cells/mL.

Por otro lado, se ha observado que la velocidad de disminución de plaquetas durante las primeras semanas después de iniciar el tratamiento con interferón también es un factor predictivo del desarrollo de trombocitopenia [255]. Así, un descenso >30% del recuento de trombocitos en las dos primeras semanas del tratamiento indicaba una alta probabilidad de sufrir trombocitopenia secundaria al tratamiento con interferón. En nuestro estudio, el 50% de los pacientes que desarrollaron plaquetopenia no mostraron un descenso significativo de plaquetas en las 2 primeras de tratamiento, por lo que tampoco resultó útil como marcador predictivo. Además en la práctica clínica se requieren marcadores que permitan conocer el riesgo de desarrollo de un efecto adverso (como la trombocitopenia) antes del inicio del tratamiento.

En nuestro estudio hemos identificado un factor genético, el KIR2DS2, capaz de predecir el desarrollo de la trombocitopenia secundaria a la administración de interferón en pacientes con recuentos plaquetarios basales normales. Además, la combinación de este nuevo marcador con la presencia de cirrosis hepática, permitiría aumentar el valor predictivo para el desarrollo de trombocitopenia al 87,5%. Nuestro hallazgo puede ayudar al diseño de una bioherramienta predictiva que identificaría a pacientes con alta probabilidad de

desarrollar trombocitopenia secundaria a interferón, que podría ser de utilidad clínica.

Nuestro estudio tiene diversas limitaciones que deben ser tenidas en cuenta al valorar sus resultados. En primer lugar, el estudio fue diseñado como un trabajo piloto para evaluar varios marcadores relacionados con las células NK y su papel en el desarrollo de trombocitopenia secundaria a la administración de PEG-INF para el tratamiento enfermos coinfectados VIH/VHC. Por lo tanto, el número de pacientes incluidos en el estudio es relativamente bajo y no tiene suficiente poder estadístico para identificar otros marcadores potenciales relacionados con el desarrollo de trombocitopenia. En segundo lugar, el estudio de los datos recogidos muestra asociación entre KIR2DS2 y algunas variables relacionadas con el desarrollo de trombocitopenia (especialmente el descenso prematuro de plaquetas), pero no mostraron significación estadística. El aumento del tamaño muestral puede resolver este hecho. Por último, en nuestro estudio se evaluó el desarrollo de trombocitopenia secundaria en el contexto del paciente coinfectado VIH/VHC. Así, los resultados no pueden ser extrapolados a otras situaciones clínica dónde el interferón es parte de la terapia.

CONCLUSIONES

- 1.- Los pacientes coinfectados VIH/VHC, naïve o que no ha respondido al tratamiento con PEG-INF/RBV, que son portadores de alelo HLA-B*18 presentan alto riesgo de progresión del grado de fibrosis hepática.
- 2.- Los genotipos HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1, son marcadores independientes del desarrollo de cronicidad tras una infección aguda por VHC en pacientes con VIH.
- 3.- La valoración combinada de los polimorfismos del gen de la IL28B y genotipos HLA-B*44, HLA-C*12 y KIR3DS1 es una bioherramienta de muy alto valor predictivo sobre aclaramiento espontáneo del VHC tras una infección aguda
- 4.- Los pacientes coinfectados VIH/VHC no portadores del gen KIR2DS2 presentan alto riesgo de desarrollar trombocitopenia durante el tratamiento con PEG-INF/RBV.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Choo QI, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989; 244: 359-62.
- (2) Hepatitis C Viruses: Genomes and Molecular Biology [Internet]. Horizon Bioscience 2006. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1630/> .
- (3) Rivero Juárez A, Pérez Camacho I, Camacho Espejo A. Estructura genómica y ciclo biológico del virus de la hepatitis C. En: Rivero A, Pineda JA. Coinfección por VIH y VHC. 1ª Edición. Tafics SL. 2012 p 19-26.
- (4) Dubuisson J, Cosset FL. Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle. An update. *J Hepatol.* 2014; 61: S3-13.
- (5) Tang H, Grisé H. Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis *Clinical Science.* 2009; 117: 49–65.
- (6) Ashfaq AU, Javed T, Rehman S, Nawaz Z, Riazuddin S. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. *Virology* 2011; 8:161.
- (7) Popescu CI, Riva L, Vlaicu O, Farhat R, Rouillé Y, Dubuisson J. Hepatitis C Virus Life Cycle and Lipid Metabolism. *Biology* 2014; 3: 892-921
- (8) Ploss A, Dubuisson J. New advances in the molecular biology of hepatitis C virus infection: towards the identification of new treatment targets. *Gut.* 2012. Suppl 1: i25-i35.
- (9) Ye J (2007) Reliance of host cholesterol metabolic pathways for the life cycle of hepatitis C virus. *PLoS Pathog* 3(8): e108.
- (10) No authors listed. Hepatitis C: global ambition, national realities *Lancet.* 2016;387(10032):1970.
- (11) Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61 (1 Suppl): S45-57.
- (12) Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific

- antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology* 2013; 57:1333-42.
- (13) GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015; 385: 117-71.
 - (14) World Health Organization. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis c infection. Update Version. 2016.
 - (15) Rockstroh JK, Mocroft A, Soriano V, et al. Influence of hepatitis C virus infection on HIV-1 disease progression and response to highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2005; 192: 992-1002.
 - (16) Platt L, Easterbrook P, Gower E, McDonald B, Sabin K, McGowan C et al. Prevalence and burden of HCV co-infection in people living with HIV: a global systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2016 Feb 24. pii: S1473-3099(15)00485-5.
 - (17) Peters L, Mocroft A, Lundgren J, et al. HIV and hepatitis C co-infection in Europe, Israel and Argentina: a EuroSIDA perspective. *BMC Infect Dis* 2014; 14: S13.
 - (18) Berenguer J, Rivero A, Jarrín I, Núñez MJ, Vivancos MJ, Crespo M et al. Human Immunodeficiency Virus/Hepatitis C Virus Coinfection in Spain: Prevalence and Patient Characteristics. *Open Forum Infect Dis.* 2016; 3: 59.
 - (19) Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG et al. Global Distribution and Prevalence of Hepatitis C Virus Genotypes. *Hepatology* 2015; 61: 77-87.
 - (20) Téllez Pérez F, Ríos Villegas MJ, Omar Mohamed-Balghata M. Epidemiología de la Hepatitis C en el Paciente Infectado por el VIH. En: Rivero A, Pineda JA. *Coinfección por VIH y VHC.* 1ª Edición. Tafics SL. 2012 p 22-36.
 - (21) Perz JF, Armstrong GL, Farrington LA, Hutin YJ, Bell BP. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide. *J Hepatol* 2006; 45: 529-38.
 - (22) Maheshwari A, Ray S, Thuluvath PJ. Acute hepatitis C. *Lancet.* 2008; 372:

321-32.

- (23) Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol.* 2014; 61: S58-S68.
- (24) Lee J, Conniff J, Kraus C, Schragger S. A Brief Clinical Update on Hepatitis C - The Essentials. *WNIJ.* 2015; 114: 263-9.
- (25) Wang CC, Krantz E, Klarquist J, Krows M, McBride L, Scott EP, et al. Acute hepatitis C in a contemporary US cohort: modes of acquisition and factors influencing viral clearance. *J Infect Dis* 2007; 196: 1474-82.
- (26) Grebely J, Page K, Sacks-Davis R, van der Loeff MS, Rice TM, Bruneau J, et al. The effects of female sex, viral genotype, and IL28B genotype on spontaneous clearance of acute hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2014; 59: 109-20.
- (27) Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009; 461: 798-801.
- (28) Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461: 399-401.
- (29) Suppiah V, Gaudieri S, Armstrong NJ, O'Connor KS, Berg T, Weltman M et al. IL28B, HLA-C, and KIR Variants Additively Predict Response to Therapy in Chronic Hepatitis C Virus Infection in a European Cohort: A Cross-Sectional Study. *PLoS Med* 2011; 8: e1001092. doi:10.1371/journal.pmed.1001092.
- (30) Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. AASLD; 2016 [consulta el 28 de agosto de 2016]. Disponible en: http://hcvguidelines.org/sites/default/files/HCV-Guidance_July_2016_b.pdf.
- (31) European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol.* 2017; 66: 153-94.
- (32) Adinolfi LE, Rinaldi L, Guerrera B, Restivo L, Marrone A, Giordano M et al. NAFLD and NASH in HCV Infection: Prevalence and Significance in Hepatic and Extrahepatic Manifestations. *Int J Mol Sci.* 2016; 17. pii: E803.
- (33) Trautwein C, Friedman SL, Schuppan D, Pinzani M. Hepatic fibrosis:

- Concept to treatment. *J Hepatol.* 2015; 62: S15-24.
- (34) Datz C, Cramp M, Haas T, Dietze O, Nitschko H, Froesner G, et al. The natural course of hepatitis C virus infection 18 years after an epidemic outbreak of non-A, non-B hepatitis in a plasmapheresis centre. *Gut* 1999;44: 563-7.
- (35) Yi Q, Wang PP, Krahn M. Improving the accuracy of long-term prognostic estimates in hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2004;11: 166-74.
- (36) Poynard T, Moussalli J, Munteanu M, Thabut D, Lebray P, Rudler M, et al. Slow regression of liver fibrosis presumed by repeated biomarkers after virological cure in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2013;59: 675-83.
- (37) Martini S, Sacco M, Strona S, Arese D, Tandoi F, Dell Olio D, et al. Impact of Viral Eradication with Sofosbuvir-based Therapy on the Outcome of Post-Transplant Hepatitis C with Severe Fibrosis. *Liver Int.* 2016. doi: 10.1111/liv.13193.
- (38) Dumortier J, Leroy V, Duvoux C, de Ledinghen V, Francoz C, Housset-Deby P et al. Sofosbuvir-based treatment of hepatitis C with severe fibrosis (METAVIR F3/F4) after liver transplantation: Results from the CO23 ANRS CUPILT study. *Liver Transpl.* 2016. doi: 10.1002/lt.24505.
- (39) Lingala S, Ghany MG. Natural History of Hepatitis C. *Gastroenterol Clin North Am.* 2015; 44:717-34.
- (40) Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Hepatitis C infection and the increasing incidence of hepatocellular carcinoma: a population-based study. *Gastroenterology.* 2004; 127: 1372-80.
- (41) Hoshida Y, Fuchs BC, Bardeesy N, Baumert TF, Chung RT. Pathogenesis and prevention of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2014; 61(1 Suppl): S79-90.
- (42) Goossens N, Hoshida Y. Hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Clin Mol Hepatol.* 2015; 21:105-14.
- (43) Wallace MC, Friedman SL. Hepatic Fibrosis and the Microenvironment: Fertile Soil for Hepatocellular Carcinoma Development. *Gene Expr.* 2014; 16:77-84.

- (44) Chiesa R, Donato F, Tagger A, Favret M, Ribero ML, Nardi G, et al. Etiology of hepatocellular carcinoma in Italian patients with and without cirrhosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9: 213-6.
- (45) Merchante N, Rivero-Juárez A, Téllez F, Merino D, José Ríos-Villegas M, Márquez-Solero M et al. Liver stiffness predicts clinical outcome in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus-coinfected patients with compensated liver cirrhosis. *Hepatology*. 2012; 56: 228-38.
- (46) Merchante N, Téllez F, Rivero-Juárez A, Ríos-Villegas MJ, Merino D, Márquez-Solero M et al. Progression of liver stiffness predicts clinical events in HIV/HCV-coinfected patients with compensated cirrhosis. *BMC Infect Dis*. 2015; 15: 557.
- (47) Singh S, Fujii LL, Murad MH, Wang Z, Asrani SK, Ehsan RL et al. Liver stiffness is associated with risk of decompensation, liver cancer, and death in patients with chronic liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013; 11: 1573-89.
- (48) Karlas T, Benckert J, Beer S, Keim V, Berg T, Wiegand J. Letter: can persisting liver stiffness indicate increased risk of HCC, after successful anti-HCV therapy? *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 43: 543-4.
- (49) Kim AY, Schulze zur Wiesch J, Kuntzen T, et al. Impaired hepatitis C virus-specific T cell responses and recurrent hepatitis C virus in HIV coinfection. *PLoS Med* 2006; 3: e492.
- (50) Harcourt G, Gomperts E, Donfield S, Klenerman P. Diminished frequency of hepatitis C virus specific interferon gamma secreting CD4⁺ T cells in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfected patients. *Gut* 2006; 55: 1484-7.
- (51) Kim AY, Lauer GM, Ouchi K, et al. The magnitude and breadth of hepatitis C virus-specific CD8⁺ T cells depend on absolute CD4⁺ T-cell count in individuals coinfected with HIV-1. *Blood* 2005; 105: 1170-8.
- (52) Kokordelis P, Kramer B, Korner C, et al. An effective interferon gamma-mediated inhibition of hepatitis C virus replication by natural killer cells is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C in human immunodeficiency virus positive patients. *Hepatology* 2014; 59: 814-

27.

- (53) Ingiliz P, Rockstroh JK. Natural history of liver disease and effect of hepatitis C virus on HIV disease progression. *Curr Opin HIV AIDS*. 2015, 10: 303-8.
- (54) Eyster ME, Fried MW, Di Bisceglie AM, Goedert JJ. Increasing hepatitis C virus RNA levels in hemophiliacs: relationship to human immunodeficiency virus infection and liver disease. Multicenter Hemophilia Cohort Study. *Blood* 1994; 84: 1020-3.
- (55) Gadalla SM, Preiss LR, Eyster ME, Goedert JJ. Correlates of high hepatitis C virus RNA load in a cohort of HIV-negative and HIV-positive individuals with haemophilia. *J Viral Hepat* 2011; 18: 161-9.
- (56) Macías J, Berenguer J, Japón MA, Girón-González JA, Rivero A et al. Hepatic steatosis and steatohepatitis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus-coinfected patients. *Hepatology*. 2012; 56: 1261-70
- (57) Graham CS, Baden LR, Yu E, Mrus JM, Carnie J, Heeren T et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 562-9.
- (58) Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfected patients. *Hepatology* 1999; 30: 1054-8.
- (59) Sulkowski MS, Mehta SH, Torbenson MS. Rapid fibrosis progression among HIV/hepatitis C virus-co-infected adults. *AIDS* 2007; 21: 2209-16.
- (60) Soto B, Sánchez-Quijano A, Rodrigo L, del Olmo JA, García-Bengoechea M, Hernández-Quero J et al. Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history of chronic parenterally- acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol* 1997; 26:1–5.
- (61) Macias J, Berenguer J, Japon MA, Girón JA, Rivero A et al. Fast fibrosis progression between repeated liver biopsies in patients coinfected with human immunodeficiency virus/hepatitis C virus. *Hepatology* 2009; 50: 1056-63.
- (62) Konerman MA, Mehta SH, Sutcliffe CG, Vu T, Higgins Y et al. Fibrosis progression in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfected adults: prospective analysis of 435 liver biopsy pairs. *Hepatology* 2014; 59:

767-75.

- (63) Lo Re III V, Kallan MJ, Tate JP, Localio AR, Lim JK, Goetz MB et al. Hepatic decompensation in antiretroviral-treated HIV/Hepatitis C-coinfected compared With Hepatitis C-monoinfected patients: a cohort study. *Ann Intern Med.* 2014; 160: 369-79.
- (64) Pineda JA, Romero-Gómez M, Díaz-García F, Girón-González JA, Montero JL et al. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology.* 2005; 41: 779-89.
- (65) Macías J, Mancebo M, Márquez M, Merino D, Téllez F et al. Low risk of liver decompensation among human immunodeficiency virus/hepatitis C virus-coinfected patients with mild fibrosis in the short term. *Hepatology.* 2015; 61: 1503-11.
- (66) Berenguer J, Alvarez-Pellicer J, Martín PM, López-Aldeguer J, Von Wichmann MA, Quereda C et al Sustained virological response to interferon plus ribavirin reduces liver-related complications and mortality in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *Hepatology* 2009; 50: 407-13.
- (67) Limketkai BN, Mehta SH, Sutcliffe CG, Higgins YM, Torbenson MS, Brinkley SC et al. Relationship of Liver Disease Stage and Antiviral Therapy With Liver-Related Events and Death in Adults Coinfected With HIV/ HCV. *JAMA.* 2012; 308: 370-8.
- (68) Mira JA, Rivero-Juárez A, López-Cortés LF, Girón-González JA, Téllez F, de los Santos-Gil I et al. Benefits from sustained virologic response to pegylated interferon plus ribavirin in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients with compensated cirrhosis. *Clin Infect Dis.* 2013; 56:1646-53.
- (69) Price JC, Ma Y, Scherzer R, Korn N, Tillinghast K, Peters MG et al. Human immunodeficiency virus-infected and uninfected adults with non-genotype 3 hepatitis C virus have less hepatic steatosis than adults with neither infection. *Hepatology.* 2016. doi: 10.1002/hep.28968
- (70) Soriano V, Berenguer J. Extrahepatic comorbidities associated with hepatitis C virus in HIV-infected patients. *Curr Opin HIV AIDS* 2015, 10: 309-15.
- (71) Berenguer J, Rodríguez-Castellano E, Carrero A, Von Wichmann MA,

- Montero M, Galindo MJ et al. Eradication of HCV and non-liver-related non-AIDS-related events in HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2017. doi: 10.1002/hep.29071.
- (72) Hull MW, Rollet K, Moodie EE, Walmsley S, Cox J, Potter M et al. Insulin resistance is associated with progression to hepatic fibrosis in a cohort of HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *AIDS*. 2012; 26: 1789-94.
- (73) Merchante N, Macías J, Ramayo E, Vergara S, García-García JA, Mira JA et al. Insulin resistance is not associated with liver fibrosis progression in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Viral Hepat*. 2006; 13: 449-56.
- (74) Halfon P, Pénaranda G, Carrat F, Bedossa P, Bourlière M, Ouzan D et al. Influence of insulin resistance on hepatic fibrosis and steatosis in hepatitis C virus (HCV) mono-infected compared with HIV-HCV co-infected patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009; 30: 61-70.
- (75) Veenhuis RT, Astemborski J, Chattergoon MA, Greenwood P, Jarosinski M, Moore RD et al. Systemic Elevation of Proinflammatory Interleukin 18 in HIV/HCV Coinfection versus HIV or HCV Mono-infection. *Clin Infect Dis*. 2016 pii: ciw771.
- (76) Fernández-Montero JV, Barreiro P, de Mendoza C, Labarga P, Soriano V. Hepatitis C virus coinfection independently increases the risk of cardiovascular disease in HIV-positive patients. *J Viral Hepat*. 2016;23: 47-52.
- (77) Aderem A, Atkinson J, Colonna M, Cyster J, Kearny J, Lainer L et al. Inmunidad innata. En: Murphy K, Travers P, Walport M. *Inmunobiología de Jennaway*. 7a ed. Méjico: McGraw-Hill Interperamericana. 2009. P. 39-110.
- (78) Jost S, Atfeld M. Control of human viral infections by Natural Killer Cells. *Annu. Rev. Immunol*. 2013. 31:163-94.
- (79) Meyer D, Thomson G. How selection shapes variation of the human major histocompatibility complex: a review. *Ann. Hum. Genet*. 2001; 65: 1-26.
- (80) Johnson AH, Hurley CK, Hartzman RJ, Wade JA. Antígeno leucocitario humano: complejo mayor de histocompatibilidad humano. En: Henry JB. *El laboratorio en el diagnóstico clínico*. Marban 2005. p. 927-49.
- (81) Parham P. Immunogenetics of killer-cell immunoglobulin-like receptors.

- Tissue Antigens. 2003; 62: 194-200.
- (82) Trowsdale J. Genetic and functional relationships between MHC and NK receptor genes. *Immunity*. 2001; 15: 363-374.
 - (83) Vilches C, Parham P. KIR: Diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptative immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 2002; 20: 217-51.
 - (84) Campbell KS, Purdy AK. Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: lessons from polymorphisms, evolution, crystal structures and mutations. *Immunology*. 2011; 132: 315-25.
 - (85) Rajalingam R. Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptors Influence the Innate and Adaptive Immune Responses. *Iran. J. Immunol.* 2007; 4: 61-78.
 - (86) Cheent K, Khakoo SI. Natural killer cells: integrating diversity with function. *Immunology*. 2009; 126: 449-57.
 - (87) Uhsberg M, Valiante NM, Shum BP, Shilling HG, Lienert-Weidenbach K, Corliss B et al. Human Diversity in Killer Cell Inhibitory Receptor Genes. *Immunity*. 1997; 7: 753-63.
 - (88) Jamil KM, Khakoo SI. KIR/HLA Interactions and Pathogen Immunity. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011. Article ID 298348.
 - (89) Lu Z, Zhang B, Chen S. Association of KIR genotypes and haplotypes with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection in Chinese Han population. *Cellular & Molecular Immunology*. 2008; 5: 457-63.
 - (90) Cheent K, Khakoo SI. Natural killer cells: integrating diversity with function. *Immunology*. 2009; 126: 449-57.
 - (91) Hiby SE, Apps R, Sharkey AM. Maternal activating KIRs protect against human reproductive failure mediated by fetal HLA-C2. *Journal of Clinical Investigation*. 2010. 120; 4102-10.
 - (92) Biassoni R, Ugolotti E, de Maria A. NK Cell Receptors and Their Interactions with MHC. *Curr. Pharm. Des.* 2009; 15: 3301-10.
 - (93) Winter CC, Gumperz JE, Parham P, Long EO, Wagtmann N. Direct binding and functional transfer of NK cell inhibitory receptors reveal novel patterns of HLA-C allotype recognition. *J. Immunol.* 1998; 161: 571-7.
 - (94) Faridi RM, Agrawal S. Killer immunoglobulin-like receptors (KIRs) and HLA-C allorecognition patterns implicative of dominant activation of natural killer

- cells contribute to recurrent miscarriages. *Hum. Reprod.* 2011; 26: 491-7.
- (95) Stewart CA, Laugier-Anfossi F, Vély F. Recognition of peptide-MHC class I complexes by activating killer immunoglobulin-like receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102: 13224-9.
- (96) Amedi B, Urbani S, Cazaly A, Fisicaro P, Zerbini A, Ahmed P et al. Activation of Natural Killer Cells During Acute Infection With Hepatitis C Virus. *Gastroenterology.* 2010; 138: 1536-45.
- (97) Vidal-Castiñeira JR, López-Vázquez A, Díaz-Peña R, Alonso-Arias R, Martínez- Borra J, et al. Effect of killer immunoglobulin-like receptors in the response to combined treatment in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J. Virol.* 2010; 84: 475-81.
- (98) Knapp S, Warshow U, Hegazy D, Brackenbury L, Guha IN, et al. Consistent beneficial effects of killer cell immunoglobulin-like receptor 2DL3 and group 1 human leukocyte antigen-C following exposure to hepatitis C virus. *Hepatology* 2010; 51: 1168-75.
- (99) Khakoo SI, Carrington M. KIR and disease: a model system or system of models? *Immunol. Rev.* 2006; 214: 186-201.
- (100) Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J et al. HLA and NK Cell Inhibitory Receptor Genes in Resolving Hepatitis C Virus Infection. *Science.* 2004; 305: 872-4.
- (101) Bozzano F, Marras F, Biassoni R, de Maria A. Natural killer cells in hepatitis C virus infection. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2012; 8: 775-88.
- (102) Rauch A, Laird R, McKinnon E, Telenti A, Furrer H, et al. Influence of inhibitory killer immunoglobulin-like receptors and their HLA-C ligands on resolving hepatitis C virus infection. *Tissue Antigens* 2007; 69 (Suppl. 1): 237-40.
- (103) Zúñiga J, Romero V, Azocar J, Terreros D, Vargas-Rojas MI, et al. Protective KIR-HLA interactions for HCV infection in intravenous drug users. *Mol. Immunol.* 2009; 46: 2723-27.
- (104) de Vasconcelos JM, Pereira-Móia LJ, Abraçado-Amaral IS, Mello-Miranda EC, Takesita LY, de Oliveira LF et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor polymorphisms with chronic hepatitis C and

- responses to therapy in Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 2013; 36: 22-7.
- (105) Carneiro VL, Lemaire DC, Bendicho MT, Souza SL, Cavalcante LN, et al. Natural killer cell receptor and HLA-C gene polymorphisms among patients with hepatitis C: a comparison between sustained virological responders and non-responders. *Liver Int.* 2010; 30: 567-73.
- (106) Golden-Manson L, Bambha KM, Cheng L, Howell HD, Taylor MW, Clark PJ et al. Natural Killer Inhibitory Receptor Expression Associated with Treatment Failure and Interleukin-28B Genotype in Patients with Chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2011; 54: 1559-69.
- (107) Golden-Manson L, Madrigal-Estebas L, McGrath E, Conroy MJ, Ryan EJ, Hegarty JE et al. Altered natural killer cell subset distributions in resolved and persistent hepatitis C virus infection following single source exposure. *Gut* 2008; 57: 1121- 28. doi:10.1136/gut.2007.130963.
- (108) Ji HF, Wang J, Yu L, Niu JQ, Ayana DA, Jiang YF. High frequencies of CD158b+ NK cells are associated with persistent hepatitis C virus infections. *Ann. Hepatol.* 2013; 12: 539-47.
- (109) Rivero-Juárez A, González R, Camacho A, Manzanares-Martín A, Carauz A, Martínez-Peinado A et al. Natural Killer KIR3DS1 Is Closely Associated with HCV Viral Clearance and Sustained Virological Response in HIV/HCV Patients. *Plos One.* 2013; 8: 4.
- (110) Paladino N, Flores AC, Marcos CY, Fainboim H, Theiler G, et al. Increased frequencies of activating natural killer receptors are associated with liver injury in individuals who do not eliminate hepatitis C virus. *Tissue Antigens* 2007; 69 (Suppl. 1): 109-11
- (111) Dring MM, Morrison MH, McSharry P, Guinan KJ, Hagan R, Irish HCV Research Consortium et al. Innate immune genes synergize to predict increased risk of chronic disease in hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 108: 5736-41.
- (112) Keane C, O'Shea D, Reiberger T, Peck-Radosavljevic M, Farrell G, Bergin C et al. Variation in Both IL28B and KIR2DS3 Genes Influence Pegylated Interferon and Ribavirin Hepatitis C Treatment Outcome in HIV-1 Co-Infection. *PLoS ONE* 2013; 8: e66831.

doi:10.1371/journal.pone.0066831.

- (113) Pawlotsky JM. Use and Interpretation of Virological Tests for Hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36: S65-73.
- (114) Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996; 24: 289-93.
- (115) Knodell RG, Ishak KG, Blacck WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1: 431-5.
- (116) Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22: 696- 9.
- (117) Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991;13: 372-4.
- (118) Soresi M, Giannitrapani L, Cervello M, Licata A, Montalto G. Non-invasive tools for the diagnosis of liver cirrosis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 18131-50.
- (119) European Association for the Study of the Liver, Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol*. 2015; 63: 237-64.
- (120) Tanwar S, Trembling PM, Hogan BJ, Parkes J, Harris S, Grant P et al. Biomarkers of Hepatic Fibrosis in Chronic Hepatitis C: A Comparison of 10 Biomarkers Using 2 Different Assays for Hyaluronic Acid. *J Clin Gastroenterol*. 2016 in-pres.
- (121) Thandassery RB, Al Kaabi S, Soofi ME, Mohiuddin SA, John AK, Al Mohannadi MJ et al. Mean Platelet Volume, Red Cell Distribution Width to Platelet Count Ratio, Globulin Platelet Index, and 16 Other Indirect Noninvasive Fibrosis Scores: How Much Do Routine Blood Tests Tell About Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis C? *J Clin Gastroenterol* 2016; 50: 518-23.
- (122) D'Ambrosio R, Degaspero E, Aghemo A, Fraquelli M, Lampertico P,

- Rumi MG, et al. Serological Tests Do Not Predict Residual Fibrosis in Hepatitis C Cirrhotics with a Sustained Virological Response to Interferon. PLoS ONE 2016; 11: e0155967.
- (123) Lupsor Platon M, Stefanescu H, Feier D, Maniu A, Badea R. Performance of Unidimensional Transient Elastography in Staging Chronic Hepatitis C. Results from a Cohort of 1,202 Biopsied Patients from one Single Center. J Gastrointest Liver Dis. 2013; 22: 157-66.
- (124) Vergara S, Macías J, Rivero A, Gutiérrez-Valencia A, González-Serrano M, Merino D et al. The use of transient elastometry for assessing liver fibrosis in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. Clin Infect Dis 2007; 45: 969-74.
- (125) Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. Gastroenterology 2005; 128; 343-50.
- (126) Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A. Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement: a prospective multicentre study in patients with chronic hepatitis C. Hepatology 2005; 41: 48-54.
- (127) Talwalkar JA, Kurtz DM, Schoenleber SJ, West CP, Montori VM. Ultrasound-Based Transient Elastography for the Detection of Hepatic Fibrosis: Systematic Review and Meta-analysis. Clinical Gastroenterology And Hepatology 2007; 5: 1214-20.
- (128) Swain MG, Lai MY, Shiffman ML, Cooksley WG, Zeuzem S, Dieterich DT, et al. A sustained virologic response is durable in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon alfa-2a and ribavirin. Gastroenterology 2010; 139: 1593-601.
- (129) Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, et al. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. N Engl J Med 1986;315: 1575-8.
- (130) Echevarría S, Mediavilla A. Fármacos antivíricos. En Florez J. Farmacología Humana. 3ª Edición. Masson, SA. 1998; p: 1187-13.

- (131) Platanius LC. Mechanisms of type-I and type-II-interferon mediated signalling. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 375-86.
- (132) Gara N, Ghany MG. What the infectious disease physician needs to know about pegylated interferon and ribavirin. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1629-36.
- (133) McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009; 361: 580-93.
- (134) Foster GR, Chayama K, Chuang WL, Fainboim H, Farkkila M, Gadano A et al. A randomized, controlled study of peginterferon lambda-1a/ribavirin \pm daclatasvir for hepatitis C virus genotype 2 or 3. *Springerplus*. 2016; 5: 1365.
- (135) Lai MY, Kao JH, Yang PM, et al. Long-term efficacy of ribavirin plus interferon alfa in the treatment of chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1996; 111: 1307-12.
- (136) Hezode C, Forestier N, Dusheiko G, et al. Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2009; 360: 1839-50.
- (137) Zeuzem S, Buggisch P, Agarwal K, et al. The protease inhibitor, GS-9256, and non-nucleoside polymerase inhibitor tegobuvir alone, with ribavirin, or pegylated interferon plus ribavirin in hepatitis C. *Hepatology* 2012; 55: 749-58.
- (138) Banerjee D, Reddy KR. Review article: safety and tolerability of direct-acting anti-viral agents in the new era of hepatitis C therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 43: 674-96.
- (139) Majumdar A, Kitson MT, Roberts SK. Systematic review: current concepts and challenges for the direct-acting antiviral era in hepatitis C cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016; 43: 1276-92.
- (140) Pawlotsky JM, Feld JJ, Zeuzem S, Hoofnagle JH. From non-A, non-B hepatitis to hepatitis C virus cure. *J Hepatol*. 2015; 62: S87-99.
- (141) Zhang X. Direct anti-HCV agents. *Acta Pharm Sin B*. 2016; 6:26-31.
- (142) Sulkowski MS. Management of acute and chronic HCV infection in

- persons with HIV coinfection. *J Hepatol* 2014; 61: S108-19.
- (143) Guedj J. Modeling shows that the NS5A inhibitor daclatasvir has two modes of action and yields a shorter estimate of the hepatitis C virus half life. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110: 3991-6.
- (144) Lok AS, Gardiner DF, Lawitz E, Martorell C, Everson GT, Ghalib R et al. Preliminary study of two antiviral agents for hepatitis C genotype 1. *N Engl J Med* 2012; 366: 216-24.
- (145) Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M, Gitlin N, Puoti M, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014; 370: 1889-98.
- (146) Zeuzem S, Jacobson IM, Baykal T, Marinho RT, Poordad F, Bourlière M et al. Retreatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *N Engl J Med* 2014; 370: 1604-14.
- (147) Feld JJ, Kowdley KV, Coakley E, Sigal S, Nelson DR, Crawford D et al. Treatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *N Engl J Med* 2014; 370: 1594-603.
- (148) Lawitz E, Gane E, Pearlman B. Efficacy and safety of 12 weeks versus 18 weeks of treatment with grazoprevir (MK-5172) and elbasvir (MK-8742) with or without ribavirin for hepatitis C virus genotype 1 infection in previously untreated patients with cirrhosis and patients with previous null response with or without cirrhosis (C-WORTHY): a randomised, open-label phase 2 trial. *Lancet* 2015; 385: 1075-86.
- (149) Zeuzem S, Ghalib R, Reddy KR. Grazoprevir-elbasvir combination therapy for treatment-naïve cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C virus genotype 1, 4, or 6 infection: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2015; 163: 1-13.
- (150) Kwo P, Gane E, Peng C-Y. Efficacy and safety of grazoprevir/elbasvir +/- RBV for 12 weeks with HCV G1 or G4 infection who previously failed Peginterferon/RBV: C-EDGE treatment-experienced trial. *J Hepatol* 2015; 62: S674-5.
- (151) Lemm JA, Liu M, Gentles RG, Ding M, Voss S, Pelosi LA et al. Preclinical characterization of BMS-791325, an allosteric inhibitor of hepatitis

- Cvirus NS5B polymerase. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 3485-95.
- (152) Muir AJ, Poordad F, Lalezari J, Everson G, Dore GJ, Herring R et al. Daclatasvir in combination with asunaprevir and beclabuvir for hepatitis C virus genotype 1 infection with compensated cirrhosis. *JAMA* 2015; 313: 1736-44.
- (153) Sofia MJ, Chang W, Furman PA, Mosley RT, Ross BS. Nucleoside, nucleotide, and non-nucleoside inhibitors of hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA-polymerase. *J Med Chem.* 2012; 55: 2481-531.
- (154) Lam AM, Murakami E, Espiritu C, Steuer HM, Niu C, Keilman M et al. PSI-7851, a pronucleotide of beta-D-2'-deoxy-2'-fluoro-2'-C-methyluridine monophosphate, is a potent and pan-genotype inhibitor of hepatitis C virus replication. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54: 3187-96.
- (155) Murakami E, Tolstykh T, Bao H, Niu C, Steuer HM, Bao D et al. Mechanism of activation of PSI-7851 and its diastereoisomer PSI-7977. *J Biol Chem.* 2010; 285: 34337-47.
- (156) Lam AM, Espiritu C, Banal S, Micolochick Steuer HM, Niu C, Zennou V et al. Genotype and subtype profiling of PSI-7977 as a nucleotide inhibitor of hepatitis C virus. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 3359-68.
- (157) Lawitz E, Mangia A, Wyles D, Rodriguez-Torres M, Hassanein T, Gordon SC, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2013; 368: 1878-87.
- (158) Lawitz E, Poordad F, Brainard DM, Hyland RH, An D, Dvory-Sobol H, et al. Sofosbuvir with peginterferon-ribavirin for 12 weeks in previously treated patients with hepatitis C genotype 2 or 3 and cirrhosis. *Hepatology* 2015, 61: 769-75.
- (159) Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, Yoshida EM, Rodriguez-Torres M, Sulkowski MS et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N Engl J Med* 2013; 368: 1867-77.
- (160) Zeuzem S1, Dusheiko GM, Salupere R, Mangia A, Flisiak R, Hyland RH et al. Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. *N Engl J Med* 2014; 370: 1993-2001.
- (161) Foster GR, Pianko S, Brown A, Forton D, Nahass RG, George J et al.

Efficacy of sofosbuvir plus ribavirin with or without peginterferon-alfa in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection and treatment-experienced patients with cirrhosis and hepatitis C virus genotype 2 infection. *Gastroenterology*. 2015; 149: 1462-70.

- (162) Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M, Gitlin N, Puoti M et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014; 370: 1889-98.
- (163) Afdhal N, Reddy KR, Nelson DR, Lawitz E, Gordon SC, Schiff E, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014; 370: 1483-93.
- (164) Charlton M, Everson GT, Flamm SL, Kumar P, Landis C, Brown RS Jr et al. Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin for treatment of HCV infection in patients with advanced liver disease. *Gastroenterology* 2015; 149: 649-59.
- (165) Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R, Rodriguez-Torres M, Younossi ZM, Corregidor A et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naive patients: the COSMOS randomised study. *Lancet* 2014; 384: 1756-65.
- (166) Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, Lawitz E, Pockros PJ, Gitlin N et al. All-oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase 3 study. *Hepatology* 2015; 61: 1127-35.
- (167) Welzel TM, Herzer K, Ferenci P, Petersen J, Gschwantler M, Cornberg M. Daclatasvir plus sofosbuvir with or without ribavirin for the treatment of HCV in patients with severe liver disease: interim results of a multicentre compassionate use program. *J Hepatol* 2015; 62: S619-20.
- (168) Chhatwal J, Kanwal F, Roberts MS, Dunn MA. Cost-effectiveness and budget impact of hepatitis C virus treatment with sofosbuvir and ledipasvir in the United States. *Ann Intern Med*. 2015; 162: 397-406.
- (169) Younossi ZM, Park H, Saab S, Ahmed A, Dieterich D, Gordon SC. Cost-effectiveness of all-oral ledipasvir/sofosbuvir regimens in patients with

- chronic hepatitis C virus genotype 1 infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 41: 544-63.
- (170) Martin NK, Vickerman P, Dore GJ, Grebely J, Miners A, Cairns J et al. Prioritization of HCV treatment in the direct-acting antiviral era: An economic evaluation. *J Hepatol* 2016; 65: 17-25.
- (171) Najafzadeh M, Andersson K, Shrank WH, Krumme AA, Matlin OS, Brennan T et al. Cost-effectiveness of novel regimens for the treatment of hepatitis C virus. *Ann Intern Med.* 2015; 162: 407-19.
- (172) The University of Liverpool. [Internet]. Liverpool; 2017 [actualizado 19 abril 2017; citado 19 abril 2017]. Disponible en: <http://www.hep-druginteractions.org>
- (173) Jezequel C, Bardou-Jacquet E, Desille Y et al. Survival of patients infected by chronic hepatitis C and F0F1 fibrosis at baseline after a 15 year follow-up. 50th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL). April 22-26, 2015; S589; Vienna, Austria.
- (174) Øvrehus ALH, Blach S, Christensen PB et al. Impact of prioritizing treatment in a high resource setting - minimizing the burden of HCV related disease in 15 years. 50th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL). April 22-26, 2015; S591; Vienna, Austria.
- (175) Zahnd C, Salazar-Vizcaya LP, Dufour JF et al. Impact of deferring HCV treatment on liver-related events in HIV+ patients. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 2015. February 23-26, 2015; Seattle, WA.
- (176) McCombs JS, Tonnu-MiHara I, Matsuda T, McGinnis J, Fox S. Can hepatitis C treatment be safely delayed? Evidence from the Veterans Administration Healthcare System. 50th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL). April 22-26, 2015; S191; Vienna, Austria.
- (177) Cimino L, Oriani G, D'Arienzo A, Manguso F, Loguercio C, Ascione A, et al. Interactions between metabolic disorders (diabetes, gallstones, and dyslipidaemia) and the progression of chronic hepatitis C virus infection to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. A cross-sectional multicentre survey.

- Dig Liver Dis 2001; 33: 240-6.
- (178) Huang YW, Yang SS, Fu SC, Wang TC, Hsu CK, Chen DS et al. Increased risk of cirrhosis and its decompensation in chronic hepatitis C patients with new-onset diabetes: a nationwide cohort study. *Hepatology*. 2014; 60: 807-14.
- (179) Aghemo A, Prati GM, Rumi MG, Soffredini R, D'Ambrosio R, Orsi E et al. Sustained virological response prevents the development of insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2012; 56: 1681-7.
- (180) Merchante N, Rivero A, de Los Santos-Gil I, Merino D, Márquez M, López-Ruz MA et al. Insulin resistance is associated with liver stiffness in HIV/HCV co-infected patients. *Gut* 2009; 58: 1654-60.
- (181) Neukam K, Recio E, Camacho A, Macías J, Rivero A, Mira JA et al. Interobserver concordance in the assessment of liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients using transient elastometry. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 801-7.
- (182) Roche Diagnostic. MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I. [consulta 13 de agosto de 2013] Disponible en:<http://www.roche-applied-science.com/shop/products/magna-pure-lc-dna-isolation-kit-i>.
- (183) Innogenetics N.V. INNO-LiPA HLA-B Update Plus. 2004. [consulta 13 de agosto de 2013]. Disponible en:<http://www.veritastk.co.jp/attached/77/E-IGX-LP-HLAB-upd-plus.pdf>
- (184) Gómez-Lozano N, Vilches C. Genotyping of Human Killer-Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genes by Polymerase Chain Reaction with Sequence-Specific Primers: An Update. *Tissue Antigens*. 2002; 59: 184-93.
- (185) Invitrogen. KIR Genotyping SSP Kit. [consulta 13 de agosto de 2013]. Disponible en: http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/MAN0002571_rev03.pdf.
- (186) Kulkarni S, Martin MP, Carrington M. KIR Genotyping by Multiplex PCR-SSP. *Methods Mol Biol*. 2010; 612: 365-75.
- (187) Turner S, Ellexson ME, Hickman HD, Sidebottom DA, Fernández-Viña M, Confer DL. Et al. Sequence-based typing provide a new look a HLA-C diversity. *J Immunol*. 1998; 161: 1406-13.

- (188) Giannini EG. Review article: thrombocytopenia in chronic liver disease and pharmacologic treatment options. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1055-65.
- (189) Zahnd C, Salazar-Vizcaya L, Dufour JF, Müllhaupt B, Wandeler G, Kouyos R et al. Modelling the impact of deferring HCV treatment on liver-related complications in HIV coinfecting men who have sex with men. *J Hepatol*. 2016; 65: 26-32.
- (190) McEwan P, Ward T, Bennett H, Kalsekar A, Webster S, Brenner M, et al. Estimating the clinical and economic benefit associated with incremental improvements in sustained virologic response in chronic hepatitis C. *PLoS One* 2015;10 e0117334.
- (191) Leidner AJ, Chesson HW, Xu F, Ward JW, Spradling PR, Holmberg SD. Cost- effectiveness of hepatitis C treatment for patients in early stages of liver disease. *Hepatology* 2015; 61: 1860-69.
- (192) Deuffic-Burban S, Schwarzinger M, Obach D, Mallet V, Pol S, Pageaux GP, et al. Should we await IFN-free regimens to treat HCV genotype 1 treatment- naive patients? A cost-effectiveness analysis (ANRS 12188). *J Hepatol* 2014;61 :7-14.
- (193) Pho MT, Jensen DM, Meltzer DO, Kim AY, Linas BP. Clinical impact of treatment timing for chronic hepatitis C infection: a decision model. *J Viral Hepat* 2015; 22: 630-38.
- (194) Sulkowski MS, Mehta SH, Torbenson MS, Higgins Y, Brinkley SC, de OcaRM et al. Rapid fibrosis progression among HIV/hepatitis C virus-co-infected adults. *AIDS* 2007; 21: 2209-16.
- (195) Macías J, Berenguer J, Japón MA, Girón JA, Rivero A, López-Cortés LF et al. Fast fibrosis progression between repeated liver biopsies in patients coinfecting with human immunodeficiency virus/hepatitis C virus. *Hepatology*. 2009; 50: 1056-63.
- (196) Lagging LM, Westin J, Svensson E, Aires N, Dhillon AP, Lindh M et al. Progression of fibrosis in untreated patients with hepatitis C virus infection. *Liver*. 2002; 22: 136-44.
- (197) Zarski JP, Mc Hutchison J, Bronowicki JP, Sturm N, Garcia-Kennedy

- R, Hodaj E et al. Rate of natural disease progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2003;38: 307-14.
- (198) Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, Doo E, Khokar F, Prometa K et al. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2003; 124: 97-104.
- (199) Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC; Trent Hepatitis C Study Group. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut* 2004; 53: 451-5.
- (200) Wilson LE, Torbenson M, Astemborski J, Faruki H, Spoler C, Rai R et al. Progression of liver fibrosis among injection drug users with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2006; 43: 788-95.
- (201) Levine RA, Sanderson SO, Ploutz-Snyder R, Murray F, Kay E, Hegarty J et al. Assessment of fibrosis progression in untreated Irish women with chronic hepatitis C contracted from immunoglobulin anti-D. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006; 4: 1271-7.
- (202) Everhart JE, Wright EC, Goodman ZD, Dienstag JL, Hoefs JC, Kleiner DE et al. Prognostic value of Ishak fibrosis stage: findings from the hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial. *Hepatology*. 2010; 51: 585-94.
- (203) Focà E, Fabbiani M, Prosperi M, Quiros Roldan E, Castelli F, Maggiore F et al. Liver fibrosis progression and clinical outcomes are intertwined: role of CD4+ T-cell count and NRTI exposure from a large cohort of HIV/HCV-coinfected patients with detectable HCV-RNA: A MASTER cohort study. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95:29(e4091).
- (204) Sanmartín R, Tor J, Sanvisens A, López JJ, Jou A, Muga R et al. Progression of liver fibrosis in HIV/hepatitis C virus-coinfected individuals on antiretroviral therapy with early stages of liver fibrosis at baseline. *HIV Med*. 2014; 15: 203-12.
- (205) Barreiro P, Martín-Carbonero L, Núñez M, Rivas P, Morente A, Sigaro N et al. Predictors of liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection: assessment using transient elastometry and the role of HCV genotype 3. *Clin Infect Dis*. 2006; 42:1032-9.

- (206) Martín-Carbonero L, Benhamou Y, Puoti M, Berenguer J, Mallolas J, Quereda C. et al. Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Clin Infect Dis*. 2004; 38:128-33.
- (207) Lee EJ, Kim HS, Park MJ, Lee YK, Kang HJ. Development of a Novel Quality Improvement Indicator Based on the Hemolysis Index. *Ann Lab Med*. 2016; 36: 599-602.
- (208) Monneret D, Mestari F, Atlan G, Corlouer C, Ramani Z, Jaffre J et al. Hemolysis indexes for biochemical tests and immunoassays on Roche analyzers: determination of allowable interference limits according to different calculation methods. *Scand J Clin Lab Invest*. 2015; 75: 162-9.
- (209) Kim AY, Chung RT. Coinfection with HIV-1 and HCV- A One-Two Punch. *Gastroenterology* 2009; 137: 795-814.
- (210) Seki E, Schwabe RF. Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. *Hepatology* 2015; 61: 1066-79.
- (211) Kim AY, Kuntzen T, Timm J, Nolan BE, Baca MA, Reyor LL et al. Spontaneous control of HCV is associated with expression of HLA-B 57 and preservation of targeted epitopes. *Gastroenterology*. 2011; 140: 686-96.
- (212) Fitzmaurice K, Hurst J, Dring M, Rauch A, McLaren PJ, Günthard HF et al. Additive effects of HLA alleles and innate immune genes determine viral outcome in HCV infection. *Gut*. 2015; 64: 813-9.
- (213) Hydes TJ, Moesker B, Traherne JA, Ashraf S, Alexander GJ, Dimitrov BD et al. The interaction of genetic determinants in the outcome of HCV infection: evidence for discrete immunological pathways. *Tissue Antigens*. 2015; 86: 267-75.
- (214) Wang M, Li JS, Ping Y, Li ZQ, Wang LP, Guo Q et al. The host HLA-A*02 allele is associated with the response to pegylated interferon and ribavirin in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Arch Virol*. 2015; 160: 1043-54.
- (215) Renou C, Halfon P, Pol S, Cacoub P, Jouve E, Bronowicki JP et al. Histological features and HLA class II alleles in hepatitis C virus chronically infected patients with persistently normal alanine aminotransferase levels.

Gut. 2002; 51: 585-90.

- (216) Kuniholm MH, Gao X, Xue X, Kovacs A, Marti D, Thio CL, Peters MG et al. The relation of HLA genotype to hepatitis C viral load and markers of liver fibrosis in HIV-infected and HIV-uninfected women. *J Infect Dis.* 2011; 203: 1807-14.
- (217) Marangon AV, Silva GF, de Moraes CF, Grotto RM, Pardini MI, de Pauli DS et al. Protective effect of HLA-DRB1 11 and predisposition of HLA-C 04 in the development of severe liver damage in Brazilian patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scand J Immunol.* 2012; 76: 440-7.
- (218) Patel K, Norris S, Lebeck L, Feng A, Clare M, Pianko S et al. HLA class I Allelic diversity and progression of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2006; 43: 241-9.
- (219) Missiha SB, Ostrowski M, Heathcote EJ. Disease progression in chronic Hepatitis C: modifiable and nonmodifiable Factors. *Gastroenterology* 2008; 134: 1699-714.
- (220) Tillmann HL1, Thompson AJ, Patel K, Wiese M, Tenckhoff H, Nischalke HD, et al. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology.* 2010; 138: 1240-3.
- (221) Knapp S, Warshow U, Ho KM, Hegazy D, Little AM, Fowell A, et al. A polymorphism in IL28B distinguishes exposed, uninfected individuals from spontaneous resolvers of HCV infection. *Gastroenterology.* 2011; 141: 320-5.
- (222) Ray K. Hepatitis: New gene IFNL4 is associated with impaired clearance of HCV. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013; 10:63.
- (223) Krämer B, Nischalke HD, Boesecke C, Ingiliz P, Voigt E, Mauss S, et al. Variation in IFNL4 genotype and response to interferon-based therapy of hepatitis C in HIV-positive patients with acute and chronic hepatitis C. *AIDS.* 2013; 27: 2817-9.
- (224) Rajagopalan S, Long EO. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *J Exp Med.* 2005; 201:1025-9.
- (225) Boyton RJ, Altmann DM. Natural killer cells, killer immunoglobulin-like

- receptors and human leucocyte antigen class I in disease. *Clin Exp Immunol.* 2007; 149:1-8.
- (226) Ivarsson MA, Michaëlsson J, Fauriat C. Activating killer cell Ig-like receptors in health and disease. *Front Immunol.* 2014; 5: 184.
- (227) Gauthiez E, Habfast-Robertson I, Rüeger S, Kutalik Z, Aubert V, Berg T, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of HCV Clearance. *Liver Int.* 2017. doi: 10.1111/liv.13401.
- (228) Gardiner CM. NK cell function and receptor diversity in the context of HCV infection. *Front Microbiol.* 2015; 6:1061
- (229) McKiernan SM, Hagan R, Curry M, McDonald GS, Kelly A, Nolan N, et al. Distinct MHC class I and II alleles are associated with hepatitis C viral clearance, originating from a single source. *Hepatology.* 2004; 40:108-14.
- (230) Neumann-Haefelin C, Timm J, Schmidt J, Kersting N, Fitzmaurice K, Oniangue-Ndza C, et al. Protective effect of human leukocyte antigen B27 in hepatitis C virus infection requires the presence of a genotype-specific immunodominant CD8+ T-cell epitope. *Hepatology.* 2010; 51:54-62.
- (231) Thio CL, Gao X, Goedert JJ, Vlahov D, Nelson KE, Hilgartner MW, et al. HLA-Cw*04 and hepatitis C virus persistence. *J Virol.* 2002; 76:4792-7.
- (232) Asher AK, Santos GM, Evans J, Dokubo EK, Lee TH, Martin JN, et al. Human leukocyte antigen B*57 does not fully explain hepatitis C clearance in HIV controllers. *AIDS.* 2013; 27: 2691-6.
- (233) Fanning LJ, Kenny-Walsh E, Shanahan F. Persistence of hepatitis C virus in a white population: associations with human leukocyte antigen class 1. *Hum Immunol.* 2004; 65: 745-51.
- (234) De Re V, Caggiari L, De Zorzi M, Repetto O, Zignego AL, Izzo F, et al. Genetic diversity of the KIR/HLA system and susceptibility to hepatitis C virus-related diseases. *PLoS One.* 2015; 10: e0117420.
- (235) Ruiz-Extremera A, Pavón-Castillero EJ, Florido M, Muñoz de Rueda P, Muñoz-Gámez JA, Casado J, et al. Influence of HLA class I, HLA class II and KIRs on vertical transmission and chronicity of hepatitis C virus in children. *PLoS One.* 2017; 12: e0172527.
- (236) Mangia A, Santoro R, Sarli R, Mottola L, Piazzolla V, Petruzzellis D, et

- al. IL28B CC-genotype association with HLA-DQB1*0301 allele increases the prediction of spontaneous HCV RNA clearance in thalassaemic HCV-infected patients. *Antivir Ther.* 2011; 16:1309-16.
- (237) Duggal P, Thio CL, Wojcik GL, Goedert JJ, Mangia A, Latanich R, et al. Genome-wide association study of spontaneous resolution of hepatitis C virus infection: data from multiple cohorts. *Ann Intern Med.* 2013; 158: 235-45.
- (238) Huang J, Huang K, Xu R, Wang M, Liao Q, Xiong H, et al. The Associations of HLA-A*02:01 and DRB1*11:01 with Hepatitis C Virus Spontaneous Clearance Are Independent of IL28B in the Chinese Population. *Sci Rep.* 2016; 6: 31485.
- (239) Deterding K, Grüner N, Buggisch P, Wiegand J, Galle PR, Spengler U, et al. Delayed versus immediate treatment for patients with acute hepatitis C: a randomized controlled non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis.* 2013; 13: 497-506.
- (240) Weksler BB. Review article: the pathophysiology of thrombocytopenia in hepatitis C virus infection and chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 13-9.
- (241) Afdhal N, McHutchison J, Brown R, Jacobson I, Manns M, Poordad F et al. Thrombocytopenia associated with chronic liver disease. *J Hepatol.* 2008; 48: 1000-7
- (242) Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 503-10.
- (243) Placke T, Kopp HG, Salih HR. Modulation of natural killer cell anti-tumor reactivity by platelets. *J Innate Immun.* 2011; 3: 374-82
- (244) Nieswandt B, Hafner M, Echtenacher B, Mannel DN. Lysis of tumor cells by natural killer cells in mice is impeded by platelets. *Cancer Res* 1999; 59: 1295-300.
- (245) Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, La Jeunesse CM, Flick MJ, Kombrinck KW et al. Platelets and fibrinogen increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood* 2005; 105: 178-85.

- (246) Li N. Platelet-lymphocyte cross-talk. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 1069-78.
- (247) Semple JW, Freedman J. Platelets and innate immunity. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 499-511.
- (248) Peck-Radosavljevic M, Wichlas M, Pidlich J, Sims P, Meng G, Zachary J et al. Blunted thrombopoietin response to interferon alfa-induced thrombocytopenia during treatment for hepatitis C. *Hepatology* 1998; 28: 1424-9.
- (249) Ganser A, Carlo-Stella C, Greher J, Völkers B, Hoelzer D. Effect of recombinant interferons alpha and gamma on human bone marrow-derived megakaryocytic progenitor cells. *Blood* 1987; 70: 1173-9.
- (250) Seymour LA, Nourse JP, Crooks P, Wockner L, Bird R, Tran H et al. The presence of KIR2DS5 confers protection against adult immune thrombocytopenia. *Tissue Antigens* 2014; 83: 154-60.
- (251) Nourse JP, Lea R, Crooks P, Wright G, Tran H, Catalano J et al. The KIR2DS2/2DL2 genotype is associated with adult persistent/chronic and relapsed immune thrombocytopenia independently of FCGR3a-158 polymorphisms. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2012; 23: 45-50.
- (252) Pradella P, Bonetto S, Turchetto S, Uxa L, Comar C, Zorat F et al. Platelet production and destruction in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2011; 54: 894-900.
- (253) Hernos JA, Quach L, Gagnon DR, Weber HC, Altincatal A, Cho K et al. Incident severe thrombocytopenia in veterans treated with pegylated interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C infection. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2014; 23: 480-8.
- (254) Lin KH, Hsu PI, Yu HC, Lin CK, Tsai WL, Chen WC et al. Factors linked to severe thrombocytopenia during antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and pretreatment low platelet counts. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 7.
- (255) Mira JA, López-Cortés LF, Merino D, Arizcorreta-Yarza A, Rivero A, Collado A et al. Predictors of severe haematological toxicity secondary to pegylated interferon plus ribavirin treatment in HIV-HCV-coinfected patients. *Antivir Ther*. 2007; 12:12

ANEXO I: PUBLICACIONES DERIVADAS DIRECTAMENTE DEL TRABAJO DEL DOCTORANDO.

1. Rivero-Juarez A, Gonzalez R, Frias M, Manzanares-Martín B, **Rodriguez-Cano D**, Perez-Camacho I, Gordon A, Cuenca F, Camacho A, Pineda JA, Peña J, Rivero A. KIR2DS2 as predictor of thrombocytopenia secondary to pegylated interferon-alpha therapy. *Pharmacogenomics J.* 2016 Mar 15. doi: 10.1038/tpj.2016.19

2. Frías M, **Rodríguez-Cano D**, Cuenca-López F, Macías J, Gordon A, Manzanares-Martín B, Pineda JA, Camacho Á, Torre-Cisneros J, Peña J, Rivero-Juárez A, Rivero A. HLA-B18 as a risk factor of short-term progression to severe liver fibrosis in HIV/HCV co-infected patients with absent or minimal fibrosis: implications for timing of therapy. *Pharmacogenomics J.* 2016 May 31. doi: 10.1038/tpj.2016.42

3. Frías M, **Rodríguez-Cano D**, Cuenca-López F, Macías J, Gordon A, Manzanares-Martín B, Pineda JA, Camacho Á, Torre-Cisneros J, Peña J, Rivero-Juárez A, Rivero A. HLA-B18 as risk factor of liver fibrosis progression in HIV/HCV treatment-experienced patients. *Pharmacogenomics J.* 2016 Oct 25. doi: 10.1038/tpj.2016.80.

Frias M, Rivero-Juárez A, **Rodriguez-Cano D**, Camacho Á, López-López P, Risalde MÁ, Manzanares-Martín B, Brieva T, Machuca I, Rivero A. HLA-B, HLA-C and KIR improve the predictive value of IFNL3 for Hepatitis C spontaneous clearance. *Sci Rep.* 2018 Jan 12;8(1):659. doi: 10.1038/s41598-017-17531-7.

ANEXO II: OTRAS PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA COLABORACIÓN DEL DOCTORANDO.

1. Rivero-Juarez A, Frias M, **Rodriguez-Cano D**, Cuenca-López F, Rivero A. Isolation of Hepatitis E Virus From Breast Milk During Acute Infection. Clin Infect Dis. 2016 Jun 1;62(11):1464. doi: 10.1093/cid/ciw186.

2. Rivero-Juarez A, Frias M, Martinez-Peinado A, RisaCLe MA, **Rodriguez-Cano D**, Camacho A, García-Bocanegra I, Cuenca-Lopez F, Gomez-Villamandos JC, Rivero A. Familial Hepatitis E Outbreak Linked to WiCL Boar Meat Consumption. Zoonoses Public Health. 2017 Jan 9. doi: 10.1111/zph.12343.

OTRO ANEXO DE CONGRESOS