

Universitat de Lleida

ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VIRUS DE LA HEPATITIS C:

Factores de riesgo y modificación tras la terapia con Antivirales de Acción Directa

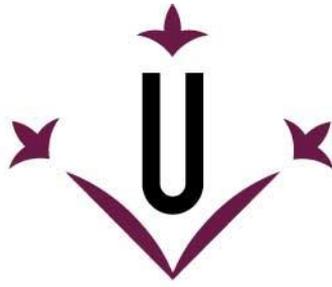
Tamara Revuelto Artigas

<http://hdl.handle.net/10803/667849>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



Universitat de Lleida

TESI DOCTORAL

**ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA EN PACIENTES CON
INFECCIÓN CRÓNICA POR VIRUS DE LA HEPATITIS C:**

Factores de riesgo y modificación tras la terapia con Antivirales de Acción Directa

Tamara Revuelto Artigas

Memòria presentada per optar al grau de Doctor per la Universitat de
Lleida

Programa de Doctorat en Salut

Director/a

Josep María Reñé Espinet

Àngels Betriu Bars

Tutor/a

Carme Piñol Felis

2019

AGRADECIMIENTOS

Con estas líneas quiero expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización de este trabajo.

En primer lugar al Dr. Josep M. Reñé Espinet director de esta tesis, por ser un gran profesional y mejor persona, gracias por confiar en mí.

A la Dra. Betriu Bars codirectora, por sus críticas, comentarios y sugerencias durante el desarrollo de esta investigación que tanto me han hecho aprender.

A Carme Piñol Felis tutora de esta tesis, así como a la Dra. Zaragoza Velasco, por sus aportaciones al corregir este manuscrito.

A Xavier Gómez Arbonés, por su colaboración en el análisis estadístico.

A las enfermeras de la UDETMA por la realización de las ecografías vasculares y ayudarme a comprender este mundo “en escala de grises”.

A mis compañeros del Hospital Universitario Santa María (médicos, personal de enfermería y auxiliares) muchísimas gracias por el apoyo durante estos años, vuestros consejos, ánimos... en resumen por hacerme sentir como en mi casa.

A bimba por todo el tiempo que hemos pasado juntas delante del ordenador, siempre con tu entusiasta mirada.

A Hernán por estar siempre, en lo bueno y en lo malo. Gracias por compartir tu vida conmigo, dándome fuerzas en todo momento.

A mis padres y mi hermano por su amor incondicional, pero sobre todo a tí, mamá, por las incontables horas que me has dedicado tanto físicas como ahora telefónicas, porque todos mis logros en la vida los hemos conseguido juntas, por ser mi norte...

ABREVIATURAS

AAD: Antivirales de Acción Directa

VHC: Virus de la Hepatitis C

VHB: Virus de la Hepatitis B

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

ARN: Ácido Ribonucleico

ECV: Eventos Cardiovasculares

RCV: Riesgo Cardiovascular

ACV: Accidente Cerebrovascular

EC: Enfermedad Coronaria

GIM: Grosor Íntima-Media

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad (Very Low Density Lipoprotein)

LDL: Lipoproteínas de baja densidad (Low Density Lipoprotein)

HDL: Lipoproteínas de alta densidad (High Density Lipoprotein)

RVS: Respuesta Viral Sostenida

RVR: Respuesta Viral Rápida

IFN: Interferón

IPs: Inhibidores de la Proteasa

IMC: Índice de Masa Corporal (Kg/m^2)

HTA: Hipertensión Arterial

DM: Diabetes Mellitus

IR: Insulinorresistencia

HOMA: Homeostasis Model for Assessment

GSM: Mediana de escala de grises (Grises Scale Medium)

TG: Triglicéridos (mg/dL)

Gluc: Glucemia (g/dL)

TG/HDL: Coeficiente Triglicéridos/ HDL colesterol (marcador indirecto IR1)

TyG: Producto Triglicéridos y Glucosa (marcador indirecto de IR2)

SCORE: Systematic Coronary Risk Evaluation

ACC: Arteria Carótida Común
ACI: Arteria Carótida Interna
AFC: Arteria Femoral Común
AFS: Arteria Femoral Superficial
TAS: Tensión Arterial Sistólica (mmHg)
TAD: Tensión Arterial Diastólica (mmHg)
CT: Colesterol Total (mg/dL)
LDLc: Colesterol LDL (mg/dL)
HDLc: Colesterol HDL (mg/dL)
No- HDLc: Colesterol no HDL (mg/dL)
IA: Índice Aterogénico (CT/HDLc: colesterol / Colesterol HDL)
AST: Asparto Aminotransferasa (UI/ml)
ALT: Alanina Aminotransferasa (UI/ml)
GGT: Gamma Glutamil Transpeptidasa (UI/ml)
PCR: Proteína C Reactiva (mg/dl)
Bb: Bilirrubina (mg/dl)
Alb: Albúmina (g/dl)
Plaq: Plaquetas ($10^9/L$)
G: Genotipo viral
F: Fibrosis hepática
HIS: Índice de esteatosis hepática (Hepatic Steatosis Index)

ÍNDICE

TÍTULO	1
AGRADECIMIENTOS.....	3
ABREVIATURAS.....	5
RESUMEN	18
RESUM.....	20
ABSTRACT	22
INTRODUCCIÓN	25
1. INFECCIÓN POR VHC	27
1.1. VHC, Epidemiología y mecanismos de transmisión.	27
1.1.1. Estructura del VHC.	27
1.1.2. Replicación del VHC.....	28
1.1.3. Heterogeneidad genética del VHC. Genotipo. Cuasiespecies.....	30
1.1.4. Epidemiología del VHC.	31
1.1.5. Factores de riesgo. Vías de transmisión.....	31
1.2. Historia natural de la infección por VHC: Afectación hepática y extrahepática.	32
1.2.1. Clínica de la infección hepática por el VHC.	33
1.2.2. Manifestaciones extrahepáticas de la infección crónica por el VHC.	33
1.3. Métodos diagnósticos del VHC.	35
1.3.1. Diagnóstico virológico.	35
1.3.2. Valoración de la fibrosis hepática.	35
2. TRATAMIENTO ANTIVIRAL	36
2.1. Monoterapia y biterapia	38
2.2. Inhibidores de la Proteasa (IPs).....	39
2.3. Criterios en la elección del tratamiento del VHC.....	43
3. ATEROSCLEROSIS.....	44
3.1. Tipos de placas de ateroma.....	45
3.2. Aterosclerosis y Factores de Riesgo Vascular	46
3.3. Ecografía vascular y ateromatosis subclínica	47
A) Grosor íntima-media (GIM)	49
B) La placa de ateroma.....	49
C) Significado clínico de la ateromatosis subclínica	50
3.4. Clasificación de la placa de ateroma por análisis visual ecográfico	53
3.4.1. Ecogenicidad de la placa y significado clínico	54

3.4.2. Caracterización ecográfica de la placa ateromatosa por análisis computarizado	55
A) Mediana de la escala de grises (GSM)	56
B) Escalas de color	57
C) Implicaciones pronósticas de la ecogenicidad de la placa	58
4. RIESGO CARDIOVASCULAR E INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC	59
4.1. Alteraciones metabólicas del VHC	60
4.1.1. Modificaciones en el metabolismo glucídico e insulinoresistencia (IR)	60
A) IR cofactor de progresión de la fibrosis hepática en VHC.....	61
B) Mecanismos moleculares de la IR en la hepatitis C	62
C) Valoración de la IR	63
4.1.2. Esteatosis hepática en pacientes con infección crónica por VHC	64
4.1.3. Modificación del metabolismo lipídico por el VHC	67
4.2. Estudios de riesgo cardiovascular en pacientes con infección crónica por VHC	68
4.2.1. VHC y aterosclerosis.....	70
4.2.2. VHC y enfermedad cerebrovascular.....	73
4.2.3. VHC y riesgo cardiovascular	75
4.3. Estudios de riesgo cardiovascular tras el tratamiento antiviral del VHC	79
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	85
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	89
Hipótesis.....	90
Objetivos	90
MATERIAL Y MÉTODOS	92
1. Diseño.....	93
2. Ámbito de estudio y consideraciones éticas	93
3. Sujetos a estudio	94
3.1- Participantes	94
3.2 - Criterios de inclusión.....	94
3.3 - Criterios de exclusión	94
4. Tamaño muestral. Periodo de estudio.....	96
5. Plan de trabajo	96
6. Variables a estudio	98
1- Variables identificativas	98
2-VARIABLES RESULTADO	98
A) Metodología del estudio ecográfico arterial	98

B) Recogida de los datos clínicos y analíticos.....	104
3-VARIABLES explicativas.....	105
A) Variables clínico epidemiológicas de los pacientes	105
B) Variables analíticas de los pacientes.....	107
C) Variables del estudio vascular ecográfico	109
D) Variables relacionadas con la infección por VHC y la enfermedad hepática.....	110
7. Análisis estadístico	111
RESULTADOS	115
* LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC Y SU ASOCIACIÓN CON LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA	116
1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO	116
1.1. Características clínico-epidemiológicas y analíticas.....	116
1.2. Características virales y de la enfermedad hepática	118
1.3. Características del estudio vascular ecográfico	120
2. ANÁLISIS ANALÍTICO	123
A) COMPARACIÓN DE LA PRESENCIA DE ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA EN PACIENTES INFECTADOS CON VHC FRENTE A UN GRUPO CONTROL (SIN INFECCIÓN POR VHC).	123
1.1. Diferencias y similitudes entre las dos poblaciones a estudio	123
1.1.1. Características clínico-analíticas.....	123
1.1.2. Características del estudio ecográfico vascular	126
1.2. Factores de riesgo que influyen en la presencia de la placa de ateroma según la población estudiada	130
1.2.1. La edad como factor de riesgo de ateromatosis subclínica	132
1.2.2. El perfil lipídico y glucídico en pacientes con presencia de placa de ateroma ..	136
1.3. Factores de riesgo que influyen en la ateromatosis subclínica en la muestra total	137
1.3.1. Factores de riesgo asociados al aumento del GIM	137
1.3.2. Factores de riesgo asociados a la presencia de placa de ateroma	138
1.3.3. Factores asociados a la composición lipídica de la placa de ateroma	141
B) FACTORES DEL VHC QUE INFLUYEN EN LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA	144
1. Características virales asociadas a ateromatosis subclínica en pacientes con infección crónica por VHC	144
1.1. Factores virales asociados al aumento de GIM.....	144
1.2. Factores virales asociados a la presencia de placa	146
2. Distribución del perfil lipídico y glucídico en pacientes con infección crónica por VHC	151

2.1. Según el genotipo viral	151
2.2. Según la fibrosis hepática	153
3. Distribución del perfil lipídico y glucídico en los pacientes VHC con presencia de placas de ateroma	155
3.1. Según el genotipo viral	155
3.2. Según la fibrosis hepática	156
4. Características del estudio ecográfico según el genotipo viral y el grado de fibrosis hepática en los pacientes con infección por VHC.	158
* MODIFICACIÓN DE LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA TRAS EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC CON ANITVIRALES DE ACCIÓN DIRECTA (AAD)	162
1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO:	162
1.1. Características clínico-analíticas y virales de los pacientes con infección crónica por VHC antes del tratamiento con AAD	162
1.2. Terapia antiviral recibida	164
2. ANÁLISIS ANALÍTICO:	165
2.1. Modificación de la ateromatosis subclínica tras la terapia antiviral	165
2.2. Modificación de la enfermedad hepática tras la terapia antiviral	167
2.3. Modificaciones clínico-analíticas tras la terapia antiviral	168
2.4. Modificación del estudio ecográfico tras la terapia antiviral	169
2.5. Modificación de la ateromatosis subclínica tras la terapia antiviral por subgrupos (Factores de riesgo cardiovascular, fibrosis hepática y genotipo viral)	171
DISCUSIÓN	176
* LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC Y SU ASOCIACIÓN CON LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA.	177
1. Asociación del VHC y la ateromatosis subclínica	177
2. Comparación de la ateromatosis subclínica en los pacientes infectados con VHC frente a un grupo control (pacientes sin infección por VHC).	185
A) Factores de riesgo asociados a ateromatosis subclínica en cada población	190
B) Factores de riesgo independientes de ateromatosis subclínica.	193
C) Factores de riesgo asociados con la composición lipídica de la placa de ateroma	195
3. Características virales que se asocian con ateromatosis subclínica.	197
A) Distribución del perfil lipídico y glucídico en los pacientes con VHC según el genotipo y la fibrosis hepática	201
B) Distribución del perfil lipídico y glucídico en pacientes con VHC y placas de ateroma.	203
C) Características del estudio vascular ecográfico según los factores virales	204

* MODIFICACIÓN DE LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA TRAS EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC CON ANTIVIRALES DE ACCIÓN DIRECTA (AAD).....	207
CONCLUSIONES	219
BIBLIOGRAFÍA.....	224
ANEXOS	248
ANEXO 1: Hoja de información y consentimiento	249
ANEXO 2: Aprobación del uso de pacientes control del estudio NEFRONA.....	251
ANEXO 3: Publicaciones durante la tesis: artículos & comunicaciones a congresos	258
* Artículos a revistas científicas:	258
*Comunicaciones a congresos:	261

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del VHC.....	27
Figura 2. Esquema del genoma del VHC.....	28
Figura 3. Esquema de la replicación del VHC en el hepatocito	29
Figura 4. Distribución mundial de los diferentes genotipos del VHC.....	30
Figura 5. Historia natural de la infección por el VHC.	33
Figura 6. Dianas en el tratamiento del VHC.	42
Figura 7. Pautas de tratamiento recomendadas para el VHC	43
Figura 8. Fenómenos e interacciones de la aterosclerosis.....	44
Figura 9. Imagen ecográfica de la bifurcación carotídea.	48
Figura 10. Esquema de la medición del GIM y de la placa de ateroma.	50
Figura 11. Clasificación de la ecogenicidad de la placa con eco-doppler.....	55
Figura 12. Ecogenicidad de la placa de ateroma por GSM.....	57
Figura 13. Ecogenicidad de la placa por escala de color	58
Figura 14. Mecanismos del desarrollo de IR en la infección por VHC.....	63
Figura 15. Formación de la esteatosis hepática en la infección crónica por VHC.....	67
Figura 16. Mecanismos entre la infección por VHC y la enfermedad cardiovascular...	70
Figura 17. Metaanálisis: infección por VHC y aterosclerosis.....	73
Figura 18. Aterosclerosis y posible efecto de la eliminación del VHC con AAD.....	83
Figura 19. Segmentos vasculares estudiados en arterias carotídeas y femorales.....	99
Figura 20. Evaluación del eje vascular con el ecógrafo: corte axial y longitudinal	100
Figura 21. Método de análisis computadorizado de la composición de la placa.....	103
Figura 22. Porcentaje de genotipo viral en la muestra estudiada	119
Figura 23. Porcentaje de pacientes según fibrosis hepática	120
Figura 24. Tipo de placas de ateroma detectadas según la composición ecográfica en los pacientes con infección crónica por VHC.....	122
Figura 25. Porcentaje de pacientes con factores de riesgo de síndrome metabólico según la población estudiada	126
Figura 26. Porcentaje de presencia de placa de ateroma (A) y medida de GIM (B) según la población estudiada.....	127

Figura 27. Distribución del tipo de placas de ateroma según composición predominante en cada población.....	129
Figura 28. Curva ROC para predecir el punto de corte de edad y presencia de placa.	133
Figura 29. Presencia de placa de ateroma según población a estudio y la edad.....	134
Figura 30. Porcentaje de pacientes con placa según población por tramo de edad....	135
Figura 31. Distribución de las placas lipídicas según la edad y la infección por VHC...	144
Figura 32. Distribución del GIM según el genotipo viral.	14545
Figura 34. Distribución del GIM según el grado de fibrosis hepática por el VHC.	146
Figura 35. Distribución de placa de ateroma según el grado de fibrosis hepática	148
Figura 36. Distribución de placa según genotipo viral y fibrosis hepática.....	149
Figura 37. Diferencias entre los niveles de HDL colesterol según el genotipo viral.....	152
Figura 38. Diferencias entre los niveles de lípidos según la fibrosis hepática	154
Figura 39. Distribución del perfil lipídico y glucídico en pacientes con infección VHC con genotipo 1 con y sin placa de ateroma	156
Figura 40. Distribución de tipo de placas según el genotipo viral.....	161
Figura 41. Distribución de tipo de placas según la fibrosis hepática	161
Figura 42. Terapia antiviral recibida en pacientes con infección VHC con AAD	164
Figura 43. Cambios en el GIM y la presencia de la placa tras 12 meses de la terapia.	166
Figura 44. Distribución de la fibrosis hepática tras 12 meses de la terapia.....	168
Figura 45. Modificación del territorio vascular afecto tras 12 meses de la terapia.....	170
Figura 46. Cambios en la composición de las placas tras 12 meses de la terapia.	171
Figura 47. Cambios en las placas tras 12 meses de AAD según la fibrosis hepática....	173
Figura 48. Cambios en las placas tras 12 meses de AAD según el genotipo viral	174

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estudios que asocian infección por VHC y ateromatosis.....	72
Tabla 2. Estudios que asocian infección por VHC y enfermedad cerebrovascular.	74
Tabla 3. Estudios que asocian la infección por VHC y enfermedad cardiovascular.	78
Tabla 4. Características clínico-epidemiológicas y analíticas de los pacientes con infección crónica con VHC estudiados.	117
Tabla 5. Estudio vascular ecográfico en pacientes con infección crónica por VHC	121
Tabla 6. Características clínico-analíticas de los grupos estudiados	124
Tabla 7. Estudio ecográfico vascular según las poblaciones	128
Tabla 8. Factores asociados a la presencia de placa en las poblaciones estudiadas. ...	130
Tabla 9. Análisis multivariante: factores de riesgo asociados a la presencia de placas de ateroma según la población estudiada.	132
Tabla 10. Comparación de las variables analíticas en pacientes con placas según la población	136
Tabla 11. Factores de riesgo asociados con el aumento del GIM	138
Tabla 12. Análisis bivariante de factores de riesgo asociados a presencia de placa ...	139
Tabla 13. Análisis multivariante de factores de riesgo independiente de ateromatosis subclínica	141
Tabla 14. Factores de riesgo asociados con la presencia de placas lipídicas	142
Tabla 15. Factores de riesgo asociados con la composición de la placa de ateroma ..	143
Tabla 16. Características clínicas-analíticas y virales de los pacientes con VHC según presencia de placa	147
Tabla 17. Análisis multivariante de los factores de riesgo asociados con placa de ateroma en pacientes con infección crónica por VHC	150
Tabla 18. Distribución del perfil lipídico y glucídico según el genotipo viral	152
Tabla 19. Distribución del perfil lipídico y glucídico según la fibrosis hepática	153
Tabla 20. Distribución del perfil lipídico e IR según fibrosis hepática.....	157
Tabla 21. Características del estudio vascular ecográfico según el genotipo viral	158
Tabla 22. Características del estudio vascular según el grado de fibrosis hepática	159
Tabla 23. Características de los pacientes VHC tratados con AAD.....	163

Tabla 24. Características de la enfermedad hepática de los pacientes VHC antes y después de 12 meses de AAD.....	167
Tabla 25. Características clínico- analíticas de los pacientes VHC antes y después de 12 meses de AAD.....	169
Tabla 26. Características del estudio ecográfico vascular antes y después de 12 meses de AAD	170
Tabla 27. Cambios del GIM y la placa de ateroma antes y después de 12 meses de AAD por subgrupos.....	172

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La infección crónica por VHC produce afectación principalmente hepática, pero también es una enfermedad sistémica, que en los últimos años se ha relacionado con el desarrollo de ateromatosis subclínica. El uso reciente de antivirales de acción directa permite la curación del VHC, pero se desconoce el posible efecto de la eliminación de este sobre las manifestaciones extrahepáticas.

OBJETIVO: Analizar si la infección por VHC es un factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica, conocer las características que influyen en la presencia y la composición de las placas de ateroma, así como su modificación tras 12 meses de la terapia con AAD.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio prospectivo que compara 185 pacientes VHC+ con diferentes genotipos y fibrosis hepática antes de los AAD, frente a 411 sujetos sin infección, con similar riesgo cardiovascular.

La ateromatosis subclínica (GIM y presencia de placas) y la composición (porcentaje de lípidos, fibrosis y calcio en las placas por software HEMODYN 4) se evaluó con ecografía vascular en territorio carotídeo y femoral al inicio y tras 12 meses de la terapia.

RESULTADOS: Se detectó mayor GIM (0,83mm vs 0,73mm; $p=0,045$), presencia de placa de ateroma (63% vs 44%; $p<0,001$) y composición lipídica (50% vs 29%; $p<0,001$) en los pacientes infectados con VHC que en los controles.

El porcentaje de lípidos en las placas se asoció con la edad y el VHC ($p<0,001$).

Los factores de riesgo independientes de ateromatosis subclínica fueron la infección crónica por VHC (OR = 2,64), el sexo masculino (OR= 2,79), la edad (OR= 1,08, con un

RR= 3,11 en pacientes infectados menores de 55 años), el tabaquismo (OR= 3,25), la tensión arterial sistólica (OR= 1,02) y el índice de insulinoresistencia (TyG, OR= 3,18).

Respecto a características virales, solo influyó el genotipo (OR= 2,46, con un riesgo de placa de 45,4% en G2, 55,3% en G1, 78,8% en G4 y 94,4% en G3) independiente de la fibrosis hepática.

Tras 12 meses de la respuesta viral sostenida con antivirales, evaluamos 85 pacientes que completaron el seguimiento, sin detectar modificación ni del GIM (0,74mm vs 0,81mm; $p= 0,068$) ni de la presencia de placas (66% vs 72%; $p=0,063$). Estos resultados se mantuvieron al analizar por subgrupos de riesgo cardiovascular y enfermedad hepática. Respecto a la composición, se observó una leve tendencia a la disminución de lípidos en las placas (49,49% vs 47,08%; $p= 0,305$). Tras este periodo, detectamos una mejoría significativa de la esteatosis y rigidez hepática por Fibroscan, pero un aumento de los niveles séricos de colesterol ($p<0,001$).

CONCLUSIONES: La infección crónica por VHC es un factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica precoz, con placas predominantemente lipídicas más vulnerables; por lo que la ecografía arterial es un método no invasivo que mejora la evaluación del riesgo cardiovascular en esta población.

Tras 12 meses de la erradicación del VHC con AAD no mejora la ateromatosis subclínica de forma global ni al ajustar por factores de riesgo cardiovascular o severidad de la fibrosis hepática.

RESUM

INTRODUCCIÓ: La infecció crònica per VHC produeix afectació principalment hepàtica, però també és una malaltia sistèmica, que en els últims anys s'ha relacionat amb el desenvolupament de ateromatosis subclínica. L'ús recent d'antivirals d'acció directa permet la curació del VHC, però es desconeix el possible efecte de l'eliminació d'aquest sobre les manifestacions extrahepàtiques.

OBJECTIU: Analitzar si la infecció per VHC és un factor de risc independent d'ateromatosis subclínica, conèixer les característiques que influeixen en la presència i la composició de les plaques d'atheroma, així com la seva modificació després de 12 mesos de la teràpia amb AAD.

MATERIAL I MÈTODES: Estudi prospectiu que compara 185 pacients VHC + amb diferents genotips i fibrosi hepàtica abans dels AAD, davant de 411 subjectes sense infecció, amb similar risc cardiovascular.

L'ateromatosis subclínica (GIM i presència de plaques) i la composició de les plaques (percentatge de lípids, fibrosi i calci en les plaques per programari HEMODYN 4) es va avaluar amb ecografia vascular en territori carotí i femoral a l'inici i després de 12 mesos de la teràpia.

RESULTATS: Es va detectar major GIM (0,83mm vs 0,73mm; $p = 0,045$), placa d'atheroma (63% vs 44%; $p < 0,001$) i composició lipídica (50% vs 29%; $p < 0,001$) en els pacients infectats amb VHC que en els controls.

El percentatge de lípids en les plaques es va associar amb l'edat i el VHC ($p < 0,001$).

Els factors de risc independent d'ateromatosis subclínica van ser la infecció crònica per VHC (OR = 2,64), el sexe masculí (OR = 2,79), l'edat (OR = 1,08, amb un RR = 3,11 en

pacients infectats menors de 55 anys), el tabaquisme (OR = 3,25), la tensió arterial sistòlica (OR = 1,02) i l'índex de insulinoresistència (TIG, OR = 3,18).

Pel que fa a característiques virals, només va influir el genotip (OR = 2,46, amb un risc de placa de 45,4% al G2, 55,3% en G1, 78,8% en G4 i 94,4% en G3) independent de la fibrosi hepàtica.

Després de 12 mesos de resposta viral sostinguda amb antivirals, avaluem 85 pacients que van completar el seguiment, sense detectar modificació ni del GIM (0,74 mm vs 0,81mm; $p = 0,068$) ni de la presència de plaques (66% vs el 72%; $p = 0,063$). Aquests resultats es van mantenir en analitzar per subgrups de risc cardiovascular i malaltia hepàtica. Pel que fa a la composició, es va observar una lleu tendència a la disminució de lípids en les plaques (49,49% vs 47,08%; $p = 0,305$). Després d'aquest període, vam detectar una millora significativa de l'esteatosi i fibrosi hepàtica per Fibroscan, però un augment dels nivells sèrics de colesterol ($p < 0,001$).

CONCLUSIONS: La infecció crònica per VHC és un factor de risc independent d'ateromatosis subclínica precoç, amb plaques predominantment lipídiques més vulnerables, de manera que l'ecografia arterial és un mètode no invasiu que millora l'avaluació de risc cardiovascular en aquesta població.

Després de 12 mesos de l'eradicació del VHC amb AAD no millora l'ateromatosis de forma global ni a l'ajustar per factors de risc cardiovascular o severitat fibrosi hepàtica.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Chronic HCV infection causes mainly liver disease, but it is also a systemic disease, which has been linked to the development of subclinical atheromatosis in recent years. The recent use of direct-acting antivirals allows the healing of HCV, but the possible effect of the elimination of this on extrahepatic manifestations is unknown.

OBJECTIVE: To analyze if HCV infection is an independent risk factor of subclinical atheromatosis, to know the characteristics that influence the presence and composition of atheromatous plaques, as well as its modification after 12 months of the therapy with DAA.

MATERIAL AND METHODS: Prospective study comparing 185 HCV + patients with different genotypes and liver fibrosis before DAA, compared to 411 subjects without infection, with similar cardiovascular risk.

Subclinical atheromatosis (IMT and presence of plaques) and composition (percentage of lipids, fibrosis and calcium in the plates by software HEMODYN 4) were evaluated with vascular ultrasound in the carotid and femoral territory at the beginning and after 12 months of therapy.

RESULTS: Higher IMT was detected (0.83mm vs 0.73mm, $p = 0.045$), presence of atheromatous plaques (63% vs 44%, $p < 0.001$) and lipid composition (50% vs 29%, $p < 0.001$) in patients infected with HCV than in controls.

Percentage of lipids in the plaques was associated with age and HCV ($p < 0.001$).

The independent risk factors for subclinical atheromatosis were chronic HCV infection (OR = 2.64), male sex (OR = 2.79), age (OR = 1.08, with a RR = 3.11 in infected patients

under 55 years of age), smoking (OR = 3.25), systolic blood pressure (OR = 1.02) and insulin resistance index (TyG, OR = 3.18).

Regarding viral characteristics, only genotype influenced (OR = 2.46, with a plaque risk of 45.4% in G2, 55.3% in G1, 78.8% in G4 and 94.4% in G3) independent of liver fibrosis.

After 12 months of sustained virological response with antivirals, we evaluated 85 patients completed the follow-up, without detecting change in IMT (0.74mm vs 0.81mm, $p = 0.068$) or presence of plaques (66% vs 72%, $p = 0.063$). These results were maintained when analyzing by subgroups of cardiovascular risk and liver disease. Regarding composition, there was a slight tendency to decrease lipids in the plaques (49.49% vs 47.08%, $p = 0.305$). After this period, we detected a significant improvement in steatosis and liver stiffness by Fibroscan, but an increase in serum cholesterol levels ($p < 0.001$).

CONCLUSIONS: Chronic HCV infection is an independent risk factor for early subclinical atheromatosis, with predominantly more vulnerable lipid plaques; therefore, arterial ultrasound is a non-invasive method that improves evaluation of cardiovascular risk in this population.

After 12 months of eradication of HCV with DAA, subclinical atheromatosis does not improve globally or by adjusting for cardiovascular risk factors or severity of liver fibrosis.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento con antivirales de acción directa (AAD) está modificando considerablemente el curso de la infección por el virus de la hepatitis crónica C (VHC), ya que se consiguen tasas de curación superiores al 95%, con una mayor supervivencia y mejoría en la calidad de vida en los pacientes infectados (1). La infección por VHC es una de las principales causas de enfermedad hepática crónica y de carcinoma hepatocelular, pero también se asocia con manifestaciones extrahepáticas e importantes alteraciones metabólicas (2,3). Recientes estudios (4,5) sugieren que la infección crónica por VHC es un factor de riesgo independiente para la arteriosclerosis carotídea, enfermedad coronaria y accidente cerebrovascular; sin embargo son poco concluyentes (6-10) y por el momento se desconoce el posible efecto tras la eliminación del VHC con AAD (11).

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria generalizada y dinámica, silente durante años que puede progresar o regresar dependiendo de múltiples factores. Este proceso se inicia por el depósito de lípidos en el endotelio vascular, progresando hacia la formación de placas de ateroma. En estadios avanzados la trombosis y la oclusión arterial, son responsables de las manifestaciones clínicas (12,13) así como la composición de las placas, siendo las placas lipídicas más inestables, lo que provoca mayor número de eventos cardiovasculares (ECV). Para el estudio de la ateromatosis subclínica, se utiliza la ecografía vascular, que se considera un marcador subrogado de riesgo cardiovascular (RCV) y contribuye a la estratificación de pacientes asintomáticos (14). Se evalúa el grosor íntima-media (GIM) en las arterias carótidas y la presencia de placas tanto en territorio carotídeo como femoral, que se asocian con riesgo vascular y mayor incidencia de ECV (15).

Esta técnica es fiable y segura, con una relación coste-eficacia excelente, por lo que su uso en poblaciones con alta probabilidad de ateromatosis, como los pacientes infectados por VHC, puede contribuir a valorar el riesgo cardiovascular y su modificación tras la erradicación del virus con los nuevos antivirales.

1. INFECCIÓN POR VHC

Desde la identificación del VHC en 1989 como la causa más frecuente de hepatitis no-A no-B, se conocen multitud de datos clínico-epidemiológicos y moleculares del virus, sin embargo otros aspectos, como la ateromatosis, continúan sin conocerse del todo (16).

1.1. VHC, Epidemiología y mecanismo de transmisión.

1.1.1. Estructura del VHC.

El VHC es el único miembro del género Hepacivirus de la familia Flaviviridae. Es un virus cubierto por una envoltura externa con lípidos procedentes de las membranas del huésped y glucoproteínas virales, E1 y E2. En su interior se localiza la cápside, formada por la proteína del Core y más internamente el genoma con una sola cadena de ARN.

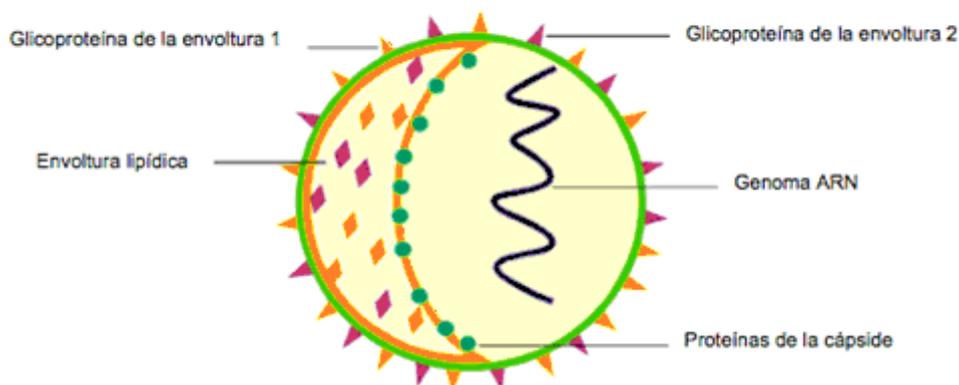


Figura 1. Estructura del VHC

La región codificante del genoma produce una poliproteína que es fragmentada dando lugar a las proteínas de la cubierta estructural y de la nucleocápside (Core, E1, E2) y las proteínas no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS5A, NS5B) con diversas funciones en la replicación y el ensamblaje viral (17), así como en los mecanismos de evasión al sistema inmune del huésped. Es un virus de replicación preferencial en el citoplasma de los hepatocitos pero no es directamente citopático (18).

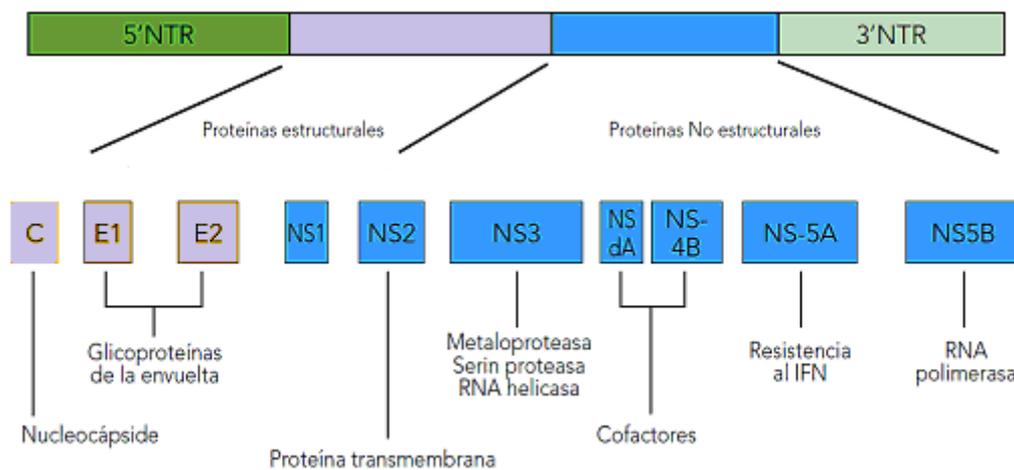


Figura 2. Esquema del genoma del VHC

1.1.2. Replicación del VHC.

El VHC circula en sangre unido a las VLDL y LDL, formando lipo-viro-partículas que son la fracción infecciosa, pero también unido a inmunoglobulinas o de forma libre.

La entrada del virus ocurre por la unión de las proteínas de la envoltura a los lípidos de la membrana del hepatocito. Se libera al citoplasma celular, donde pierde la envoltura y la cápside. El ARN del VHC se traduce en proteínas estructurales (Core, E1 y E2) NS1 y proteínas no estructurales que actúan unidas NS2-NS3-NS4A, NS4B y NS5A y NS5B. NS5B constituyen la maquinaria de replicación del ARN (19). La particularidad del VHC es que su ciclo de vida está asociado al metabolismo lipídico, sobre todo a la lipoproteína ApoB y E. Las proteínas víricas están íntimamente relacionadas con las “gotas de lípidos” o vesículas de membranas derivadas del retículo endoplasmático del hepatocito, por lo que el virión tiene una composición similar a las LDL y VLDL del huésped (20).

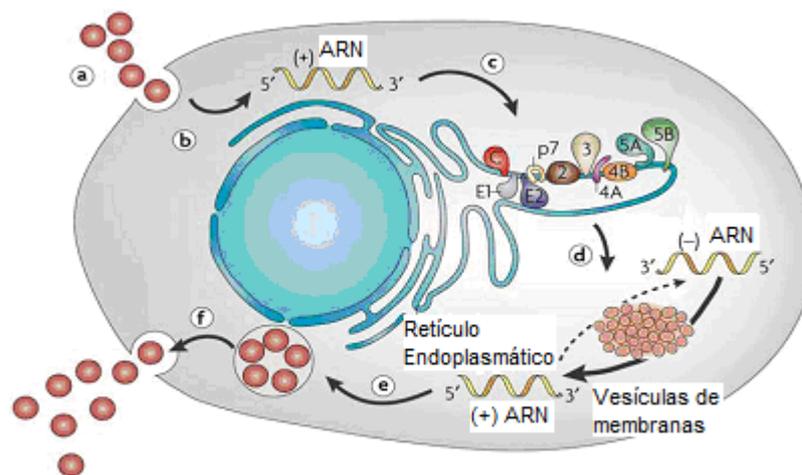


Figura 3. Esquema de la replicación del VHC en el hepatocito

* Modificado de Moradpour D. *Nat Rev Microbiol.* 2007. ⁽¹⁹⁾

- a) entrada viral, b) traducción del ARN viral, c) procesamiento de la lipoproteína por las proteasas celulares, d) replicación del ARN viral, e) ensamblaje y encapsidación y f) liberación del virión.

1.1.3. Heterogeneidad genética del VHC. Genotipo. Cuasiespecies.

Uno de los problemas de la replicación viral del VHC es que produce errores aleatorios, lo que conlleva a la aparición de una población vírica heterogénea. Muchas de estas sustituciones no se reproducen o son silentes; pero otras pueden inducir alteraciones en la biología del virus, por lo que en un mismo individuo coexisten diferentes cuasiespecies que se relacionan con el desarrollo de la respuesta inmune (21).

Esta heterogeneidad genética del VHC explica la existencia de varios genotipos y subtipos. Se han identificado principalmente 6 genotipos del VHC con más de 100 subtipos. El genotipo 1, es el más frecuente (40 – 80%) y existe en todo el mundo, así como el genotipo 2 (10 – 40%) pero el resto de genotipos depende de áreas geográficas específicas (22).

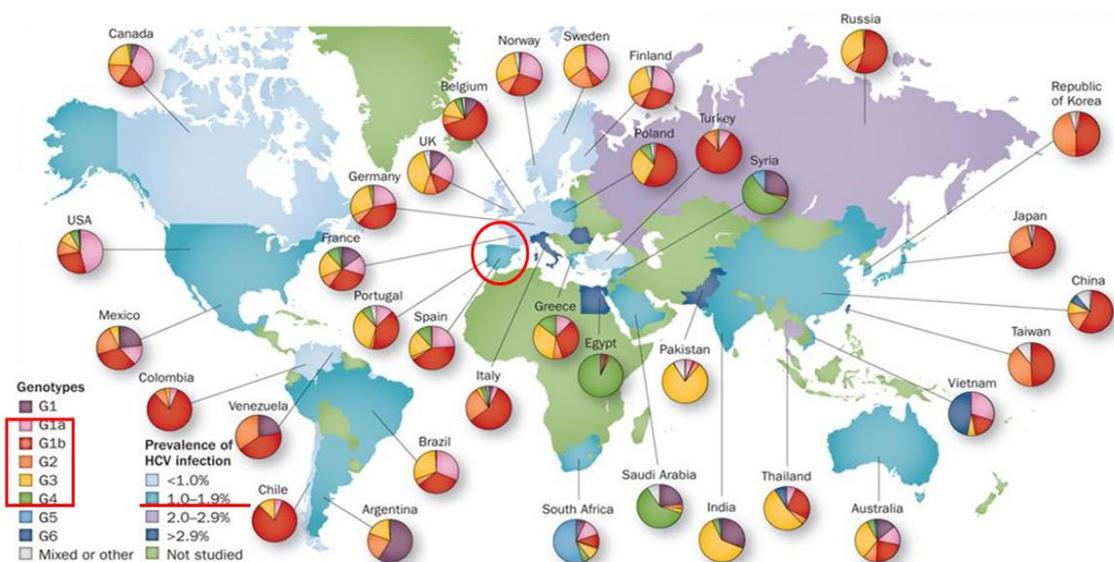


Figura 4. Distribución mundial de los diferentes genotipos del VHC.

*Modificado de: Hajarizadeh B. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2013. (22)

En España predomina el genotipo 1, en el 61% de los casos (G1b 35% y G1a 26%). Pero también se han detectado porcentajes elevados del genotipo 3 (14%) y genotipo 4 (11%) por los usuarios de drogas vía parenteral y el incremento de la inmigración (23).

1.1.4. Epidemiología del VHC.

La infección crónica por VHC representa una epidemia global, constituyendo la principal causa de mortalidad hepática y extrahepática, así como la primera indicación de trasplante hepático hasta el descubrimiento de los antivirales de acción directa.

Se estima una prevalencia del 2-3% en la población mundial (aproximadamente 170 a 240 millones de personas) aunque varía mucho entre los continentes (1,24). Se considera que el 75% de pacientes infectados no lo saben, diagnosticándose sólo cuando presentan complicaciones de la infección crónica. En España en el 2015, se estimaba una prevalencia del 1 – 2,6%, lo que supone entre 480.000 y 760.000 personas infectadas (25).

1.1.5. Factores de riesgo. Vías de transmisión.

La forma más común de transmisión es por vía sanguínea y fue una importante forma de transmisión previa al cribado del VHC en 1990. (26):

--- Drogadicción por vía parenteral: fue la principal vía de contagio hasta 1989 que disminuyó en relación con los programas de intercambio de jeringuillas y la metadona. Hoy en día, este grupo se presenta solo en algunas áreas geográficas.

--- Transmisión nosocomial (en relación con los procedimientos invasivos y cirugías), transfusiones y hemodiálisis: también fueron una importante vía hace 20 años, antes del cribado del VHC en los bancos de sangre y normas de higiene hospitalarias.

--- Transmisión sexual: no se conoce exactamente la incidencia pero es más baja que en las infecciones por VHB y VIH. Recientemente se ha descrito un creciente número de casos en varones homosexuales con múltiples parejas sexuales.

--- Transmisión vertical: entre un 4-5% en madres con viremia, pero el 20% de los niños negativizan el ARN del VHC en los tres primeros años de vida.

--- El VHC se ha aislado en líquido cefalorraquídeo, lágrimas, ascitis, sudor y semen. Sin embargo, los estudios epidemiológicos no avalan la transmisión por estas vías, solo en situaciones excepcionales.

1.2. Historia natural de la infección por VHC: Afectación hepática y extrahepática.

La historia natural de la infección por VHC no se conoce bien, dado el carácter asintomático de la enfermedad durante muchos años.

La infección por VHC empieza con una fase aguda, en ocasiones levemente sintomática, que ocurre en los 6 primeros meses tras la exposición viral. La infección puede curarse espontáneamente, pero la mayoría cronifica (55-85%). El marcador más precoz de infección es el ARN-VHC y puede detectarse desde la primera semana de la infección, con títulos fluctuantes. La aparición del anti-VHC se demora incluso hasta 9

meses. El 5-25% de estos pacientes con infección crónica, desarrollará cirrosis en los siguientes 20 años, y una vez establecida la cirrosis el riesgo de desarrollar una complicación o hepatocarcinoma se sitúa en el 1-4% anual (27).

El riesgo de cronicidad depende de la vía de transmisión, la presencia de síntomas en la fase aguda (48-75% en sintomáticos y 85-90% en asintomáticos), la edad de adquisición de la infección (superior en mayores de 40 años) y del genotipo. Numerosos factores pueden favorecer la progresión de la fibrosis: el sexo masculino, los años de infección, la presencia de factores metabólicos (obesidad, esteatosis y diabetes mellitus), el uso de tratamiento inmunosupresor, la coinfección con el VIH o VHB, el consumo de alcohol (28)...

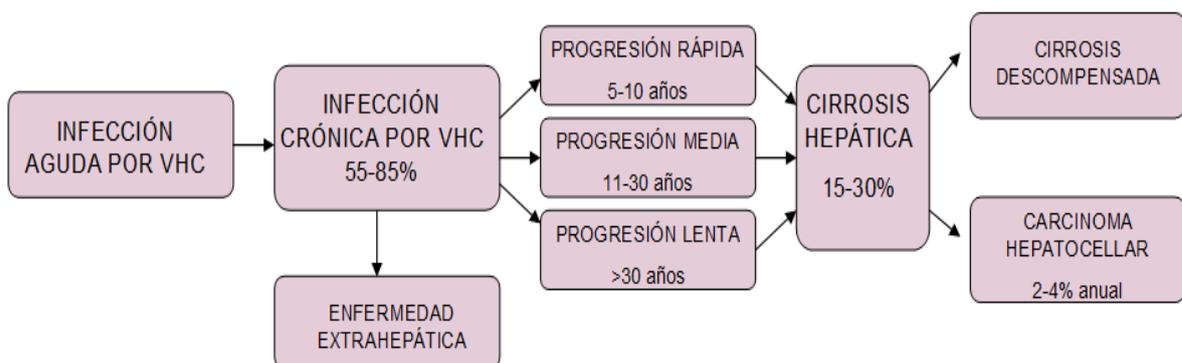


Figura 5. Historia natural de la infección por el VHC.

1.2.1. Clínica de la infección hepática por el VHC.

---- Infección aguda: La hepatitis aguda ocurre después de un período de incubación variable de 15 a 160 días, aunque sólo el 20-30% de los casos presentan clínica. Los síntomas prodrómicos son sistémicos y variables. La aparición de la ictericia puede estar precedida por 1 ó 2 semanas de anorexia, náuseas, vómitos, artralgias, astenia y dolor en hipocondrio derecho por hepatomegalia. La fase de recuperación se prolonga de 2 a 12 semanas. La eliminación espontánea se produce en el 23-44% de los casos y suele ocurrir dentro de las 12 semanas después del diagnóstico.

---- Infección crónica: La evolución de la hepatitis crónica por VHC cursa con escasas manifestaciones clínicas. Las transaminasas pueden mantenerse elevadas en el tiempo, pero también presentan fluctuaciones e incluso períodos de normalidad. La evolución a cirrosis hepática suele ocurrir al cabo de aproximadamente 20 años. Los enfermos con cirrosis establecida permanecen asintomáticos mucho tiempo, hasta que presentan episodios de descompensación por el desarrollo de hipertensión portal (descompensación edemato-ascítica, encefalopatía hepática y sangrado digestivo por varices esofágicas) o la aparición de un hepatocarcinoma.

1.2.2. Manifestaciones extrahepáticas de la infección crónica por el VHC.

Los pacientes con infección crónica por el VHC pueden desarrollar patologías extrahepáticas, secundarias a una hiperestimulación del sistema inmune. Las principales manifestaciones son: la crioglobulinemia mixta esencial con manifestaciones clínicas renales y de vasculitis; la glomerulonefritis membranoproliferativa y la porfiria cutánea tarda. Sin embargo, se ha descrito la asociación con otras muchas enfermedades con un componente autoinmune, tumoral (linfomas) y metabólico (29).

1.3. Métodos diagnósticos del VHC.

1.3.1. Diagnóstico virológico.

El diagnóstico de infección aguda o crónica del VHC requiere la detección del anti-VHC y del ARN-VHC. Se recomienda realizar en pacientes con sospecha de infección crónica por VHC, primero la detección de anti-VHC, al ser más sensible. No es una técnica muy específica, por lo que se debe realizar cribado sólo en aquellas personas con sospecha de estar infectadas. La carga o ARN viral se realiza mediante la aplicación de técnicas basadas en reacción en cadena de la polimerasa y el genotipo viral mediante técnicas de secuenciación directa o de hibridación (30).

1.3.2. Valoración de la fibrosis hepática.

La biopsia hepática es la prueba de oro para determinar el grado de inflamación y el estadio de fibrosis en la infección crónica por VHC, pero es una prueba invasiva con riesgo de complicaciones. Los hallazgos histológicos de esta hepatitis crónica son la presencia de infiltrado inflamatorio por linfocitos, la necrosis de los hepatocitos en el lobulillo y el depósito de colágeno y grasa (desde zona portal hasta lobulillar).

Existen métodos no invasivos para cuantificar la fibrosis hepática, como el Fibroscan o elastografía por transición. Es una técnica ultrasonográfica que mide la velocidad de propagación de un impulso mecánico a través del tejido hepático o elasticidad hepática. El parénquima sano es poco favorable a la propagación, mientras que el incremento de fibrosis endurece el hígado y favorece la propagación. Los estudios de validación en el VHC han demostrado que es el método no invasivo más fiable para diagnosticar la cirrosis (31). Otros métodos no invasivos son los marcadores serológicos: una combinación de parámetros sanguíneos que pretenden reflejar los estadios de fibrosis (APRI o índice de Forns), marcadores indirectos de fibrosis (FibroTest) o marcadores directos (FI BROspect II). La combinación de biomarcadores o de elastografía y biomarcadores, incrementa la capacidad diagnóstica de cada una de las técnicas por separado (32).

2. TRATAMIENTO ANTIVIRAL

El objetivo del tratamiento es evitar la progresión de la enfermedad y el desarrollo de complicaciones asociadas al VHC, que se alcanza con la erradicación viral.

La respuesta viral sostenida (RVS) se define como la negativización del ARN del VHC a las 24 semanas después de haber finalizado el tratamiento. Se ha demostrado que se asocia con la curación de la infección a largo plazo en más del 99% de los pacientes.

Desde el uso en 1991 del Interferón (IFN) estándar en el tratamiento del VHC, se ha aumentado lentamente los porcentajes de curación del 10% hasta el 50% de los casos, primero con la incorporación de Ribavirina y más tarde con la del Interferón pegilado. Los tratamientos basados en IFN son tratamientos largos (24-48-72 semanas según el genotipo y la carga viral) con gran número de efectos adversos, especialmente en los casos de hepatopatía avanzada, lo que limita su aplicabilidad.

A partir de 2011, gracias al mejor conocimiento molecular del virus, el uso de nuevos medicamentos inhibidores de proteasas (IP) aumentaron las tasas de curación hasta el 70%. Finalmente en 2015 los AAD son capaces de eliminar de forma sostenida la replicación del virus entre un 85 y 100% de los casos. Estos regímenes terapéuticos libres de IFN causan escasos efectos adversos y permiten tratamientos de duración menor con escasa monitorización. En ese año, en España se implanta el Plan nacional para el tratamiento de la hepatitis C (guía Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH), priorizando el tratamiento según la severidad de la infección por los costes, indicándose principalmente en casos de fibrosis hepática significativa (\geq F2), enfermedad extrahepática severa, mujeres con deseo de procrear y pacientes con prácticas de riesgo para la transmisión del VHC.

En 2017 el tratamiento se amplia a todos los pacientes con infección activa por VHC independientemente de la afectación del hígado, salvo en pacientes con comorbilidades que acortan la esperanza de vida; incorporándose nuevos fármacos pangenotípicos, que mejoran las tasas de curación sobre todo en los pacientes no respondedores o con resistencias (33).

2.1. Monoterapia y biterapia

- Como ya se ha comentado, el tratamiento del VHC comenzó con el IFN estándar administrado por vía subcutánea tres veces por semana. Es una glicoproteína con actividad antiviral (inhibe la síntesis de proteínas virales), antiproliferativa (evita la transcripción del ARN viral) e inmunomoduladora (potencia la acción del sistema inmune del huésped). En el 2000, se cambió por IFN pegilado, permitiendo su administración una vez a la semana. Este tratamiento dobló las tasas de curación comparado con el régimen estándar (24% vs 12%) pero se asoció a un mayor número de efectos secundarios (síntomas pseudogripales, descompensación hepática, sepsis, mielosupresión, trastornos psiquiátricos) limitando su aplicación en muchos pacientes (33).

- La Ribavirina es un nucleósido con efecto antiviral citostático (interfiere de forma precoz con la transcripción del ARN) e incrementa la respuesta de los linfocitos, sometiendo al virus a mayor presión inmunológica. En monoterapia tiene un escaso impacto en la erradicación viral, sin embargo en combinación con IFN reduce de forma muy significativa el riesgo de recidiva. Hasta 2011 esta “biterapia o terapia dual” fue el

único tratamiento de la infección VHC, obteniéndose tasas de RVS en torno al 50%, produciendo anemia hemolítica como consecuencia de esta terapia antiviral (35).

2.2. Inhibidores de la Proteasa (IPs)

-Triple terapia de primera generación: En 2011 se inició el tratamiento con los primeros IPs, Boceprevir y Telaprevir (inhibidores de NS3/4A) en combinación con la terapia dual. Incrementó las tasas de RVS del 63% con Boceprevir y del 75% (36) con Telaprevir en pacientes previamente no tratados (naïve) activos solo en el genotipo 1 (37). En pacientes recidivantes la RVS fue del 50-60%; en respondedores parciales del 40-45%; siendo menor el beneficio en los respondedores nulos. Se asociaban a ciertas reacciones adversas como la anemia y el exantema cutáneo, por lo que precisaban de una evaluación y un seguimiento minucioso (38).

-Triple terapia de segunda generación: El Simeprevir es un IP (NS3/4^a) que también se asocia a biterapia. En general, presenta un perfil de seguridad mejor con buena tolerancia y menos incidencia de efectos adversos que los anteriores IPs. En 2014 su uso en práctica clínica, consiguió tasas de RVS en naïve genotipo 1 del 80%, siendo en pacientes cirróticos del 58% (39).

El Sofosbuvir es un análogo nucleótido de gran potencia antiviral que inhibe la polimerasa NS5B del VHC dependiente de ARN que tiene una alta barrera genética a las resistencias. En la práctica clínica desde 2014, Sofosbuvir junto con IFN pegilado

más Ribavirina durante 12 semanas presentó una RVS entre el 90-92% en genotipo 1.

Las tasas de RVS en genotipos 4, 5 y 6 llegaron a ser cercanas al 100% (40).

-Terapias libre de IFN: Un año después, la combinación de IPs evitó la asociación con IFN. Sofosbuvir con Ledispavir para los genotipos 1, 3 y 4 obtuvo una eficacia superior al 90%, en casos con fibrosis hepática avanzada la eficacia baja por lo que se asocia a ribavirina.

Otra combinación con similar eficacia (Ritonavir, Ombitasvir, Paritaprevir con o sin Dasabuvir): en el genotipo 1 administrada siempre junto a Dasabuvir, y en genotipos 1a asociada a Ribavirina. En el genotipo 4 sin asociar Dasabuvir, pero con Ribavirina. No se usa en pacientes con enfermedad hepática avanzada, ni en aquellos que ha fracasado el tratamiento con otros IPs.

-Asociación de antivirales orales de acción directa: En 2015, el tratamiento de los pacientes con hepatitis crónica C experimentó numerosos cambios con la autorización sucesiva de nuevos antivirales de acción directa, incrementando las posibilidades de curación del virus. La dificultad de abordar de forma inmediata el tratamiento de todos los pacientes, hizo necesario establecer en España una estrategia en el acceso, comentada anteriormente (23).

En el momento actual existen diferentes fármacos frente al VHC que actúan de manera directa y pertenecen a 4 clases diferentes:

- 1) Inhibidores de la proteasa NS3/4A: Mediante su unión al centro activo, bloquean el ciclo replicativo del VHC. Estos fármacos tienen la terminación “previr”. Tiene actividad frente a genotipo 1 (más activos frente al 1b que al 1a) 2 y 4 pero no son activos frente al genotipo 3 (Simeprevir, Paritaprevir y Grazoprevir). Tienen buena barrera genética, pero pueden desarrollar resistencias que comprometen el tratamiento. En 2017 se aprueba Glecaprevir y Voxilaprevir, más potentes con actividad en genotipo 3.
- 2) Inhibidores de la proteína NS5A: esencial para la replicación del ARN del virus y para el ensamblaje de las nuevas partículas víricas. Bloquean su unión a la proteína, e inhiben la interrelación entre la NS5A y los lugares de replicación intracelular del virus. Estos fármacos tienen terminación en “asvir”, son activos frente a genotipos del 1 al 6, son bien tolerados con efectos adversos leves y con menos interacciones farmacológicas que otros IPs. Daclatasvir, Ledipasvir y Ombitasvir son fármacos potentes pero su barrera genética es moderada, siendo frecuente la aparición de resistencias en pacientes que fracasa el tratamiento. Velpatasvir, Elbasvir y Pibrentasvir, los NS5A más modernos tienen menos resistencias y se pueden usar en pacientes que fracasan tratamientos previos.
- 3) Inhibidores de la proteína NS5B (proteína no estructural del virus), que actúa como ARN polimerasa en la replicación del virus. Los fármacos de esta familia terminan en “buvir”. Disponemos de dos tipos:

- 3.1) Los análogos de nucleósidos: se incorporan al ARN viral y lo bloquean, inhibiendo competitivamente la polimerasa. Sofosbuvir, es un fármaco de elevada potencia antiviral activo frente a todos los genotipos (más potente en genotipo 1a que 1b, a diferencia de otros IP) con pocos efectos secundarios y alta barrera genética (no hay mutantes resistentes, por lo que es un fármaco esencial en los tratamientos de rescate). Se usa en pautas de 8 a 24 semanas en función del genotipo, la carga viral y la fibrosis hepática. Es de eliminación renal por lo que se desaconseja en pacientes con insuficiencia renal avanzada.
- 3.2) Los no análogos a nucleósidos: que bloquean antes del inicio de la cadena de ARN y son inhibidores no competitivos. Dasabuvir tiene una potencia antiviral más baja, solo actúa frente genotipo 1 y su barrera genética es menor con la aparición de resistencias.

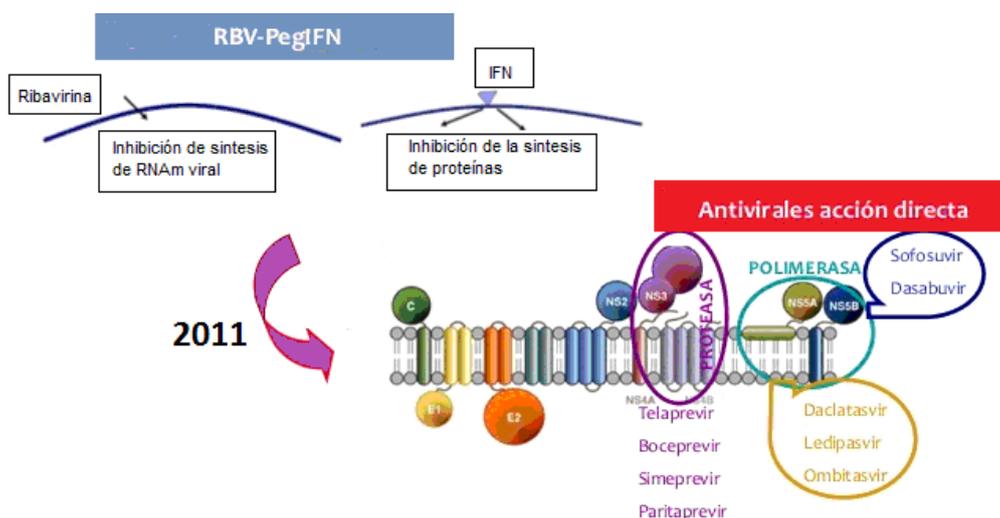


Figura 6. Dianas en el tratamiento del VHC.

2.3. Criterios en la elección del tratamiento del VHC

Una vez diagnosticada una hepatitis crónica C, se debe determinar la carga viral y el genotipo, ya que difiere la pauta del tratamiento y la respuesta. La evaluación de la fibrosis hepática con elastografía también influye en las pautas de tratamiento más largas o con ribavirina. Se debe averiguar la historia de fracasos a tratamientos antivirales previos, y evaluar la existencia de comorbilidades, así como la medicación concomitante por las posibles interacciones. Durante la terapia, la única carga viral imprescindible es la que determinará la RVS a las 12 semanas después de terminar el tratamiento.

En la actualidad el tratamiento del VHC consiste en la combinación de al menos dos antivirales de acción directa con diferentes dianas frente al virus. La duración de este oscila entre 8 y 24 semanas. Las principales características de las combinaciones usadas en el tratamiento del VHC se resumen en la Figura 7.

	N53	N55A	No análogos N55B	Análogos N55B	RBV	Genotipo	Duración
Parietaprevir/ritonavir/ Ombitasvir+Dasabuvir	●	●		● (no en 4)	● (no en 1b)	1 y 4	1a y 4 → 12/24 semanas 1b → 8 ¹ /12 semanas 4 → (sin Dasabuvir) 12/24 semanas.
Grazoprevir/Elbasvir	●	●			+/-	1 y 4	12/16 semanas
Sofosbuvir/Ledipasvir Sofosbuvir/Velpatasvir Sofosbuvir+Daclatasvir		●	●		+/- +/- G3 +/-	1 y 4 1-6 1,2 y 3	8 (G 1) ² /12/24 semanas 12 semanas 12/24 semanas
Sofosbuvir+Simeprevir	●		●		+/-	1 y 4	12/24 semanas

^{1,2}Criterios para tratamiento 8 semanas: PCR VHC < 6 M UI/ml; naïve para tratamiento; sin cirrosis; ¹(Genotipo 1b); ²(Genotipo 1 b y 1 a)

Figura 7. Pautas de tratamiento recomendadas para el VHC

3. ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis es una enfermedad sistémica progresiva, que constituye una de las causas más frecuentes de ECV en el mundo actual. Inicialmente, se atribuyó a la presencia de factores de riesgo vascular, como hipertensión arterial, consumo de tabaco, diabetes mellitus e hipercolesterolemia, aunque actualmente se consideran factores aceleradores en pacientes con predisposición a desarrollar esta enfermedad (42).

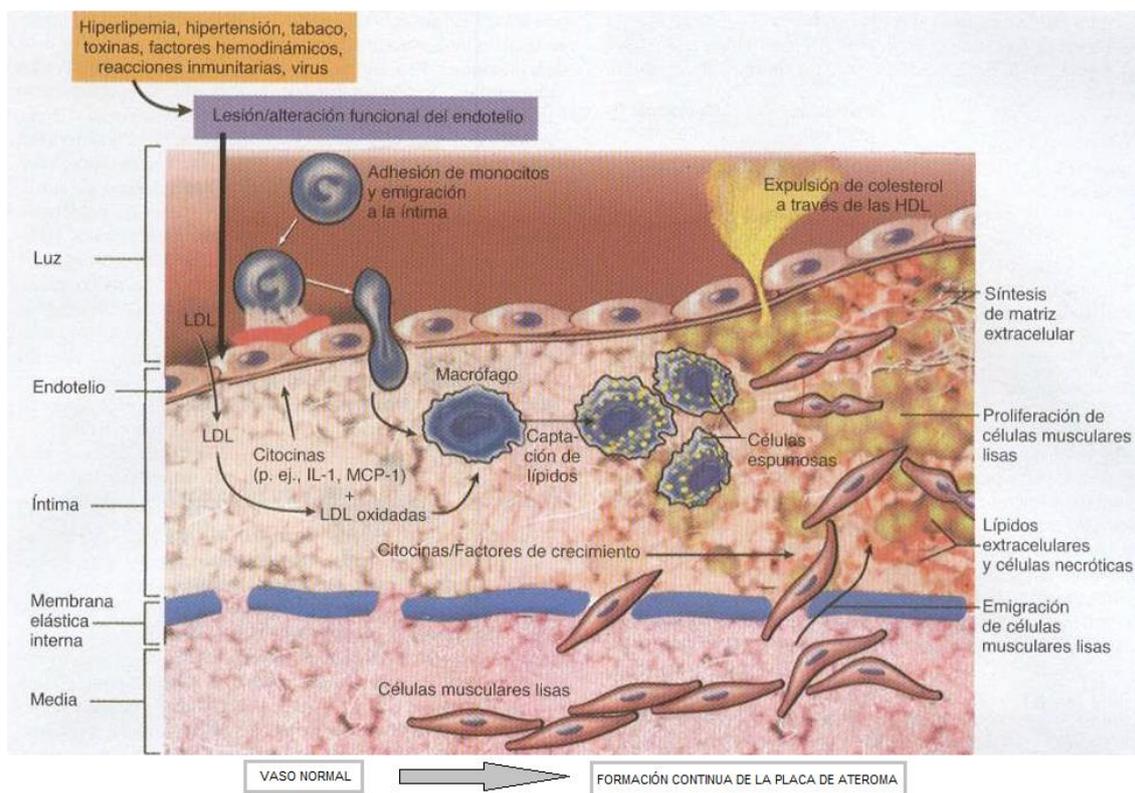


Figura 8. Fenómenos e interacciones de la aterosclerosis

* Modificado de Robbins. *Patología estructural y funcional*. McGraw-Hill - Interamericana 2000

Las lesiones que la aterosclerosis produce son el engrosamiento de la íntima y el desarrollo de placas de ateroma en la pared de los vasos. El engrosamiento de la íntima involucra la proliferación de células musculares lisas en una matriz rica en proteoglicanos, mientras que las placas, además de lo anterior, presentan depósitos de lípidos y diferentes grados de infiltración por células inflamatorias (Figura 8). La interacción entre estas células determina el desarrollo y progresión de la ateromatosis de forma silente, la ruptura o trombosis son complicaciones importantes que constituyen el mecanismo principal de desarrollo de ECV (43).

3.1. Tipos de placas de ateroma

Los distintos tipos de placas de ateroma se clasifican (44,45) según sus características histológicas en:

- Estables: presentan una cápsula fibrosa gruesa cuyo núcleo de material lipídico tiene escasa necrosis, aunque pueden estar compuestas por un número variable de células inflamatorias como macrófagos y linfocitos. En ocasiones, pueden presentar depósitos de calcio, que también se ha asociado con su estabilidad.
- Vulnerables: están constituidas por una cápsula fibrosa fina, rica en células inflamatorias y depósitos de colesterol que contienen grandes áreas necróticas. Estas placas están expuestas a la ruptura de su cápsula.

- Inestables: son aquellas en las que se ha desencadenado la formación de un trombo. Esto puede ocurrir por la ruptura de la cápsula fibrosa (ulceración) o más raramente nódulos calcificados densos que irrumpen en la luz del vaso (estenosis).

3.2. Aterosclerosis y Factores de Riesgo Vascular

La aterosclerosis suele producir una lesión focal vascular que afecta sobre todo las arterias del territorio carotídeo y femoral.

El estudio Framingham proporcionó una información muy importante sobre la relación entre los factores de riesgo vasculares (hipercolesterolemia, hipertensión arterial, el HDL-c y el IMC) y el desarrollo del proceso arteriosclerótico. La prevalencia de aterosclerosis es similar en personas ancianas de ambos sexos, pero en adultos jóvenes es mayor en hombres. El tabaquismo se relaciona con el aumento del riesgo de presentar placas de ateroma en arterias carótidas y sobre todo femorales (46).

Sin embargo, se debe considerar que en muchos pacientes coexisten distintos factores de riesgo que pueden actuar de forma sinérgica o potenciar el desarrollo de la aterosclerosis. En la última década se han descrito nuevos factores de riesgo vascular relacionados con cambios inflamatorios e inmunológicos de forma mantenida en el tiempo. El aumento de la secreción de citoquinas y reactantes de fase aguda junto con alteraciones metabólicas como la hiperhomocisteinemia, la hipoadiponectinemia y sobre todo la resistencia a la insulina promueven la arteriosclerosis. Estos factores de riesgo son más frecuentes en los pacientes con infecciones y/o enfermedades inflamatorias crónicas, acelerando el proceso arteriosclerótico (47).

3.3. Ecografía vascular y ateromatosis subclínica

La ecografía es un método diagnóstico no invasivo que utiliza la energía mecánica de las ondas de ultrasonidos reflejadas (ecos) y su interacción en las estructuras corporales que atraviesan. La exploración mediante ultrasonidos en las enfermedades cardiovasculares supone una herramienta única por su valor diagnóstico, pronóstico e incluso terapéutico, ya que esta patología supone una de las principales causas de morbi-mortalidad en la actualidad. Es accesible, inocua y proporciona una valiosa información morfológica y funcional de las principales arterias ayudando a predecir RCV en pacientes susceptibles de desarrollar aterosclerosis (48).

* Modalidades de imagen (figura 9):

- **A: Modo B (Brightness mode):** permite una visualización de la pared y el contenido de la arteria en dos dimensiones y las amplitudes de onda reflejadas son codificadas en escala de grises.
- **B: Modo color:** analiza el flujo sanguíneo basándose en el efecto Doppler, el brillo del color aumenta o cambia con el aumento de la velocidad (49).

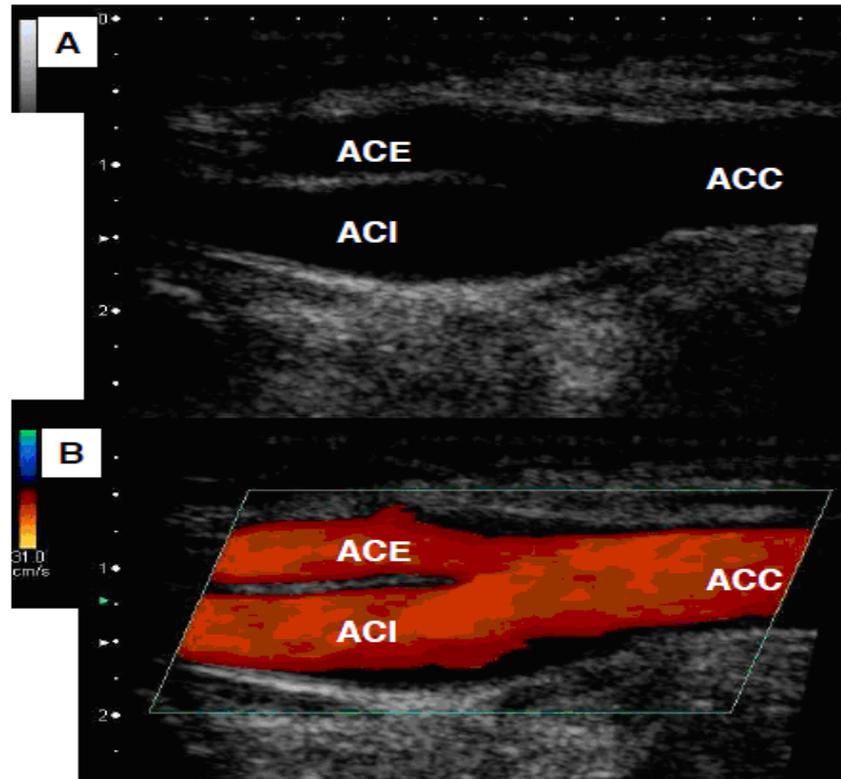


Figura 9. Imagen ecográfica de la bifurcación carotídea.

Los signos fundamentales de ateromatosis subclínica que se pueden valorar mediante ecografía arterial son el aumento del grosor íntima-media carotídeo (GIM) y la presencia de placas ateromatosas principalmente en territorio carotídeo, y menos estudiado en territorio femoral (48,49).

Estos criterios diagnósticos, han sido definidos en el último consenso europeo de Mannheim, para evitar la variabilidad metodológica, es fundamental estandarizar la técnica de medición, y esta exploración resulte reproducible (50).

A) Grosor íntima-media (GIM)

El GIM se visualiza, en la proyección longitudinal en la pared distal con la imagen congelada en diástole, como una doble línea paralela de las paredes de la arteria. Esta imagen constituye el espacio comprendido entre dos bordes anatómicos, que empieza en la luz de la arteria-íntima y termina en la zona de unión media-adventicia.

Se ha demostrado que esta interfaz aumenta de grosor con la edad y que se puede acelerar por otros factores de riesgo de aterosclerosis, particularmente la HTA y factores hereditarios. Sin embargo, existen incrementos del GIM que son difíciles de diferenciar si se deben a condiciones fisiológicas de envejecimiento o patológicas como arteriosclerosis o cambios adaptativos frente a alteraciones hemodinámicas.

B) La placa de ateroma

Según el Consenso de Mannheim, la placa ateromatosa se define como una estructura focal que protruye en la luz arterial al menos 0,5 mm, un engrosamiento mayor del 50% del GIM circundante, o la demostración de un GIM mayor de 1,5 mm (Figura 10).

Lo más consensuado es la medición de placas en el territorio vascular carotídeo de forma bilateral (arteria carótida interna, arteria carótida externa, bulbo o bifurcación y arteria carótida común). La evaluación de las arterias femorales (arteria femoral profunda y superficial), menos extendida, permite diagnosticar placa de ateroma en un mayor número de pacientes que no presentan placas carotídeas, estimando con mayor certeza el RCV con una mínima prolongación de la duración del procedimiento

ecográfico. Estudios recientes sugieren que la presencia de placas en arterias femorales es indicador de enfermedad coronaria (EC) y de ECV.

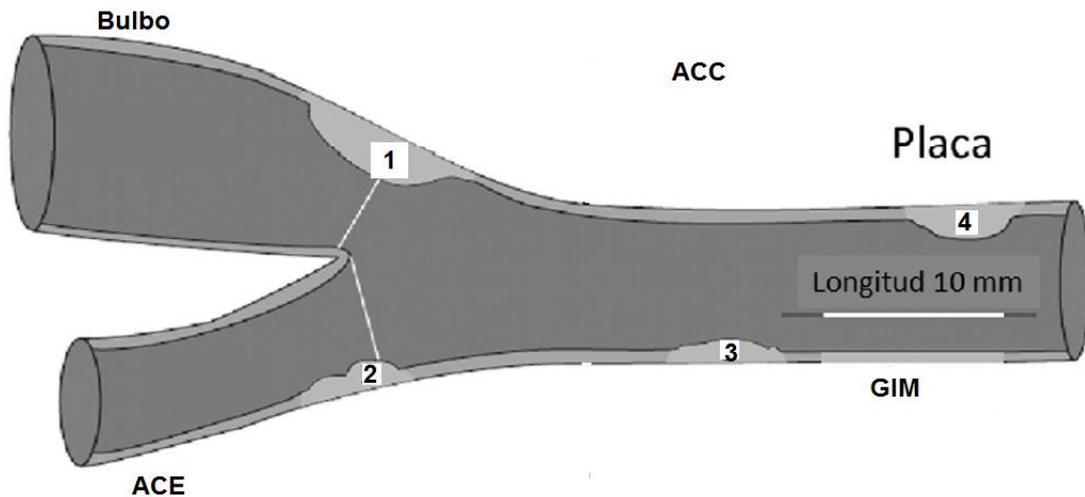


Figura 10. Esquema de la medición del GIM y de la placa de ateroma (definición de placa: **1**) GIM >1,5mm; **2**) protusión sobre la luz > 0,5mm; **3**) y **4**) aumento de GIM >50% del circundante)

* Modificado de Touboul PJ. 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, 2007. ⁽⁵⁰⁾

C) Significado clínico de la ateromatosis subclínica

El GIM y la presencia de placas de ateroma se consideran marcadores subclínicos de aterosclerosis precoz o ateromatosis. En pacientes asintomáticos, predicen de forma independiente los eventos cardiovasculares, aunque recientemente el papel del GIM como biomarcador, se está cuestionado en las últimas guías del *American College of Cardiology/American Heart Association* (ACC/AHA) (51,52).

El GIM está constituido en un 80% aproximadamente de capa media y un 20% de capa íntima, mientras que la arteriosclerosis es principalmente un proceso intimal. Aunque las placas y el GIM están altamente correlacionados, el GIM refleja también el aumento compensatorio de la hipertrofia de la capa media que aparece con la progresión de la edad, incluso en ausencia de placa arteriosclerótica.

Existen varias clasificaciones histológicas del desarrollo de las lesiones arterioscleróticas que en realidad son continuas en el tiempo. La clasificación de Virmani y colaboradores (45) clasifica las lesiones como: xantoma intimal (estría grasa, lesión con tendencia a regresar), engrosamiento intimal, engrosamiento intimal patológico (primera manifestación de arteriosclerosis con formación de áreas lipídicas sin centro necrótico), capa fibrosa de ateroma, capa fibrosa delgada de ateroma, nódulo calcificado y placa fibrocalcificada.

La progresión del GIM y la placa de ateroma están relacionadas de forma inherente a la progresión de la edad y el sexo. En la cohorte española (53) se mostró un GIM medio de 0,60mm para todas las edades en varones, y de 0,55mm en mujeres. Los valores aumentaban con la edad: mediana de GIM 0,50 mm en varones ≤ 35 años y de 0,74 mm en >65 años. En las mujeres: 0,40 y 0,65 mm, respectivamente. Se observó que más de la mitad de los varones a partir de los 55 años y de las mujeres a partir de los 65 años presentaban placas de ateroma sin factores de riesgo cardiovascular asociados. Estos datos de progresión se corroboraron recientemente en el estudio PROG-IMT realizado en población general con una progresión del GIM de 0,011 mm/año (54).

Pero diferentes estudios longitudinales de base poblacional como el *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) (55) o el *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis* (MESA) (56) asocian el GIM como la formación precoz de placa como factores de riesgo vascular que aumentan la incidencia de enfermedad cardiovascular, tanto ictus isquémico como enfermedad coronaria, y a presencia de arteriosclerosis en cualquier territorio arterial.

Las guías clínicas recomiendan como clase IIA (razonable el realizarlo) la detección inicial del riesgo cardiovascular con el GIM en individuos de riesgo intermedio (2 o más factores de riesgo como síndrome metabólico, historia familiar de cardiopatía isquémica y/o un Framingham Risk Scale de 11-20%. (57,58).

La valoración ecográfica del GIM y la presencia de placa de ateroma valora con más exactitud el riesgo individual, ya que permite identificar a pacientes con un riesgo mayor que el expresado exclusivamente por los factores de riesgo cardiovascular tradicionales o tablas/ escalas de RCV (59,60). El índice de reclasificación varía entre 5,6% en individuos con enfermedad cardiovascular previa y 8,1% en individuos sin enfermedad cardiovascular previa.

Además de un método de detección de ateromatosis subclínica, es un modo que puede guiar el manejo terapéutico. Estudios secuenciales explican el descenso del GIM o las placas con el tratamiento por la mayor predominancia de lesiones de células espumosas, precursoras de las placas de arteriosclerosis, que son susceptibles de regresar (61-63).

3.4. Clasificación de la placa de ateroma por análisis visual ecográfico

La caracterización ecográfica de la placa de ateroma (64) se puede realizar mediante los siguientes criterios:

- Localización: vaso afectado (pared anterior o posterior, pared medial o lateral).
- Número: única o múltiple.
- Tamaño: extensión en plano longitudinal y grosor en plano transversal (distancia máxima entre la interfaz media-adventicia y la interfaz luz-superficie de la placa).
- Forma: marginal, concéntrica o circular, excéntrica o semicircular.
- Área: en un corte longitudinal se mide la placa mayor transversal en dos dimensiones. La placa crece longitudinalmente a lo largo del eje vascular de una forma dos veces más rápida que su crecimiento en grosor, por tanto el área de placa podría ser una medida más sensible y representativa de la carga arteriosclerótica que el grosor de placa o el GIM, siendo un buen predictor de ECV (68).
- Superficie: regular (lisa) o irregular.
- Ecogenicidad: tono en escala de grises en modo B.
- Textura: distribución de los diferentes tonos de grises en el área de la placa: homogénea o uniforme y heterogénea o con áreas hipo e hiperecogénicas.

- Signos de complicación: ulceración, trombosis y hemorragia intraplaca.
- Grado de estenosis: nivel de reducción de la luz del vaso. Este parámetro tiene implicaciones pronósticas.

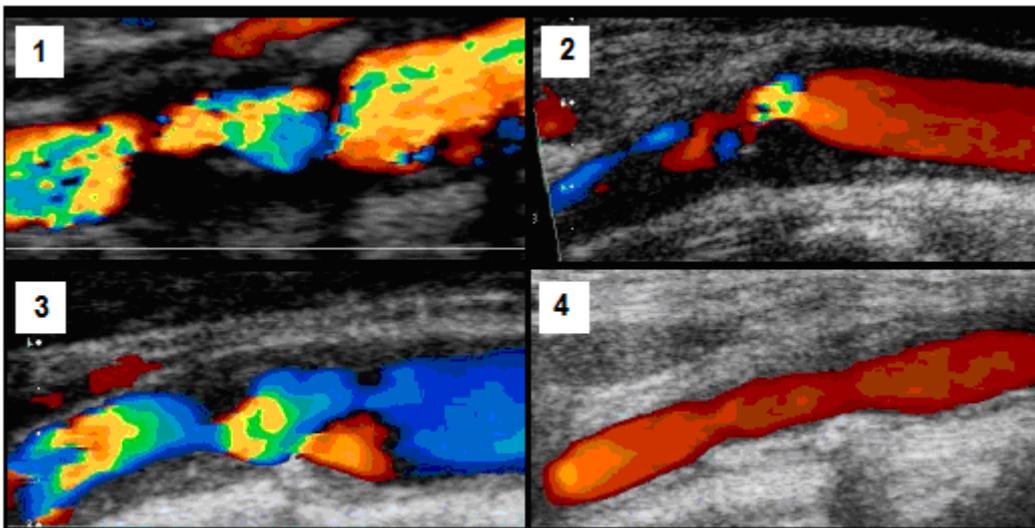
3.4.1. Ecogenicidad de la placa y significado clínico

La imagen de la placa de ateroma se muestra por escala de grises de acuerdo a las características ecográficas y tiene buena correlación con su estructura histológica, pudiendo establecerse su riesgo de complicación. Así, se denominan como anecogénicas aquellas que se muestran más oscuras (similar a la sangre), pasando por niveles intermedios hasta llegar a las hiperecogénicas, más brillantes (similar a estructuras óseas o a la adventicia del vaso).

La ecogenicidad de la placa ateromatosa se relaciona con la composición o su contenido de tejido fibroso, lipídico y calcio conforme avanza la lesión arteriosclerótica. Las ecolucentes (o hipoecoicas) son ricas en lípidos, mientras que las hiperecoicas tienen un alto contenido en tejido fibroso y calcio (65). Las placas heterogéneas con áreas hipoecogénicas también se asocian con lesiones hemorrágicas o necróticas con áreas hipoecogénicas, siendo más inestables con mayor riesgo de ruptura.

Geroulakos y colaboradores (66) propusieron una clasificación que establece cinco categorías para la caracterización visual de la ecogenicidad de la placa de ateroma (Figura 11):

- **Tipo 1:** Predominantemente ecolucente;
- **Tipo 2:** Predominantemente ecolucente con pequeñas áreas de ecogenicidad;
- **Tipo 3:** Predominantemente ecogénica con pequeñas áreas de ecolucencia;
- **Tipo 4:** uniformemente ecogénica;
- **Tipo 5:** Inclasificable: placas calcificadas con sombra que impide valoración.



*Figura 11. Clasificación de ecogenicidad de la placa con eco-doppler
(Propuesta por Geroulakos) ⁽⁶⁶⁾*

3.4.2. Caracterización ecográfica de la placa ateromatosa por análisis computarizado

Como hemos comentado, la estructura ecográfica de la placa ateromatosa tiene valor pronóstico, pero la caracterización visual es un método muy subjetivo y observador

dependiente. Por esto, es importante considerar sistemas de clasificación que permita la evaluación de toda la extensión de la placa de forma simultánea tanto de su heterogeneidad como su ecogenicidad, por lo que en los últimos años se han desarrollado programas informáticos para ello.

La imagen computadorizada estandarizada permite aplicar un criterio uniforme de las placas observadas por distintos operadores utilizando diferentes equipos de ultrasonidos (67-69). Existen principalmente dos métodos:

A) Mediana de la escala de grises (GSM)

Elatrozy y colaboradores propusieron en 1998 un sistema de medida de la ecogenicidad de la placa basado en el análisis computarizado de la escala de grises del modo B, obteniendo resultados más cuantitativos, más objetivos y menos operador-dependientes. (Figura 12) Describieron que la ecogenicidad analizada mediante este sistema de GSM se asociaba más a eventos cerebrovasculares que el grado de estenosis carotídea (70).

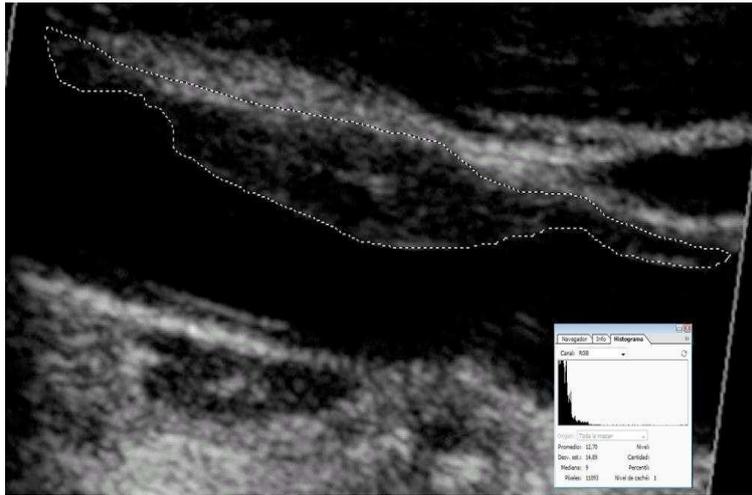


Figura 12. Ecogenicidad de la placa de ateroma por GSM

B) Escalas de color

Este método consiste en realizar un mapeo de cada píxel del área de la placa de ateroma y asignarle un color según su GSM. De acuerdo a la ecogenicidad, se colorea cada punto de rojo si el GSM es menor de 50, amarillo si está entre 50-70 y de verde si es mayor de 70. Esta caracterización tiene buena correlación con los componentes histológicos de la placa y permite identificar las zonas inestables con mejor precisión. (Figura 13) (71).

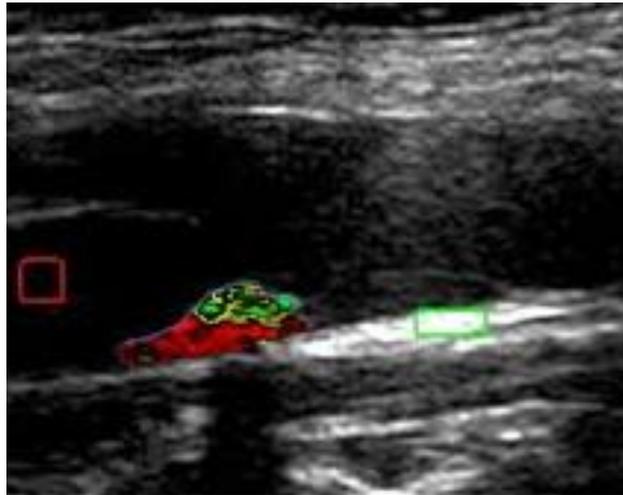


Figura 13. Ecogenicidad de la placa por escala de color

C) Implicaciones pronósticas de la ecogenicidad de la placa

En resumen, mediante el análisis visual o computadorizado se puede valorar la morfología y ecogenicidad de la placa, relacionando las imágenes hipoeoicas y heterogéneas con lesiones hemorrágicas, necróticas y mayor contenido lipídico, mientras que las hiperecoicas y homogéneas con bordes lisos se asocian a la presencia de tejido fibroso y el calcio. Estas placas, se consideran “estables” y asocian un pronóstico favorable, por el contrario, placas heterogéneas o placas hipoeoicas, se consideran “inestables” y tienen el potencial de producir ECV por la formación de trombo y ulceración.

Estos resultados ponen de manifiesto una composición tisular de riesgo, independientemente del grado de estenosis vascular (72). En cuanto a la correlación entre factores de riesgo y ecogenicidad, existen pocos estudios, sin referencias en lo que respecta a la posible influencia de los tratamientos y su relación con la ecogenicidad medida.

4. RIESGO CARDIOVASCULAR E INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC

Como ya se comentó al principio, la infección por VHC produce alteraciones en el sistema inmune del huésped, creando un estado inflamatorio crónico con mayor producción de citoquinas proinflamatorias, que afecta al hígado y otros órganos. Este virus, además ejerce efectos sobre el metabolismo, como la resistencia a la insulina, desarrollo de diabetes mellitus, esteatosis hepática y modificación de las lipoproteínas (73-76).

Los mecanismos aterogénicos, no son del todo conocidos, pero parecen estar relacionados con esta inflamación sistémica mantenida que produce el virus y su efecto patógeno sobre los vasos. Se ha identificado que provoca un estrés oxidativo que aumenta las moléculas de adhesión, que da lugar a modificaciones en las LDL, depositándolas más fácilmente en las paredes arteriales (77). Otros estudios, han detectando secuencias de ARN viral en células endoteliales, lo que sugiere la posibilidad de infección activa en la propia placa de ateroma (78,79).

Estos mecanismos predominantemente inflamatorios que aumentan el riesgo cardiovascular en los pacientes con infección crónica por VHC, son diferentes a los que desarrollan arteriosclerosis de la población general, lo que podría modificar la composición de las placas de ateroma, aunque por el momento no existen estudios al respecto.

4.1. Alteraciones metabólicas del VHC

4.1.1. Modificaciones en el metabolismo glucídico e insulinoresistencia (IR)

Según el consenso de la Sociedad Española de Diabetes, la IR se define como un estado metabólico caracterizado por una hiperinsulinemia necesaria para mantener los niveles de glucosa dentro de la normalidad (80). Actualmente se considera que la IR mantenida es la base común de numerosas enfermedades metabólicas y la responsable del daño endotelial en la enfermedad cardiovascular.

La hepatitis crónica por VHC se ha implicado en la aparición de IR en ausencia de factores metabólicos, al contrario de los que ocurre en la población sin infección. Se estima que entre un tercio y la mitad de pacientes infectados por este virus presentan IR, aunque la prevalencia de síndrome metabólico no supera el 5-8%. Además, se conoce los pacientes con VHC desarrollan diabetes mellitus (DM) tipo 2 con más frecuencia que la población general o que pacientes con hepatitis de otra etiología (81-84). En estos pacientes con hepatitis por VHC coexisten diferentes factores implicados en el desarrollo IR debidos al estrés oxidativo, la síntesis de citoquinas proinflamatorias y la actividad de las propias proteínas del core del VHC. En una cohorte de pacientes con hepatitis C se encontraron niveles de insulina y glucosa basal elevados respecto a pacientes con hepatitis B, de forma que se detectó IR en el 35% de los pacientes con hepatitis C frente al 5% de los pacientes con hepatitis B, controlados por edad, fibrosis y sexo. Además, la IR se asoció con una mayor progresión de la fibrosis, especialmente, en genotipos 1 y 4 (85,86).

A) IR cofactor de progresión de la fibrosis hepática en VHC

La importancia del daño hepático, en relación con la IR y la diabetes, se ha descrito extensamente en pacientes infectados por VHC. Se estableció una correlación entre la IR, la esteatosis hepática y la fibrosis en un estudio retrospectivo de 141 pacientes no diabéticos y sin tratamiento, con hígado no cirrótico infectados por VHC (87). Otros autores también han sugerido una correlación entre la cirrosis y el riesgo de intolerancia a la glucosa o diabetes en pacientes infectados por hepatitis por VHC (88,89). En pacientes infectados por VHC, con genotipo no 3, la IR y la obesidad son causas de esteatosis y por tanto acelera la progresión hacia la fibrosis (90,91).

Existen diferentes mecanismos, por los cuales el incremento del nivel de glucosa sérica puede contribuir a la fibrogénesis (92):

- Los niveles elevados de glucosa inducen la expresión de citoquinas proinflamatorias.
- La hiperglucemia incrementa de la formación y depósito de los productos finales de la glicosilación, que interaccionan con receptores intrahepatocitarios, lo que favore la colagenogénesis.
- En incremento del estrés oxidativo y la generación de radicales libres, activan la respuesta celular liberando más citoquinas proinflamatorias (TNF α e IL-6).

Por tanto, la IR se asocia a una mayor progresión de la fibrosis en paralelo con la edad, la esteatosis hepática y la mayor actividad necroinflamatoria (93-95).

B) Mecanismos moleculares de la IR en la hepatitis C

La proteína del core del VHC produce IR por mecanismos diferentes dependientes del genotipo viral (97-100).

En el genotipo 1, la proteína del core aumenta la síntesis del receptor de la rapamicina (mTOR) disminuyendo los niveles del receptor de insulina celulares (IRS-1), lo que contribuye al desarrollo de IR y al mantenimiento de unos niveles elevados de replicación viral. Por el contrario, en el genotipo 3, la IR se debe al incremento de la producción de la señal de la sustancia supresora de citocinas (SOC) que inhiben la activación del receptor GLUT-4, lo que evita la captación de glucosa por las células y favorece la IR (101).

En la clínica, existen numerosas evidencias que conectan directamente la replicación viral activa con la aparición de IR y sobre todo, la desaparición o mejora de este disturbio metabólico, una vez curado el virus (102-104). En pacientes con aclaramiento viral sostenido se comprobó un descenso de la tasa de IR, mientras que en no respondedores no se apreciaban estas modificaciones. También se ha demostrado normalización del HOMA en pacientes con respuesta sostenida, acompañándose de un aumento en la expresión del receptor de la insulina 1 (IRS-1) en el hígado. Estos hallazgos avalan que la erradicación del VHC permite recuperar la sensibilidad a la insulina, al menos, en la parte de alteración debida directamente a la acción del virus independientemente de la IR del huésped (105,106).

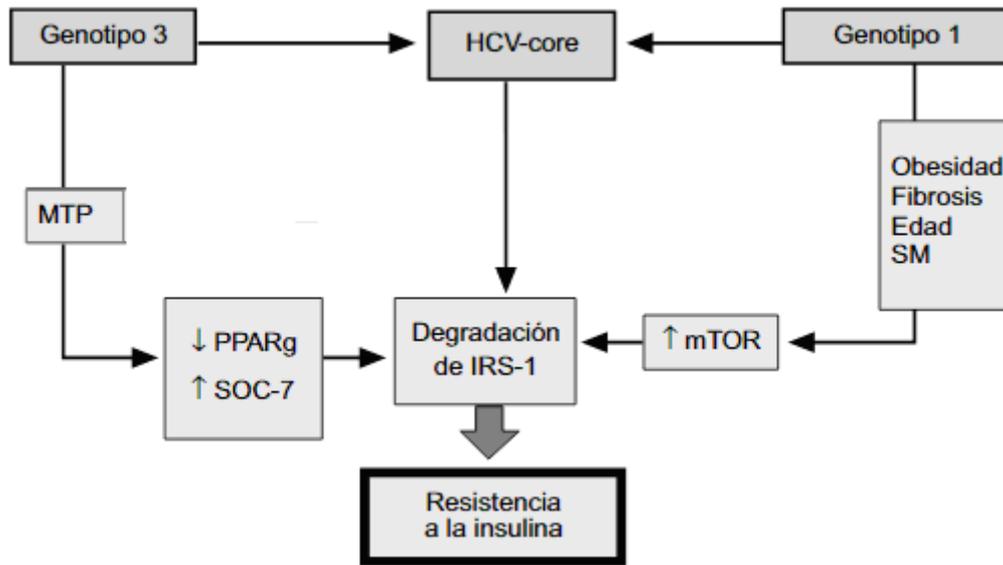


Figura 14. Mecanismos del desarrollo de IR en la infección por VHC

*Modificado de Romero- Gomez M. Hepatitis C y síndrome metabólico. Gastroenterol Hepatol. 2010. ⁽⁹⁷⁾

C) Valoración de la IR

Se conoce que la IR precede a la enfermedad cardiovascular en estados en los cuales se presentan alteraciones metabólicas e inflamatorias (107,108).

El mejor método para medir la sensibilidad a la insulina es el clamp euglucémico hiperinsulinémico. Sin embargo, este método es caro, laborioso e incómodo para su uso clínico diario. Existen modelos matemáticos como el Homeostasis Model for Assessment (HOMA=insulina en ayuna [mUI/ml] x glucosa en ayunas [mmol/l]/22,5) que ha demostrado ser de utilidad. Pero este modelo presenta variabilidad interindividual y dificultad para su uso en la práctica, por lo que recientemente se han

sugerido otros marcadores indirectos como alternativa (109,110). Una identificación más sencilla de la IR es el producto triglicéridos y glucosa ($\text{Ln TG} \times \text{Gluc} / 2$) (111). En 2010, Guerrero et al. (112) demostraron que el índice triglicéridos y glucosa (TyG), podría ser una estimación útil de IR con un valor $>8,8$ sin estratificar por sexo. Dicho índice fue comparado con el clamp euglicémico hiperinsulinémico, demostrando tener buena sensibilidad (96,5%) y especificidad (85,0%) para la detección de IR y se ha evidenciado su asociación con aterosclerosis carotídea (113). Por otro lado la asociación entre la dislipemia aterogénica (hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia) y la IR, sobre todo en sujetos con alteraciones de lipoproteínas Apo B sugiere que el coeficiente Triglicéridos/ HDL colesterol es un buen indicador de IR (114). El estudio MESYAS realizado por Cordero en España (115), pone de manifiesto la relación entre TG/HDL como parte de síndrome metabólico y señala un punto de corte $>2,75$ en hombre y $>1,65$ en mujeres para establecer la relación con IR. Asimismo, Reaven et al. (116), comprobaron que estos índices son comparables con las estimaciones que utilizan insulina en ayunas. En los últimos años, múltiples estudios sugieren que los marcadores alternativos de IR basados en la medición de lípidos son de utilidad pero destaca la necesidad de futuros estudios que validen un punto de corte generalizado según las diferentes poblaciones.

4.1.2. Esteatosis hepática en pacientes con infección crónica por VHC

La infección por VHC se caracteriza por una alta tasa de progresión a fibrosis, hepatitis crónica y aparición de cirrosis (117). También se sugiere que la esteatosis hepática es

una característica histológica común en el VHC, entre un 40 y un 86% dependiente del genotipo viral (118). Algunos estudios sugieren que la proteína del core provoca la aparición de esteatosis a través de la inhibición de la actividad de la proteína de transporte de triglicéridos de microsomas (MTP) y la secreción de VLDL (119-212). Por lo tanto, estas proteínas en el hígado contribuyen a la regulación de la síntesis de lípidos, el transporte y almacenamiento de los mismos en los hepatocitos, causando así el desarrollo de la esteatosis hepática (122,123).

Existen 3 formas para el acumulo de lípidos en el hígado:

- una forma metabólica asociada a la presencia de factores de riesgo de síndrome metabólico y IR del huésped como la obesidad, sobre todo en los genotipos 1-4 y que se correlaciona con la progresión de la fibrosis hepática y con el IMC del paciente (124).
- la esteatosis viral sin cofactores esteatogénicos debido solo al efecto directo citopático del virus que se correlaciona con la carga viral que predomina en el genotipo 3 secundario a cambios en los aminoácidos de la proteína del core. Este poliformismo diferente produce una modulación en la síntesis de los lípidos que provoca un aumento de la lipogénesis sobre todo de los lípidos del grupo apoB y un acumulo de triglicéridos en ausencia de otros factores de riesgo metabólicos (125).
- una tercera forma que es la combinación de ambas. Además, la presencia de IR promueve la acumulación de lípidos, inflamación y fibrosis en el hígado progresando la enfermedad hepática (126,127).

De acuerdo a la experiencia de Serejo et al. (128) en 106 pacientes con hepatitis crónica por VHC observó, después de excluir variables como la obesidad, ingesta de alcohol, presencia de dislipidemia y diabetes, que la prevalencia de esteatosis fue notablemente más alta en aquellos pacientes infectados con el genotipo 2 y 3, comparado con los de genotipo 1 y 4 (80.1% y 88.9% versus 37% y 32%; $p=0.0001$). La proteína del core derivada del genotipo 3a es unas tres veces más eficiente en la inducción de la acumulación de triglicéridos que la proteína correspondiente al genotipo 1 (129).

Diferentes estudios detectan que al obtener una RVS y la curación del VHC genotipo 3 desaparece la esteatosis hepática de forma más significativa que en otros genotipos virales: en 52 pacientes infectados crónicamente con el VHC, en presencia del genotipo 1 no se observaron cambios en el grado de esteatosis después del tratamiento, independientemente del resultado del mismo (130). En contraste, en los pacientes infectados con el genotipo 3 los que alcanzaron una RVS tuvieron una reducción significativa en el grado de esteatosis (102).

Varios estudios han demostrado una interrelación entre la hepatitis crónica por virus C, la esteatosis y la fibrosis (76,87, 92-95). Se podría formular la hipótesis de que en presencia de una infección crónica por virus C, la presencia de esteatosis es un cofactor importante que acelera el desarrollo de fibrosis en el hígado y que factores del huésped (obesidad central, diabetes mellitus, ingesta de alcohol) y factores virales

(genotipo 3 y/o genotipo 2) juegan un papel clave en la patógena de la esteatosis en la hepatitis crónica por virus C (Figura 15).

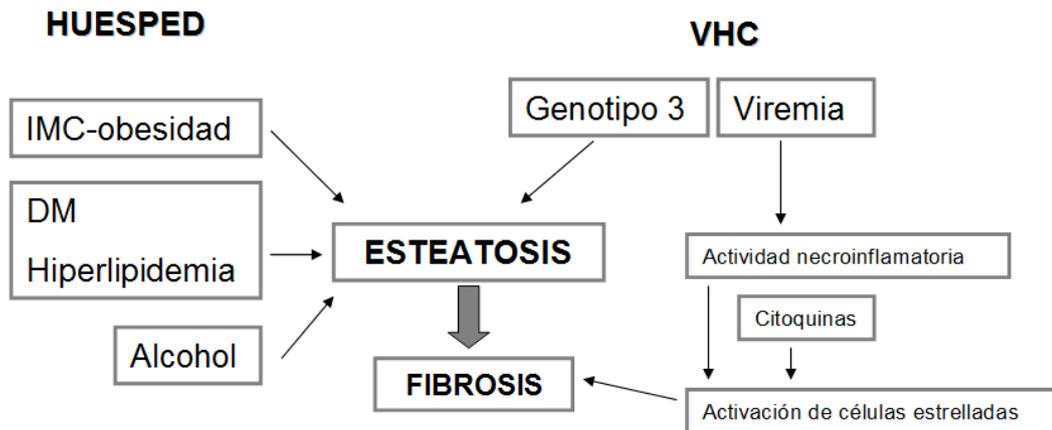


Figura 15. Formación de la esteatosis hepática en la infección crónica por VHC

4.1.3. Modificación del metabolismo lipídico por el VHC

El hígado juega un papel importante en el metabolismo lipídico, ya que es el órgano principal de formación y ensamblaje de las lipoproteínas. En enfermedades hepáticas avanzadas, se observa un descenso de los niveles de colesterol y de todas sus fracciones que se correlaciona con el grado de inflamación y fibrosis hepática (131).

Múltiples estudios sugieren que el VHC produce alteraciones en el metabolismo lipídico por un efecto específico del virus independientemente de la afectación hepática, ya que se han observado menores niveles de lípidos en pacientes con enfermedad hepática por infección crónica por VHC que en pacientes infectados por VHB (132).

Como ya se ha comentado previamente, la proteína del core del VHC con diferentes polimorfismos según el genotipo viral, modifica el metabolismo lipídico tanto en el hígado como en la sangre modificando los niveles de B-lipoproteínas y triglicéridos (119-123). En los pacientes infectados por VHC disminuyen los niveles de B-lipoproteínas, ya que está alterado el proceso de ensamblaje de las LDL y VLDL. Este proceso de interferencia es congruente con que la proteína core del VHC reduce la actividad de la proteína de transferencia de triglicéridos microsomal y modifica la secreción hepática de estas lipoproteínas, con el subsiguiente desarrollo de esteatosis (133).

La B-lipoproteína es una proteína primordial para el transporte del colesterol a las células periféricas. Esta proteína forma las fracciones de LDL, VLDL y sus remanentes, recientemente denominado colesterol no HDL (134), excelente indicador en población general de dislipemia aterogénica (aumento de triglicéridos, descenso de HDL y presencia de LDL pequeñas- densas) e IR, cuando los niveles son por encima de >100-130 mg/dl (135).

Además se conoce que el VHC circula en sangre unido a las VLDL y LDL interactuando con el receptor celular de las LDL (136). Se postula que las LDL atraviesan la pared endotelial, y en las arterias se produce una oxidación de estas lipoproteínas, desarrollando más fácilmente placas de ateroma en los pacientes con infección crónica por VHC.

4.2. Estudios de riesgo cardiovascular en pacientes con VHC

Los datos derivados de estudios recientes han demostrado un vínculo entre la infección por VHC y el proceso aterogénico (137). El VHC representa un fuerte factor de riesgo independiente para la enfermedad coronaria, la aterosclerosis carotídea, el accidente cerebrovascular y la mortalidad relacionada con los ECV (138). Este aumento del riesgo cardiovascular en los pacientes infectados crónicamente por VHC representa una gran preocupación ya que puede influir en su esperanza de vida y calidad de vida de esta población.

Sobre la base fisiopatológica de esta correlación, se sabe que la infección crónica por el VHC es un estado inflamatorio que no solo afecta al hígado, y que la aterosclerosis es el resultado de cambios inflamatorios persistentes. Además las vías proinflamatorias y profibrogénicas generadas en el hígado al avanzar la fibrosis hepática, podría promover también la aterosclerosis (139).

En resumen existen múltiples mecanismos (resistencia a la insulina, esteatosis y fibrosis hepática) (74,75) tanto virales como del huésped, en los pacientes infectados por este virus que se asocian para el desarrollo de una arteriosclerosis acelerada, así como a sus secuelas clínicas (figura 16) (140).

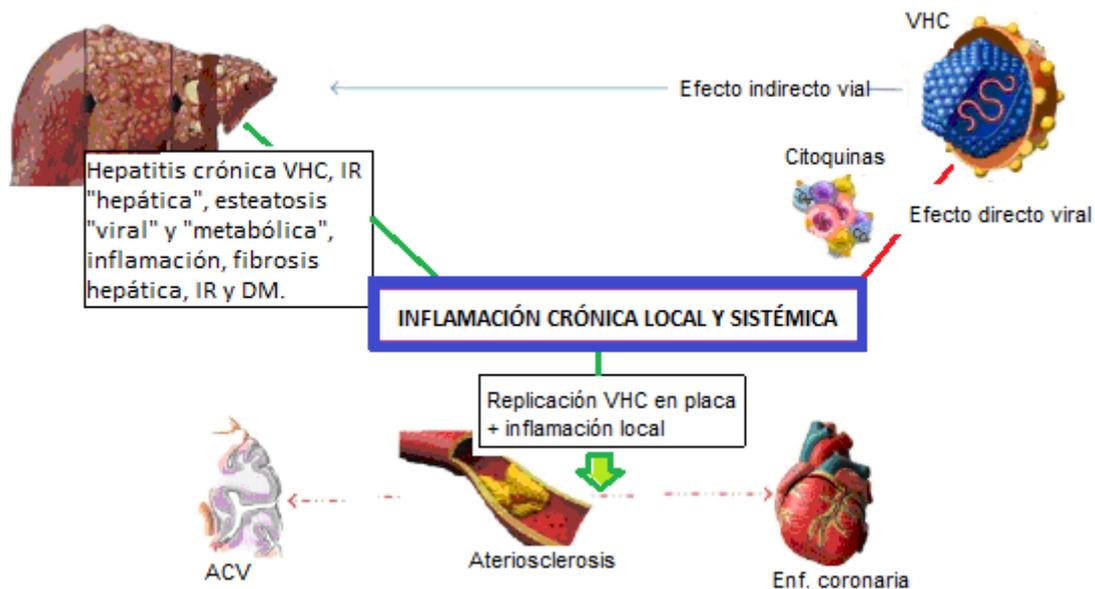


Figura 16. Mecanismos entre la infección por VHC y la enfermedad cardiovascular.

*Modificado de Voulgaris T. Atherosclerosis as extrahepatic manifestation of chronic infection with Hepatitis C Virus. *Hepatitis Research and treatment*. 2016. ⁽¹¹⁾

4.2.1 VHC y aterosclerosis

En 2002, por primera vez, Ishizaka et al. (141), propuso un vínculo entre la infección por VHC y la aterosclerosis carotídea. Desde entonces, varios estudios han detectado que la infección por el VHC está asociada de forma independiente con las placas carotídeas, con una prevalencia del 38% al 64% y es un factor predictivo independiente de aumento del GIM (Tabla 1). Además, un grupo egipcio (143) mostró que los pacientes con enfermedad activa, tenían más riesgo de aterosclerosis en comparación con los sujetos con infección pasada.

Un estudio reciente en 2012 de Petta et al. (138) no solo confirmó la mayor incidencia de placas de carótidas en estos pacientes, también las correlacionó con la gravedad de la fibrosis hepática y la edad del paciente (<55años sin fibrosis tenían menor

prevalencia de placa que si presentaban fibrosis ($p= 0,008$) sin observarse esta influencia de la fibrosis en los pacientes >55 años ($p = 0,51$). El análisis multivariante mostró que la edad avanzada (OR= 1,047, $p = 0,005$) y fibrosis hepática grave (OR= 2,177, $p= 0,03$) se asociaban de forma independiente a la presencia de placas carotídeas. Otro estudio italiano (144), identificó que la esteatosis que provoca el VHC es un buen marcador para identificar individuos propensos a la aterosclerosis. En el análisis multivariante, la esteatosis por el VHC fue un factor de riesgo independiente para la aterosclerosis carotídea (OR= 32,35, $p <0,001$). La esteatosis por VHC predijo la aterosclerosis con un área bajo la curva (AUC) de 0,78 ($p <0,001$); (especificidad: 81,7% y sensibilidad: 74,2%). Además, este estudio sugiere que la infección crónica por VHC predispone a estos individuos al desarrollo prematuro de aterosclerosis, a pesar de presentar un perfil de riesgo cardiovascular más favorable, con niveles lipídicos bajos y menor prevalencia del síndrome metabólico.

Por el contrario, un pequeño número de estudios no pudo probar tal asociación (146-149) pero un reciente metanálisis realizado por Huang et al. (150) reveló que los estudios que no mostraron asociación se realizaron en cohortes pequeñas con pacientes con alto riesgo de aterosclerosis (hemodializados, co-infectados VIH) con inconsistencias entre ellos (diferencias en la evaluación de la infección por VHC y el estadio de la enfermedad hepática, la técnica para evaluar la aterosclerosis...)

Teniendo en cuenta los datos mencionados anteriormente, la infección por VHC debe considerarse un factor de riesgo independiente de ateromatosis carotídea, sobre todo en pacientes mayores de 55 años, con fibrosis severa y esteatosis hepática, por lo que

se debería valorar el uso de la ecografía vascular para detectar la enfermedad aterosclerótica.

Autor, país, año	Diseño estudio	Asociación	Pacientes	Método de evaluación de la ateromatosis carotídea.
Ishizaka et al., Japón, 2002. [141]	Población transversal.	Positivo	4784/104 VHC+	Medición ecográfica de GIM.
Tomiyama et al., Japón, 2003. [142]	Estudio de cohorte	Positivo	7514/87 VHC infectado	Velocidad de la onda del pulso
Tien et al., EE.UU, 2009. [148]	Corte transversal	Negativo	75/ 53 VHC+	Ecografía GIM>1,5mm La infección VHC-VIH se asocian a mayor riesgo de ateroma
Caliskan et al., Turquía, 2009. [147]	Prospectivo 59 meses seguimiento	Negativo	36 VHC/ 36 control	Ecografía GIM>1mm
Mostafa et al., Egipto, 2010. [143]	Corte transversal	Positivo	329 anti-VHC+ / 724 anti-VHC -	Medición ecográfica GIM. Infección activa más riesgo que en infección pasada.
Masia et al, España, 2011. [146]	Estudio de cohortes	Negativo	138VIH/63 VHC-VIH	Ecografía GIM>1mm
Adinolfi et al., Italia, 2012. [144]	Control de casos	Positivo	803/326 VHC+	Ecografía carotídea GIM>1 mm- placa >1,5mm
Petta et al., Italia, 2012. [138]	Control de casos	Positivo	174 VHC G1 /174 Control	Ecografía GIM>1,3mm. Asocia fibrosis hepática- placa
Huang et al., China, 2013. [145]	Metaanálisis	Positivo		Correlación fuerte entre VHC- Ateromatosis carotídea

Tabla 1. Estudios que asocian infección por VHC y ateromatosis

**Modificado de Voulgaris T. Atherosclerosis as extrahepatic manifestation of chronic infection with Hepatitis C Virus. Hepatitis Research and treatment. 2016. ⁽¹¹⁾*

Por último en 2015, otro metanálisis (151) integró los estudios que relacionaban la infección por VHC con la aterosclerosis carotídea, con un OR ajustado combinado de 1,76 un $I^2 = 38,0\%$, sin heterogenicidad ($p = 0,127$) (Figura 17). Los datos sobre arteriosclerosis en otros territorios vasculares diferentes al carotídeo fueron insuficientes.

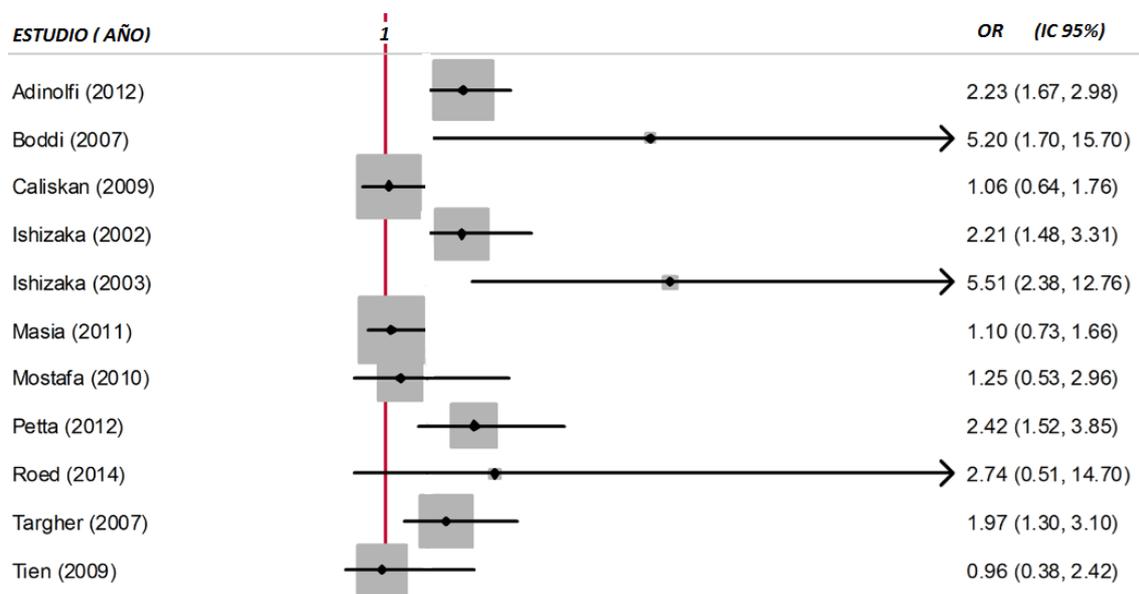


Figura 17. Metaanálisis: infección por VHC y aterosclerosis

*Modificado de Huan H. Is Hepatitis C associated with atherosclerotic burden? A systematic Review and Meta-Analysis. PLoS ONE. 2014. ⁽¹⁴⁵⁾

4.2.2. VHC y enfermedad cerebrovascular.

Existen pocos estudios entre la asociación del VHC y la enfermedad cerebrovascular pero en cohortes amplias y con resultados muy similares. En un gran estudio americano (152) se incluyeron 10.259 pacientes anti-VHC+ y 10.259 anti-VHC-, la relación de riesgo de muerte por accidente cerebrovascular fue de 2,20. Otro estudio realizado en Taiwán (154) incluyó 23.785 sujetos (1.307 VHC+), la Hazard Ratio (HR)

para muerte cerebrovascular fue de 2,18 en sujetos VHC+, en comparación con VHC-. Esta correlación se demostró también en un reciente estudio, donde el análisis multivariado mostró un OR de 2,04 para el accidente cerebrovascular entre los pacientes con VHC. Finalmente, un gran metaanálisis confirmó que la infección por VHC aumentó significativamente el riesgo de accidente cerebrovascular (OR = 1,97) y se correlacionaba de forma lineal con la carga viral (151).

Además Hsu et al. (155), no solo llegó a la conclusión de que los pacientes infectados con VHC tenían 23% más de riesgo de accidente cerebrovascular en comparación con los sujetos del mismo sexo y edad sin infección, sino que la terapia con IFN puede reducir el riesgo a largo plazo de enfermedad cerebrovascular.

	Tipo estudio	Población	Asociación
Forsen et al., Estados Unidos, 2009 [152]	Retrospectivo	21919 VHC+/ 67109 VHC-	Positiva
Gutiérrez et al., Estados Unidos, 2012 [153]	Retrospectivo NHANES (2005-2010)		Positiva
Liao et al., Taiwán, 2012 [154]	Cohortes	4094 VHC+/ 16376 VHC-	Positiva
Hsu et al., Taiwán, 2013 [155]	Cohorte retrospectiva	2875 VHC+/ 12450 VHC-	Positiva
Adinolfi et al., Italia, 2013 [156]	Cohorte retrospectiva	79 VHC+/ 741 VHC-	Positiva
Younossi et al., Estados Unidos, 2013 [157]	Retrospectivo NHANES (1999-2010)	173 VHC+/ 19568 VHC-	Negativa

Tabla 2. Estudios que asocian infección crónica por VCH y la enfermedad cerebrovascular.

*Modificado de Adinolfi L.E. *Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: Clinical impact and mechanisms*. *World J Gastroenterol*. 2014. ⁽⁷⁷⁾

Solo dos estudios, uno con un número pequeño de pacientes para extraer resultados confiables, y otro con gran heterogeneidad en la población estudiada, no pudieron demostrar una correlación positiva (157,158).

Todos estos datos (Tabla 2), sugieren que la infección por VHC aumenta el riesgo de accidente cerebrovascular, en población con edad más joven, independientemente del sexo y con menos factores de riesgo, como niveles más bajos de colesterol, triglicéridos y menor prevalencia de hipertensión.

4.2.3. VHC y riesgo cardiovascular

A pesar de la existencia de pruebas contradictorias, se puede discernir una relación entre la infección por VHC y el aumento del riesgo cardiovascular.

El estudio pionero en este campo fue publicado en 2004 por Vassalle et al. (159), donde los autores sugirieron que el VHC+ representa un predictor independiente para la ECV con un OR de 4,2 ($p = 0,05$). Un estudio epidemiológico con un seguimiento de 5 años en los Estados Unidos por Butt et al. (160), mostró una prevalencia significativamente mayor de enfermedad cardíaca en los pacientes infectados por el VHC, a pesar de ser más jóvenes y tener un perfil de riesgo metabólico más favorable, con un riesgo cardiovascular intermedio, medido por la puntuación de Framingham. Maruyama et al., mostraron defectos de perfusión miocárdica en el 87% de los pacientes con hepatitis C crónica, dichos defectos mejoraron después de la erradicación viral con el IFN.

Además, los resultados de Satapathy et al. (164), indicaron que la EC es significativamente más prevalente y severa (estenosis > 75%, afectación de ≥ 2 vasos) en los pacientes VHC+ en comparación con los controles pareados por edad, raza y sexo que se someten a una evaluación mediante angiograma coronario. Pothineni et al. (165), observaron mayor incidencia de ECV en pacientes VHC+ y la incidencia era mucho mayor en pacientes con infección activa (detección de ARN) frente a los que solo tienen anticuerpos.

En contraste a estos estudios, una revisión reciente (166), no mostró asociación entre la infección VHC y las enfermedades cardíacas, en particular con el infarto de miocardio. Otro estudio americano (167), no mostró ninguna correlación entre el VHC y la EC, aunque el período de seguimiento fue muy corto y la infección crónica por VHC fue poco documentada, además, de la presencia de factores de confusión no controlados. Otros estudios sin asociación (168) tenían tamaños muestrales pequeños.

Finalmente, un gran estudio de la base de datos NHANES (169), demostró que la infección crónica por VHC se asociaba de forma independiente con la insuficiencia cardíaca congestiva, pero no con la enfermedad cardíaca isquémica. A pesar de tales limitaciones, parece razonable concluir que la infección crónica por VHC parece estar relacionada con un riesgo cardiovascular excesivo (Tabla 3).

Por último en 2015, un metaanálisis (151) concluyó que los pacientes infectados por VHC tienen un mayor riesgo de mortalidad (65%) relacionada con la ECV (OR= 1,65; p =0,02) mayor riesgo de arteriosclerosis (OR= 2,27; p <0,001) con más en los pacientes

VHC+ y fumadores (OR=2,66; $p < 0,001$) y un aumento del riesgo de enfermedad cerebrovascular del 30% (OR=1,30; $p = 0,002$). El efecto de la infección por VHC en la enfermedad cardiovascular fue más fuerte en poblaciones con mayor prevalencia de diabetes ($> 10\%$) o hipertensión ($> 20\%$) y en los pacientes mayores de 50 años (OR=1,71; $p < 0,001$).

Autor, país, año.	Asociación	Tipo estudio	Población	Comentario
Vassalle et al., Italia, 2004. [159]	Positiva	Caso-control	491 VHC+/ 195VHC-	Primer estudio asociación entre VHC y ECV
Momiyama et al., Japón, 2005. [169]	Negativo	Caso- control	524 VHC+/ 106 controles	
Arcari et al., EE.UU, 2006.[168]	Negativo	Caso- control	292 casos/ 290 control/ 52 VHC	No asociación VHC e Infarto agudo de miocardio
Alyan et al., Turquía,2008.[161]	Positiva	Caso-control	139 VHC+ /225 VHC-	Infección VHC factor de riesgo independiente de arteriosclerosis coronaria
Butt et al., EE.UU, 2009. [160]	Positiva	Prospectivo cohorte de seguimiento	82.083VHC+/ 89582 VHC-	Infección VHC se asocia ECV tras ajustar por factores de riesgo tradicionales
Forde et al., Reino Unido, 2012. [167]	Negativo	Cohorte retrospectiva poblacional	4809 VHC +/ 71668 VHC-	No correlación con infarto pero con seguimiento corto
Adinolfi et al., Italia, 2013. [162]	Positiva	Cohorte retrospectiva	820/78 VHC+	VHC mayor prevalencia cardiopatía isquémica
Satapathy et al., EE.UU, 2013. [164]	Positivo	Retrospectivo caso-control	63VHC+/ 63control	Prevalencia y severidad de EC en VHC+ por angiograma
Oliveira et al., Brasil, 2013. [162]	Positivo	Retrospectivo caso-control	62VHC+/11 control	Mayor prevalencia y severidad de enfermedad coronaria en VHC+
Enger et al., EE.UU, 2014. [163]	Positivo	Cohorte retrospectiva	22733 VHC+/ 68198 VHC-	Angina inestable y ataque isquémico transitorio más prevalentes en VHC+
Pothineni et al., EE.UU, 2014. [165]	Positivo	Cohorte retrospectiva	8251 Ac VHC+/ 1434 ARN VHC+ /14799 VHC-	Mayor incidencia de ECV en VHC+ más si se detecta ARN que si solo presenta Ac.
Wong et al., EE.UU, 2014. [166]	Poco clara	Revisión sistémica		

Tabla 3. Estudios que asocian la infección por VHC y la ECV.

*Modificado de Voulgaris T. Atherosclerosis as extrahepatic manifestation of chronic infection with Hepatitis C Virus. *Hepatitis Research and treatment*. 2016. ⁽¹¹⁾

4.3. Estudios de riesgo CV tras el tratamiento antiviral del VHC

La RVS a través de la terapia antiviral se asocia con la resolución de la enfermedad hepática en pacientes con y sin cirrosis. Se ha observado una regresión de la fibrosis hepática y del riesgo de complicaciones (fallo hepático e hipertensión portal) así como de hepatocarcinoma tras la curación del virus. Además se ha comprobado este efecto en las manifestaciones extrahepáticas y alteraciones metabólicas.

La mayoría de los datos disponibles, son de pacientes tratados con IFN, y sugieren que el aclaramiento virológico, ya sea de forma espontánea o por la terapia, reduce el riesgo de accidente cerebrovascular y de mortalidad relacionada con la enfermedad cardiovascular (170, 171). El problema, es que el diseño de estos estudios no permite discernir si este efecto positivo observado se debe a la eliminación del virus o fue impulsado por el propio uso del IFN o por un sesgo de selección, ya que son poblaciones muy seleccionadas.

Recientemente, dos estudios de cohorte evalúan los EVC tras el tratamiento del VHC. Un gran estudio de EE.UU. (172), incluyó 4436 personas tratadas con biterapia (IFN + ribavirina) con el mismo número de controles sin tratamiento, y 12667 pacientes tratados con AAD emparejados con los mismos controles no tratados. Se observó una RVS del 76%. Después de ajustar por los factores de riesgo cardiovascular, la incidencia de ECV fue de 30,4 por 1000 personas-año entre los pacientes no tratados en comparación con 20,8 por 1000 personas-año entre pacientes que recibieron tratamiento ($p < 0,001$). Al desglosar por tipo de medicamento, las tasas de incidencia fueron de 23,5 y 16,5 por 1000 personas-año respectivamente, para los pacientes con

IFN + Ribavirina y AAD ($p < 0,001$). Combinando ambos tipos de medicamentos, los ECV ocurrieron en 19,1 por 1000 personas que lograron RVS y 22,5 por 1000 en las personas que no se curaron ($p < 0,001$). Los autores concluyeron que el tratamiento del VHC se asocia con un riesgo significativamente menor de ECV sobre todo en los pacientes con régimen de AAD y los que lograban RVS. El otro estudio retrospectivo de cohortes francés (173,174) (Cir Vir) con un seguimiento de casi 5 años, encontró que curar el VHC reduce el riesgo de EVC en personas con cirrosis compensada. Se observó una disminución general de eventos críticos y de la mortalidad general ($HR=0,27$; $p=0,001$) relacionados con el hígado o por causas extrahepáticas, en los pacientes que lograron un aclaramiento virológico con AAD. Los pacientes con RVS tuvieron un riesgo menor de ECV ($HR=0,42$; $p=0,001$). La curación del virus también se asoció con una menor incidencia de hepatocarcinoma en los pacientes con RVS frente a los que no ($HR= 0,29$; $p < 0,001$) y descompensación hepática ($HR=0,26$; $p < 0,001$). Después del ajuste por edad, sexo, cirrosis hepática, otras comorbilidades y uso de fármacos cardiovasculares, los datos mostraron que los tratamientos con AAD redujeron significativamente el riesgo de eventos cardiovasculares y cerebrovasculares (Frecuencia acumulada: 0,86) en comparación con los pacientes no tratados.

Este trabajo destacó los factores de riesgo de las complicaciones que ocurren después de la erradicación del VHC. Se observó una influencia de las características metabólicas (IMC $> 25 \text{Kg/m}^2$, dislipemia o DM) en el desarrollo de hepatocarcinoma aun con aclaramiento viral, así como el impacto de la progresión de la fibrosis en pacientes con comorbilidades relacionadas con síndrome metabólico. El problema de este trabajo es que se analizaron de forma conjunta ambas terapias antivirales (IFN y AAD) y un número bajo de pacientes con RVS por AAD, tan solo 179, con un periodo corto de

seguimiento (ya que estos fármacos se comercializaron en 2013), lo que dificulta la interpretación de datos. Los resultados preliminares parecen indicar un impacto positivo del aclaramiento del VHC en la aterosclerosis subclínica, los eventos cardiovasculares y las afecciones pro-aterogénicas (175).

Varios estudios han evaluado el impacto del aclaramiento del VHC en las afecciones metabólicas pro-ateroscleróticas observando desaparición o mejora de la resistencia a la insulina, reducción del riesgo de desarrollar diabetes y mejora del control glucémico (176,177). Un estudio prospectivo evaluó los cambios de IR tres meses después de la RVS de los tratamientos con AAD en pacientes no diabéticos con infección VHC y enfermedad hepática avanzada. Los datos mostraron que la erradicación del virus se asoció con la desaparición o reducción significativa de IR en el 76% de los casos. Además, estos pacientes también tuvieron una mejora significativa en el metabolismo de la glucosa, hasta en los pacientes con cirrosis avanzada. También hay evidencias de que el aclaramiento del VHC promueve la recuperación de las citoquinas y los marcadores inflamatorios asociados con la aterosclerosis (178-179) y la desaparición de la crioglobulinemia (181). Además se ha observado que el aclaramiento del ARN del VHC por AAD (sobre todo con Sofosbuvir) mucho más rápido que con el IFN, aumenta la concentración y el tamaño de las LDL. Como se ha mencionado el VHC está estrechamente relacionado con el metabolismo lipídico del huésped, los Lipoviriones se liberan con la erradicación viral aumentando las concentraciones de lípidos en plasma, sobre todo de las LDL y las lipoproteínas ricas en triglicéridos y Apo B 100. Meisser et al. (182), demostraron que estos cambios reflejan un equilibrio alterado de la lipogénesis por el VHC y una posterior eliminación de la

perturbación del metabolismo lipídico del huésped tras la terapia antiviral ya sea por AAD o por IFN.

En 2018, se ha publicado el impacto directo de la eliminación del VHC por los AAD en la arterosclerosis subclínica. Un estudio multicéntrico italiano (183) descubrió una disminución significativa del GIM carotídeo (de 0,94 mm a 0,81 mm, $p < 0,001$), sin observar efecto sobre las placas carotídeas. Los resultados de este estudio sugieren que la erradicación del VHC por AAD produce una mejora en la aterosclerosis carotídea y, en particular, a una reducción significativa de las GIM. También es importante señalar que en pacientes con aterosclerosis avanzada con presencia de placas carotídeas, la eliminación del VHC no produjo cambios significativos. Los resultados se confirmaron al estratificar por diferentes factores de riesgo cardiovascular. Estos datos contrastan con otro estudio japonés (184) que evaluó la ateromatosis subclínica analizando solo la modificación del GIM (no la presencia de placa), en los pacientes infectado con VHC tratados con AAD. Tras 12 meses de seguimiento se observó un aumento significativo del GIM en los pacientes con RVS, de los niveles de colesterol y LDL.

La eliminación del VHC por AAD tiene impacto en los factores metabólicos e inmunogénicos proaterogénicos y un efecto en la reducción del desarrollo de la aterosclerosis y la enfermedad cardiovascular (figura 18), aunque los datos parecen indicar que esta mejora es menos sostenida en pacientes con VHC con enfermedad hepática avanzada o presencia de factores de riesgo de síndrome metabólico y cuando el daño arteriosclerótico está establecido (placa de ateroma). En vista a estos datos, es de gran importancia el tratamiento temprano de la infección por VHC, siendo útil

aconsejar a los pacientes que curan la infección por el VHC, controlar el peso corporal, comer una dieta baja en grasas y evitar otros factores de riesgo como el tabaquismo. Teniendo en cuenta el número limitado de estudios sobre el tema y el seguimiento a corto plazo tras el tratamiento con AAD, por el momento los datos no son suficientes para permitir conclusiones definitivas, precisándose de más estudios para aclarar el impacto de la depuración del VHC en la aterosclerosis y la enfermedad cardiovascular a largo plazo.

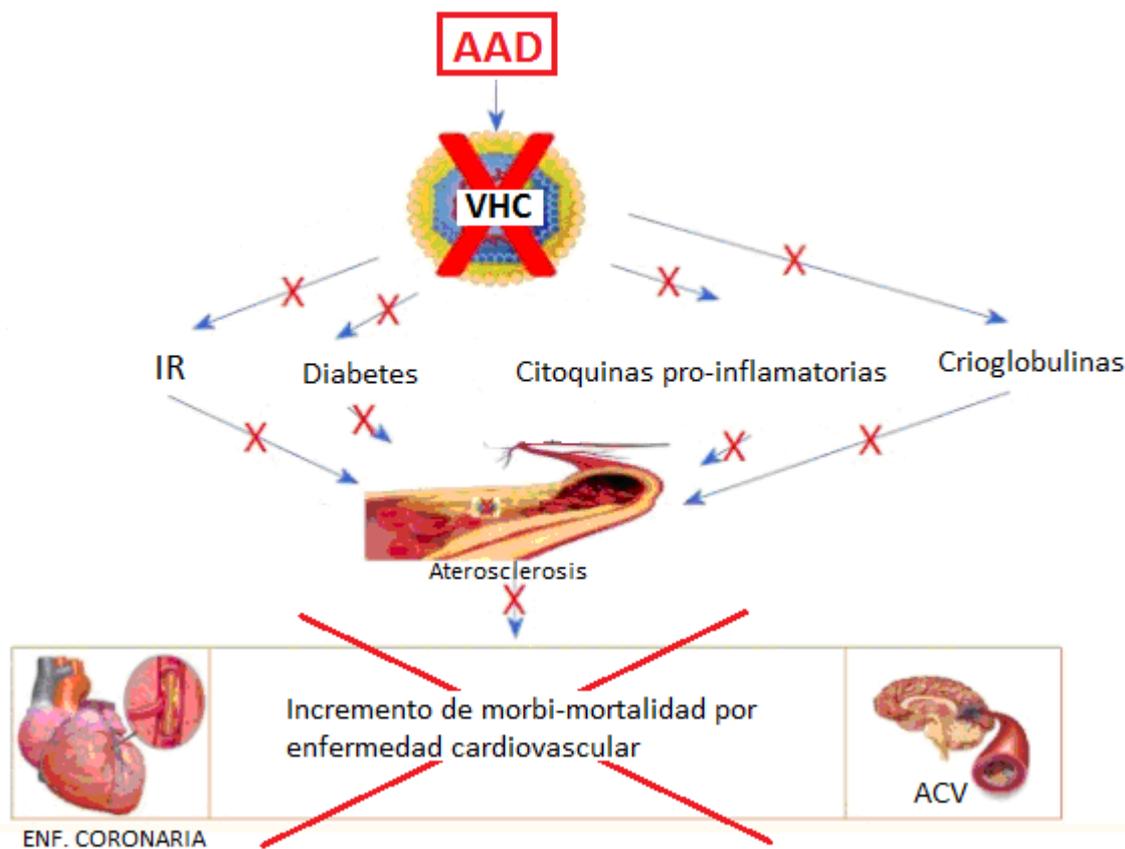


Figura 18. Aterosclerosis y posible efecto de la eliminación del VHC con AAD.

*Modificado de Adinolfi L.E. Chronic hepatitis C, atherosclerosis and cardiovascular disease: what impact of DAA treatment? *World J Gastroenterol.* 2018. ⁽¹⁷⁷⁾

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La enfermedad cardiovascular representa uno de los motivos más frecuentes de morbi-mortalidad en el mundo actual, por lo que es necesario valorar el riesgo en cada grupo poblacional. La medición del GIM y las placas de ateroma con ecografía en arterias carótidas y femorales son marcadores subclínicos de aterosclerosis y se consideran predictores independientes de eventos cardiovasculares (51). Además, el área o el grado de estenosis, así como la composición (por escala de grises ecográfica) son predictores de la vulnerabilidad de la placa de ateroma. Está aceptado, que placas hipoecoicas suponen presencia de lípidos, siendo más vulnerables (71).

La infección crónica por VHC es una de las principales causas de enfermedad hepática crónica, pero también produce afectación extrahepática y alteraciones metabólicas (3). Recientemente, se ha sugerido un aumento de ateromatosis subclínica en los pacientes con VHC, así como de eventos cardiovasculares (enfermedad coronaria y accidente cerebro-vascular), aunque esta asociación no está bien establecida, dada la heterogenicidad entre los estudios por diferencias metodológicas y el tamaño muestral pequeño, sobre todo en cohortes europeas (4,5).

Este virus provoca un estado inflamatorio crónico, con aumento de la secreción de citoquinas proinflamatorias y alteraciones en el metabolismo lipídico y glucídico, promoviendo una aterogénesis acelerada, que afecta a los pacientes infectados con VHC a edades más tempranas que en la población general. También ocasiona lesión directa en las arterias (ARN del VHC en el endotelio), lo que podría sugerir una

composición más lipídica de las placas, dado que el virus se asocia a las lipoproteínas en forma de lipovirionpartículas (73).

Por el momento, estos resultados revelan un problema emergente en los pacientes con VHC, ahora que contamos con tratamientos antivirales eficaces para la erradicación del virus, por lo que es necesario conocer la magnitud del problema tras la curación de esta infección con la terapia.

El presente trabajo analiza la presencia de ateromatosis subclínica medida con el GIM carotídeo y la presencia de placa de ateroma tanto en territorio carotídeo como femoral en pacientes con infección por VHC de una cohorte española, estudia la composición de las placas en esta población para conocer si existen cambios tras el tratamiento antiviral. El conocimiento de todos estos datos nos permitirá una mejor evaluación del riesgo cardiovascular en los pacientes infectados por VHC y valorar la mejor actitud para prevenir eventos cardiovasculares a futuro.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis:

El riesgo cardiovascular en pacientes con infección crónica por VHC se asocia a la propia infección viral, siendo factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica. Esta inflamación que produce el virus promueve cambios en el metabolismo lipídico y glucídico, pudiendo ocasionar placas de ateroma con mayor componente lipídico, más vulnerables, y a edades más precoces que en la población general.

El uso reciente de antivirales de acción directa, cura la infección por VHC, y además revierten las alteraciones hepáticas y extrahepáticas precoces sin observarse cambios en las lesiones más avanzadas, ocurriendo de forma similar en la enfermedad ateromatosa.

Objetivos:

Objetivo principal: Conocer la asociación entre el VHC y la ateromatosis subclínica.

Objetivos secundarios:

- Comparar la ateromatosis subclínica de los pacientes con infección crónica por VHC frente a un grupo de pacientes sin infección por VHC.
- Evaluar las características virales y metabólicas que se asocian con ateromatosis en los pacientes infectados por VHC.
- Valorar la modificación de la ateromatosis subclínica tras 12 meses del tratamiento de la infección crónica por VHC con antivirales de acción directa.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño

Estudio observacional y descriptivo en dos fases:

- Fase 1: Estudio transversal para conocer la prevalencia de ateromatosis subclínica, describir la composición de las placas de ateroma y las alteraciones del perfil lipídico y glucídico en pacientes con infección crónica por VHC de la provincia de Lleida, comparando con una población control sin infección viral (pacientes del grupo control del estudio NEFRONA con registro nacional).

- Fase 2: Estudio observacional y prospectivo para analizar si existe modificación de la ateromatosis subclínica tras la curación de la infección por VHC con fármacos AAD en este grupo de pacientes.

2. Ámbito de estudio y consideraciones éticas

El estudio se realizó de forma ambulatoria con los pacientes procedentes de las consultas de Digestivo de los Hospitales Universitarios Arnau de Vilanova y Santa María de Lleida, España.

Es un estudio de colaboración entre el servicio de Aparato Digestivo y la Unidad de Detección y Tratamiento de Enfermedades Aterotrombóticas (UDETMA) de estos hospitales.

El estudio fue aprobado por el comité ético y de investigación clínica del Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Todos los pacientes incluidos en el estudio recibían el

consentimiento informado para su participación en el estudio y aceptaban el mismo de forma voluntaria (modelo de consentimiento informado en el Anexo 1).

3. Sujetos a estudio

3.1- Participantes:

Pacientes atendidos de forma secuencial en las consultas de Hepatología con diagnóstico de hepatitis crónica por VHC, que aceptaban participar y cumplían los criterios del estudio. La infección estaba caracterizada por la presencia de anticuerpos IgG anti-VHC y carga viral positiva (ARN del VHC).

Los participantes se remitieron a las consultas de riesgo cardiovascular de la UDETMA, donde se realizó la ecografía arterial para diagnosticar la ateromatosis subclínica.

3.2 - Criterios de inclusión:

1. Pacientes con infección crónica por VHC con cualquier genotipo viral y grado de fibrosis hepática, antes de iniciar tratamiento con AAD, mayores de 18 años.
2. Aceptación del estudio y firma del consentimiento informado.
3. Pacientes que no cumplan los criterios de exclusión.

3.3 - Criterios de exclusión:

1. Edad superior a 75 años.
2. Cirrosis descompensada.

3. Presencia de carcinoma hepatocelular u otros tumores.
4. Enfermedad hepática crónica de etiología diferente al VHC (por alcohol, VHB, patología autoinmune o por depósito de hierro).
5. Coinfección por VIH.
6. Enfermedad inflamatoria o infecciosa aguda o crónica.
7. Antecedentes de eventos cardiovasculares previos según la *Clasificación Internacional de Enfermedades, 10ª revisión (ICD10-CM)* [a) Enfermedad cerebrovascular: ataque isquémico transitorio y / o accidente cerebrovascular estable. b) Enfermedad cardíaca isquémica: infarto agudo de miocardio, angina de pecho inestable, arritmias y / o insuficiencia cardíaca congestiva. c) Enfermedad arterial periférica de las extremidades inferiores o aneurisma aórtico] d) en tratamiento con antiagregantes o anticoagulantes].
8. Insuficiencia renal crónica (por la ecuación CKD-EPI <60 ml / min / $1,73$ m²).
9. Diagnóstico de diabetes mellitus (según criterios de la *American Diabetes Association*: glucemia plasmática en ayunas mayor de 126 mg/dl, glucosa plasmática al azar >200 mg/dl).
10. Pacientes con dislipemia tratados con hipolipemiantes.
11. Antecedentes de hipertensión arterial en tratamiento con antihipertensivos.
12. Historia familiar de cardiopatía isquémica precoz.
13. Embarazo o lactancia.
14. Discapacidad Mental.

4. Tamaño muestral. Periodo de estudio.

Al tratarse de un estudio piloto, no fue posible el cálculo formal del tamaño muestral. Teniendo en cuenta la muestra de los estudios previos que describen la ateromatosis subclínica en los pacientes con VHC de cohortes europeas, se estimó que con una muestra de 185 pacientes sería suficiente para obtener resultados concluyentes.

Para la segunda fase, se consideró que sería conveniente un seguimiento del 50% de los pacientes que iniciaron el estudio en la primera fase. Las modificaciones de las placas de ateroma se observaron tras 12 meses de la erradicación de la infección por VHC con AAD, dando tiempo para ver cambios en la ateromatosis sin alargar mucho el periodo de seguimiento, tratando de evitar pérdidas en los pacientes estudiados.

Este estudio se realizó de manera secuencial desde febrero de 2016 a junio de 2018.

La primera fase de reclutamiento de febrero de 2016 a junio de 2017 y la segunda fase de seguimiento hasta junio de 2018.

5. Plan de trabajo

- **Fase 1: Estudio transversal de prevalencia de enfermedad ateromatosa en pacientes con infección crónica por VHC.**

A los 185 pacientes que aceptaron participar en el estudio, antes del tratamiento con AAD, se les realizó ecografía arterial para detectar ateromatosis subclínica y estudio de la composición de las placas de ateroma. (Explicación posterior del modo de realización). En ese mismo momento se realizó analítica sanguínea en

ayunas (para valorar el perfil lipídico y glucídico) y elastografía hepática (para determinar la fibrosis hepática).

Los datos de estos pacientes se compararon con los datos clínicos-analíticos y el estudio ecográfico vascular, siguiendo el mismo protocolo (48) de 411 pacientes controles sin infección crónica por VHC procedentes de la base de datos del estudio nacional NEFRONA (solicitud de permiso para el uso de los datos del estudio NEFRONA en Anexo 2). Estos pacientes cumplían los mismos criterios de exclusión y pertenecían al grupo control del estudio anteriormente citado, con un riesgo cardiovascular bajo <5% según tablas SCORE.

Fase 2: Estudio de seguimiento para valorar si existe modificación de enfermedad ateromatosa tras la curación de la infección por VHC. Estudio antes/ después de tratamiento antiviral con AAD.

Los pacientes estudiados en la fase previa con infección por VHC antes del tratamiento, recibieron terapia antiviral obteniéndose una RVS del 100%. De estos, 85 pacientes completaron el seguimiento tras 12 meses de la erradicación del virus estudiando nuevamente la ateromatosis subclínica para valorar si existían modificaciones.

Tras este periodo (12 meses después de la RVS) se repitió el estudio vascular ecográfico, la analítica sanguínea y la elastografía hepática para valorar la progresión/ estabilización/regresión de la ateromatosis subclínica, del perfil lipídico- glucídico y la fibrosis hepática al curar la infección por VHC con AAD.

6. Variables a estudio

1- Variables identificativas:

Número de registro, número de tarjeta sanitaria o SAP (sistema de información poblacional del Sistema Catalán de Salut).

2-Variables resultado:

- Grosor íntima- media carotídeo (GIM) (medido solo en los pacientes que no presentan placa de ateroma)
- Placa de ateroma (GIM >1,5mm)
- Se definió ateromatosis subclínica como el aumento del GIM y la presencia de una o más placas de ateroma (GIM>1,5mm) en cualquiera de los territorios estudiados.
- Composición de la placa de ateroma (porcentaje de lípidos, fibrosis y calcio según escala de grises ecográfica con software HEMODYN-4)

A) Metodología del estudio ecográfico arterial

**Aparato utilizado y áreas estudiadas:*

- Dos técnicos capacitados realizaron las exploraciones ecográficas con un ecógrafo de *General Electric, modelo vivid-i® con una sonda vascular 12L-RS*, utilizando un protocolo estandarizado y publicado anteriormente por el grupo investigador (UDETMA) (48). Las imágenes se analizaron de forma ciega por un único lector, y una

confiabilidad interobservador con coeficiente *Kappa* de 1. Estos datos, fueron digitalizados en un PC (CPU Pentium 4 a 1 GHz, 512 MB de RAM, disco duro de 120 GB) equipado con una tarjeta de captura y un software (Data Translation DT3130 series).

- La carga de enfermedad ateromatosa se evaluó mediante: ecografía doppler color vascular modo B en arterias carótidas (carótida común (ACC), bulbo o bifurcación carotídea y carótida interna (ACI), en ambos lados) y en arterias femorales (común y superficial, también bilateral). (Figura 19)

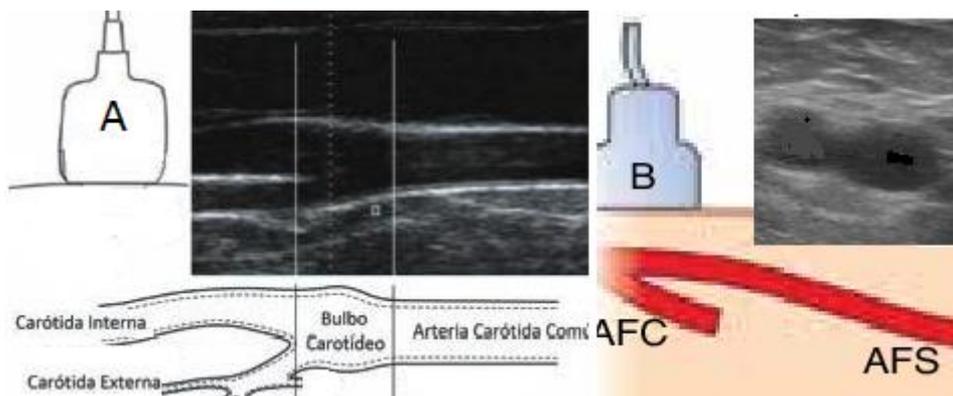


Figura 19. Segmentos vasculares estudiados en arterias carótidas (A) y femorales (B).

*Técnica realizada:

El paciente se colocaba en decúbito supino sobre una camilla, en una habitación oscura, con hiperextensión cervical y la cabeza ligeramente ladeada hacia el lado contrario al explorado y las piernas extendidas, tras un reposo de 5 minutos se realizaba la exploración.

Se realizó en primer lugar una evaluación del eje vascular en “modo B” en el plano axial, para evaluar la morfología de la pared arterial de forma óptima diferenciando entre la sangre en la luz del vaso y las estructuras vasculares de la pared.

En segundo lugar, se evaluó el eje vascular en “modo B” en el plano longitudinal, con la sonda incidiendo lateral y estrictamente perpendicular, que permite observar cada segmento de la pared arterial de los vasos anteriormente citados. (Figura 20).



Figura 20. Evaluación del eje vascular con el ecógrafo: corte axial y longitudinal

***Medición del GIM:**

Se evaluó el GIM en las regiones libres de placa, en la pared posterior o distal de ACC, bifurcación y ACI en el lado derecho e izquierdo. El software realiza una medición automática del GIM del segmento arterial que queremos medir. Se detecta la interfaz luz-intima y la interfaz media-adventicia y realiza un trazo sobre cada punto, creando una línea continua interna que corresponde a la interfaz íntima-media y una línea continua externa que corresponde a la interfaz media-adventicia. Si la medida

automática no es adecuada, se puede realizar una corrección manual. El valor del GIM medio, fue la media de los valores de GIM de todas las regiones estudiadas.

A nivel técnico se clasificaba la medición como: valorable, si se observaba el GIM y era medible; o no valorable por placa, si la existencia de una placa no permitía encontrar un segmento de pared libre de placa que permitiera medir GIM.

**Medición de la placa de ateroma:*

Se evaluaron los segmentos descritos previamente (tanto en las arterias carotídeas como femorales) en busca de placas de ateroma mediante el modo B. Se define placa como una estructura focal en la pared interna del vaso (Figura 10) con un GIM mayor a 1,5 mm, medido desde la interfaz media-adventicia a la interfaz intima-luz, según criterios del último consenso de Mannheim (50). Se identificaban todas las placas de cada paciente tanto si eran visualizadas en ambas paredes, anterior y posterior, como si solo se visualizaban en una de ellas, en los 10 segmentos arteriales estudiados.

Cada placa se grababa y se recogían estas características:

- a) **Localización de cada placa:** arteria carótida común, bulbo o bifurcación carotídea, arteria carotídea interna, arteria femoral superficial y arteria femoral profunda. Tanto en las arterias del lado derecho como del lado izquierdo.
- b) **Número total de placas:** si una placa afectaba a dos segmentos arteriales de forma continua computaba como una sola placa.

c) **Área de cada placa:** seleccionando el corte en el que se visualizaba mayor área y con la imagen congelada se rodeaba el contorno, tanto en la pared posterior como anterior. El número de píxeles dentro del contorno de la placa, se utilizó para estimar el tamaño de la placa (140 píxeles/ cm).

d) **Carga de enfermedad ateromatosa en cada paciente:** Las placas se midieron en todos los territorios explorados, siendo la carga ateromatosa en cada paciente el sumatorio de todos los valores obtenidos (carótidas y femorales) tanto del área como del número de placas detectado.

* Estudio de la composición de la placa de ateroma

Para el procesamiento de las imágenes y la cuantificación de la composición de las placas se utilizó el software HEMODYN 4M (Dinap SRL, Argentina), que permite calcular el porcentaje de lípidos, tejido fibroso y calcio presente en las diferentes placas exploradas, según su ecogenicidad. Se basa en un análisis computarizado por escala de mediana de grises (MNG) realizando un mapeo de los píxeles de la placa. Esta caracterización computarizada, como ya se comentó, obtiene resultados más objetivos que la caracterización visual, con una buena correlación con los componentes histológicos de la placa.

La imagen ecográfica de la placa es procesada digitalmente en un ordenador para obtener los tonos de grises por los que está formada. La resolución de las imágenes se fijó en 768 × 576 píxeles y 256 niveles de gris (0 = negro; 255 = blanco). Para ello, se adjudica un valor bajo de la escala al punto más ecolucente de la imagen, que es la

sangre intraluminal, y un valor más alto a la región más ecogénica, que es la adventicia de la arteria. Se transforma la imagen a una escala cuyos valores pueden ir desde 0 (color negro) hasta 255 (color blanco) y posteriormente se delimita el área de la placa de ateroma. De esta forma se obtiene la suma de puntos en una escala de grises estandarizada. Posteriormente, el software realiza un mapeo de los píxeles de toda el área de la placa de ateroma y le asigna un color según su MNG. De acuerdo a la ecogenicidad, se colorea cada punto de rojo si el MNG es menor de 50 que corresponde a componente lipídico (hipoecoico), amarillo si está entre 50-70 que corresponde a componente fibroso (isoecoico) y de verde si es mayor de 70 que corresponde a componente calcificado (hiperecoico) (figura 21).

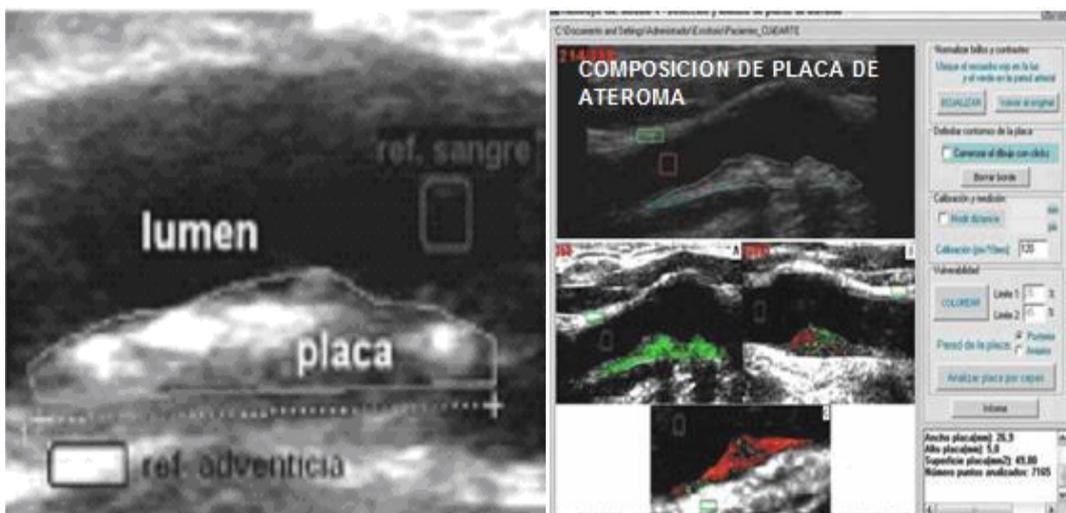


Figura 21. Método de análisis computadorizado de la composición de la placa

B) Recogida de los datos clínicos y analíticos:

Las mediciones antropométricas se registraron en las consultas de la UDETMA antes de realizar la ecografía arterial. Se midió el peso de cada pacientes en kilogramos y altura en metros, para el cálculo del índice de masa corporal (IMC kg/m²). La presión arterial sistólica y diastólica se midió en tres ocasiones en posición de sedestación, y tras 10 minutos de reposo, utilizando un oscilómetro automático (OMRON HEM-705 CP®) registrándose la media de las dos últimas mediciones.

Los pacientes fueron entrevistados de forma estandarizada y clasificados de acuerdo a su historial de tabaquismo como fumadores (preguntando la cantidad de cigarrillos día que fumaban), ex fumadores o no fumadores. El riesgo cardiovascular se calculó utilizando las tablas de riesgo SCORE (60).

A estos pacientes se les realizó extracción de sangre para suero y plasma de EDTA por la mañana y en ayunas, se centrifugaron las muestras para las determinaciones analíticas del perfil lipídico y glucídico en el laboratorio de los hospitales participantes (siendo analíticas de control necesarias para iniciar el tratamiento antiviral: antes de iniciar el fármaco y comenzar el estudio, al finalizar el tratamiento para valorar RVS y a los 12 meses tras la terapia.) La carga viral de ARN del VHC se analizó mediante transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), con un límite de detección de 12 UI / ml. El genotipo viral con la determinación INNO-LiPA, HVC II (Bayer®).

En las consultas de Hepatología se realizó elastografía de transición hepática (Fibroscan® [FS], Echosens, Paris, Francia) para valorar el grado de fibrosis hepática midiéndose en KiloPascales (KPas) y clasificándose según lo establecido: menor de 7.5 (KPas) - no fibrosis (F0-1), de 7.6- 9.5 KPas - fibrosis moderada (F2), de 9.6- 12.5 KPas- fibrosis significativa (F3) y mayor de 12.5 KPas - cirrosis hepática (F4).

3-Variables explicativas:

A continuación se enumeran las variables analizadas en el estudio. Estos datos se recogieron, al inicio y a los 12 meses de concluir el tratamiento antiviral, de la historia clínica informatizada de cada paciente (SAP) se introdujeron en una base de datos diseñada específicamente para este estudio. Se definieron de la siguiente manera:

A) Variables clínico epidemiológicas de los pacientes:

**Factores no modificables:*

-Edad: edad del paciente medida en años en el momento del inicio del estudio.

-Sexo: dividido en varones y mujeres.

**Factores modificables:*

-Tabaquismo: La variable se recogía según lo referido por el paciente. Se clasificaba en: no fumador, exfumador y fumador. Los fumadores se contabilizó los cigarrillos consumidos al día, clasificándose en menor de 20 cigarrillos/día y más de 20 cigarrillos/día. Se consideró hábito tabáquico a los pacientes fumadores y exfumadores.

- Comorbilidades:

-Hipertensión (HTA): se consideró hipertenso a los pacientes que presentan cifras de tensión arterial sistólica >120 mmHg y/o cifras de tensión arterial diastólica de 85 mmHg y que no tomaban tratamiento antihipertensivo ya que estos se excluían del estudio (TAS>135mmHg ya indicación de tratamiento)

-Hipertrigliceridemia (HiperTG): se consideró hipertrigliceridemia a los pacientes que presentaban niveles de triglicéridos en sangre superiores a 150 mg/dl.

-Hiperglucemia (HiperGluc): se consideró hiperglucemia a los pacientes que presentaban niveles de glucemia sérica en ayunas superior a 126 g/dl, excluyéndose del estudio.

-Hipercolesterolemia (HiperCT): se consideró dislipemicos a los pacientes que presentaban niveles de colesterol total en sangre superiores a 200 mg/dl y que no tomaran tratamiento hipolipemiante ya que estos se excluían del estudio.

-Obesidad: se consideró obeso a los pacientes con un IMC por encima de 30 Kg/m².

-Cifras de Tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD): definida como la media de las dos determinaciones de TAS y TAD realizadas por el equipo investigador. Se midieron en mmHg.

- Índice de masa corporal (IMC): medido en Kg/m², definido como el cociente entre peso en kilogramos/ (talla en metros)².

- **SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation):** Escala de riesgo cardiovascular: Se evaluó el riesgo cardiovascular a 10 años mediante las tablas de SCORE. Se clasificó el riesgo como: menor a 5% de riesgo cardiovascular a 10 años (bajo riesgo), de 5 a 10% (riesgo bajo-intermedio) y >10% (riesgo intermedio-alto) (60).

B) Variables analíticas de los pacientes:

* Variables relacionadas con el perfil lipídico: analizados con técnicas enzimáticas calorimétricas que se determinan en el autoanalizador MODULAR (Roche Diagnostics®);

- **Colesterol total (CT)**: medido en mg/dL;
- **Colesterol LDL (LDLc)**: medido en mg/dL;
- **Colesterol HDL (HDLc)**: medido en mg/dL;
- **Triglicéridos (TG)**: medidos en mg/dL.

Cálculo de datos del perfil lipídico emergentes como factores de riesgo cardiovascular:

- **Colesterol no HDL**: medido en mg/dL. Es el resultado de restar el HDLc al CT (CT-HDLc), y representa el colesterol LDL, IDL y VLDL y se denomina colesterol aterogénico.
- **Índice aterogénico (IA)**: es el cociente entre el CT/HDLc. Los valores normales de este índice en la población general son de 4 o menores, mientras que si el índice es mayor, más probabilidades de presentar arteriosclerosis.

* Variables relacionadas con el perfil glucídico:

-**Glucemia plasmática basal en ayunas:** Medida en mg/dL por el método de hexoquinasa en el autoanalizador MODULAR (Roche Diagnostics®).

Cálculo de factores de riesgo cardiovascular glucídicos emergentes: La evaluación de la insulinoresistencia requiere de metodología sofisticada de difícil aplicación. Por lo cual se han sugerido estos estimadores más sencillos:

-**Índice de Insulinoresistencia (IR1: TG/HDLc):** se calcula el cociente triglicéridos/HDLc. Se ha comprobado que este cociente es comparable con las estimaciones que utilizan insulina en ayunas (116). Puntuaciones mayores de 2,4 son indicativas de insulinoresistencia en la población general aunque hay diferencias según el sexo.

-**Índice de insulinoresistencia (IR2: TyG):** es el logaritmo natural (Ln) del producto de glucosa y triglicéridos plasmáticos, según la siguiente fórmula: $\text{Ln}(\text{TG} [\text{mg/dL}] \times \text{glucosa} [\text{mg/dL}]/2)$. Esta relación se ha sugerido como una alternativa útil para la estimación de la acción de la insulina, con buena sensibilidad y especificidad para la detección de IR y se asocia con aterosclerosis carotídea (112). El valor del índice TyG superior a 8,8 en población general, es indicativo de IR.

* Variables relacionadas con el perfil hepático y PCR: con técnicas enzimáticas calorimétricas que se determinan en el autoanalizador MODULAR (Roche Diagnostics®);

- **Transaminasas hepáticas:** asparto aminotransferasa (**AST**), alanina aminotransferasa (**ALT**), Gamma glutamil transpeptidasa (**GGT**): medidas en UI/ml. Expresan necroinflamación hepática.
- **Bilirrubina:** medida en mg/l. Expresa afectación de la función hepática aumentando en fase de cirrosis hepática.
- **Albúmina:** medida en g/dl. Expresa afectación de la función hepática disminuyendo en fase de cirrosis hepática y desnutrición proteica.
- **Plaquetas:** medida en $10^9/L$. Expresa afectación de la función hepática disminuyendo en fase de cirrosis hepática.
- **Proteína C reactiva (PCR):** en mg/dl. La medición se realizó por un método inmunturbidimétrico. Es indicativa de inflamación y su aumento es indicativo de mayor riesgo cardiovascular.

C) Variables de estudio vascular ecográfico

- **GIM:** Grosor íntima-media carotídeo. Medido con ecografía vascular en mm.
- **Placa de ateroma:** lesión focal vascular con GIM > 1,5mm en ecografía. Se clasifica como presencia o ausencia de placa.
- **Carga de enfermedad ateromatosa:** medida por la suma de todas las áreas y número de las placas detectadas en cada paciente. **Área de placa:** medida de mm². Sumatorio del contorno de las placas detectadas con la ecografía. **Número de placas:** dentro de los 10 segmentos arteriales estudiados.

-**Localización de las placas:** se clasifican según se detecten las placas en el territorio carotídeo, femoral o en ambos (si se observan placas que afectan las dos zonas arteriales).

-**Composición de la placa:** La medición de la composición según su ecogenicidad por escala de grises, calcula el porcentaje de los componentes: lípidos, fibrosis y calcio presentes en cada placa. Es el sumatorio del porcentaje de cada componente en todas las placas detectadas en cada paciente.

D) Variables relacionadas con la infección por VHC y la enfermedad hepática

- **Genotipo viral: G1, G2, G3, G4.** Determinado con INNO-LiPA, HVC II (Bayer®).

-**Carga viral:** medido en UI/ml. Se analizó en la analítica al inicio del tratamiento y a las 12 semanas para valorar RVS (carga negativa). Se midió mediante transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), con un límite de detección de 12 UI / ml.

-**Tiempo de infección por VHC:** medido en años. Tiempo transcurrido desde la detección serológica (Anticuerpo IgG AntiVHC) en los pacientes con infección crónica por VHC.

-**Tratamiento antiviral:** se registra el fármaco con el que se trató el VHC según los protocolos de la Asociación Española para Estudio del Hígado (AEEH) y la guía de tratamiento del VHC del Institut Català de Salut (ICS) vigentes en el momento de inclusión del estudio.

-**Respuesta a tratamiento:** se clasificó a los pacientes como:

- “Naive” si nunca habían recibido tratamiento.
- No respondedores a biterapia: pacientes tratados con IFN y Ribavirina que no curaron el virus y se tuvieron que retratar.
- No respondedores a Inhibidor de Proteasas (IP) de primera generación: pacientes tratados con Telaprevir y Boceprevir que no curaron el virus y se tuvieron que retratar.

-Fibrosis hepática: medida con elastografía de transición hepática con Fibroscan® ([FS], Echosens, Paris, Francia). Clasificándose: menor de 7.5 KPas - no fibrosis (F0-1), de 7.6- 9.5 KPas - fibrosis moderada (F2), de 9.6- 12.5 KPas- fibrosis significativa (F3) y mayor de 12.5 KPas - cirrosis hepática (F4). Se considera fibrosis significativa la suma F3 y F4.

-Esteatosis hepática (HSI): medida con la fórmula $8 \times \text{ALT/AST} + \text{IMC} + (2 \text{ si DM}) (+2 \text{ si mujer})$. Se considera como presencia de esteatosis o grasa en el hígado la puntuación mayor de 36.

7. Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron utilizando el software Statistical Package for Social Science (SPSS IBM Statistics for Windows, versión 20.0, Armonk, NY: IBM Corp.). La significación estadística se fijó en un valor de $p < 0,05$.

* Análisis descriptivo:

El análisis descriptivo incluyó frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas, comparadas con la prueba de chi-cuadrado de Pearson o test exacto de

Fisher; medianas y rango intercuartílico (IQR), o medias y desviaciones estándar (DE) para los datos cuantitativos, según su distribución de normalidad, comparadas con el test paramétrico T de Student (variables con distribución normal) o test no paramétrico Mann-Whitney (variables con distribución no normal).

*Análisis multivariante para predecir factores de riesgo asociados a la presencia de placa

Las variables que mostraron diferencias significativas en el análisis bivalente y de acuerdo a los tests de máxima verosimilitud (LR), se incluyeron en una regresión logística múltiple condicional por pasos hacia atrás para establecer los factores que se asociaban de manera independiente con la presencia de placas de ateroma como variable dependiente.

*Asociación de la edad con la presencia de placa de ateroma

Se utilizó un análisis de curva ROC para determinar el valor predictivo y el punto de corte que distinga la edad de mayor presencia placas de ateroma de acuerdo con la combinación de la máxima sensibilidad y especificidad. Se calculó la presencia de placa según la edad de la población a estudio, transformando la variable cuantitativa en variable dicotómica de acuerdo con los valores de corte obtenidos. Se valoró el riesgo de la presencia de placa según la población a estudio y la edad.

*Asociación del perfil lipídico y glucídico con las características virales

Se analizó la asociación de las modificaciones del perfil lipídico según el grado de fibrosis hepática y el genotipo con el test ANOVA con comparaciones múltiples post

hoc de Bonferroni y la existencia de correlación entre la carga viral y los parámetros analíticos por R Spearman.

*Modificación de la ateromatosis subclínica antes y tras 12 meses de tratamiento AAD

La modificación de placa de ateroma (GIM >1,5mm, variable dicotómica) antes y después de tratamiento antiviral se utilizó el test de Mc Neman. La modificación de GIM (medida solo en los pacientes que no presentaban placa, cuantitativa) y de los diferentes parámetros analíticos se utilizó la T Student para datos apareados en las variables que siguen una distribución normal y el test de Willcoxon en las variables con distribución no normal. Se valoró de forma segmentada las modificaciones según los diferentes factores de riesgo cardiovascular, grados de fibrosis y genotipo viral.

RESULTADOS

* LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC Y SU ASOCIACIÓN CON LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO:

1.1. Características clínico-epidemiológicas y analíticas.

En este trabajo reclutamos un total de 185 pacientes con hepatitis crónica por VHC que cumplía los criterios de inclusión del estudio. Las características clínico-epidemiológicas y analíticas se muestran en la tabla 4.

El 54,60% eran hombres, con una media de edad de 54,52 años (26-75años). El 67,60% contaba historia de tabaquismo previo, siendo exfumadores el 25,40% y fumadores el 42,20%. Dentro de los pacientes fumadores un 14,60% fumaban más de 20 cigarrillos/día, mientras que en resto, su consumo de tabaco era inferior a un paquete al día.

El IMC medio de la muestra fue de $26,75 \pm 5,07$ kg/m² y las tensiones arteriales medias sistólicas y diastólicas estaban dentro de la normalidad.

Respecto a los factores de riesgo cardiovascular conocidos: un 20% presentaban dislipemia o hipercolesterolemia, un 29,70% hipertensión arterial y un 14,60% hipertrigliceridemia. El 21,60% tenía sobrepeso u obesidad. No hubo ningún paciente con diabetes mellitus ni hiperglucemia, ya que era un factor de exclusión del estudio.

El SCORE medio era de 1,43 siendo una puntuación muy baja de riesgo cardiovascular.

Variables Clínico-epidemiológicas	Pacientes infección crónica VHC, N (%)
Sexo masculino	101 (54,60%)
Edad (años)	54,52 (10,52)
Hábito tabáquico (fumador y exfumador)	125 (67,60%)
No fumador	60 (32,40%)
Exfumador	47 (25,40%)
Fumador	78 (42,21%)
<20 cigarrillos/día	51 (27,60%)
>20 cigarrillos/día	27 (14,60%)
Índice de Masa Corporal (IMC, Kg/m ²)	26,76 ± 5,07
Tensión arterial sistólica (TAS, mmHg)	125,70 ± 16,49
Tensión arterial diastólica (TAD, mmHg)	74,66 ± 10,79
Hipercolesterolemia	37 (20%)
Hipertensión arterial	55 (29,70%)
Hipertrigliceridemia	27 (14,60%)
Obesidad (IMC >30)	40 (21,60%)
Hiperglucemia	0
SCORE	1,43 ± 1,77
Variables analíticas	Media ± DE
Glucemia (g/dL)	96,06 ± 13,73
Colesterol total (mg/dL)	166,85 ± 34,96
No HDL colesterol mg/dL)	115,06 ± 33,26
LDL colesterol (mg/dL)	92,01 ± 31,05
HDL colesterol (mg/dL)	51,79 ± 14,01
Triglicéridos (mg/dL)	109,04 ± 64,00
Índice Insulinorresistencia 1 (IR1 =TG/HDL)	2,26 ±1,66
Índice Insulinorresistencia 2 (IR2 =TyG)	8,41 ± 0,51
Índice Aterogénico (IA=CT/HDL)	3,39 ± 0,96
AST (UI/ml)	61,74 ± 52,57
ALT (UI/ml)	61,59 ± 49,25
GGT (UI/ml)	61,65 ±73,03
Bilirrubina (mg/l)	2,44 ± 14,74
Albúmina (g/dl)	3,99 ± 0,53
Plaquetas (10 ⁹ /L)	182,81 ± 80,81
PCR (mg/dl)	1,85 ± 2,82

Tabla 4. Características clínico-epidemiológicas y analíticas de los pacientes con infección crónica con VHC estudiados.

Al evaluar los datos analíticos de la muestra, los niveles medios de glucemia y el perfil lipídico (colesterol total, no HDLc, LDLc, HDLc y triglicéridos) estaban dentro de los valores de normalidad. Los niveles de insulinoresistencia, medidos de forma indirecta, con el coeficiente TG/HDL y el producto TyG fueron de $2,26 \pm 1,66$ y de $8,41 \pm 0,51$. El índice aterogénico (CT/HDL) medio fue de $3,39 \pm 0,96$, siendo inferior a 4, lo que indica un riesgo bajo de arteriosclerosis en la población general.

Respeto al perfil hepático: se observaron niveles elevados de todas las transaminasas hepáticas (AST, ALT y GGT) mientras que el resto de parámetros indicativos de función hepática (niveles de bilirrubina, albúmina y plaquetas) estaban en rango normal.

Los niveles medios de proteína C reactiva (PCR) eran de $1,85 \pm 1,77$ mg/dl.

1.2. Características virales y de la enfermedad hepática

En cuanto a las características virales la carga viral media fue de $2,84 \pm 3,92 \log_{10}^6$ IU/ml, con un tiempo medio de infección por VHC, desde el diagnóstico analítico por serología, de $9,59 \pm 5,15$ años.

La distribución del genotipo viral por número de pacientes fue la siguiente: 123 pacientes genotipo 1 (31 fueron genotipo 1a y 92 genotipo 1b), 11 pacientes genotipo 2, 18 pacientes genotipo 3 y 33 pacientes genotipo 4 (Figura 22).

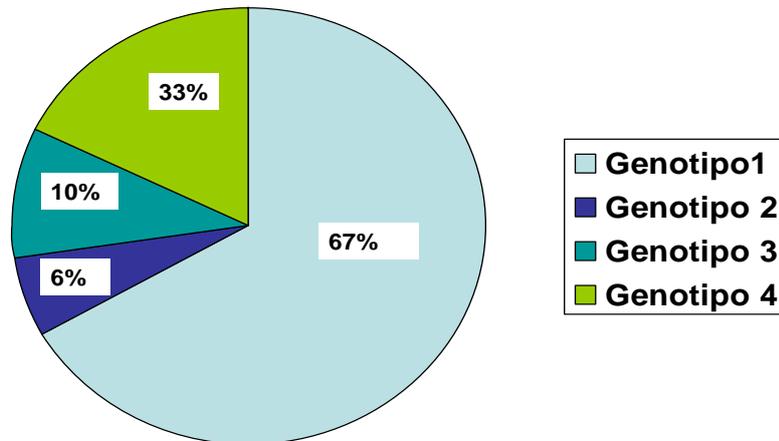


Figura 22. Porcentaje de genotipo viral en la muestra estudiada

La mayoría los pacientes incluidos en este trabajo nunca habían recibido tratamiento antiviral (“naives”= 145; 78,40%) y el resto de pacientes (21,60%) no respondieron a tratamiento con biterapia (IFN pegilado y ribavirina) previamente.

Respecto a la enfermedad hepática provocada por el VHC, la fibrosis hepática fue medida por elastografía siguiendo la siguiente distribución: 39 pacientes no presentaban fibrosis (F0-1), 50 pacientes tenían fibrosis leve (F2), 37 con fibrosis significativa (F3) y 59 pacientes eran cirróticos (F4). Casi la mitad de los pacientes reclutados (47%) presentaba fibrosis significativa, es decir fibrosis hepática por encima de F3 (Figura 23).

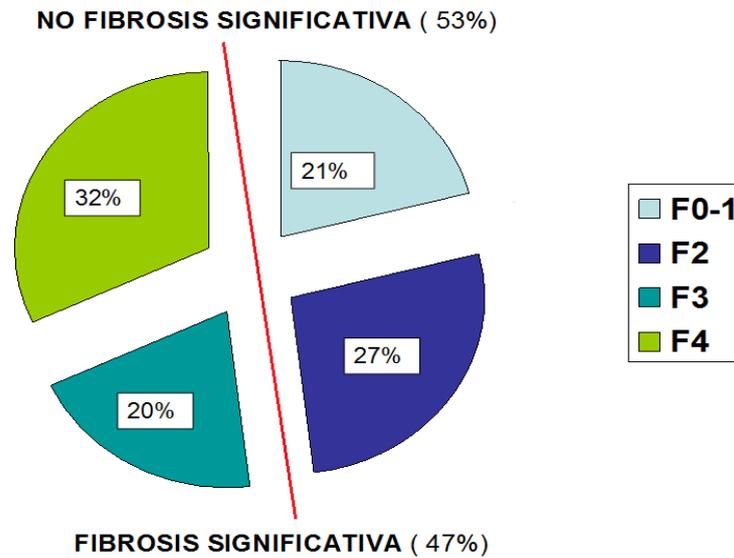


Figura 23. Porcentaje de pacientes según fibrosis hepática

Se observó esteatosis hepática calculada de forma indirecta con el *Hepatic Steatosis Index* (HSI: $8 \times (\text{ALT}/\text{AST}) + \text{IMC}$ (+2 en mujeres/+2 en diabetes mellitus) en un 48,10 % (n= 89) de los pacientes, ya que las cifras de transaminasas hepáticas estaban elevadas lo que indica una necroinflamación leve-moderada en por el hígado por en VHC.

1.3. Características del estudio vascular ecográfico

Se realizó el estudio vascular ecográfico tanto en arterias del territorio carotídeo como en arterias del territorio femoral en todos los pacientes incluidos en el estudio, detectándose un 62,70% de placa de ateroma. Analizamos el GIM solo en los pacientes que no presentaban placa de ateroma ($\text{GIM} > 1,5 \text{ mm}$; n= 69) observando un GIM medio de $0,83 \pm 1,30 \text{ mm}$. La carga de enfermedad ateromatosa (área y número total de placas detectadas) de estos pacientes se describe en la tabla 5.

Variables	(N = 185)
Grosor Íntima Media carotídeo (GIM*, mm)	0,83 ± 1,30
Placa de ateroma	116 (62,70%)
Carga de Enfermedad ateromatosa:	
-Área de placas de ateroma total (mm ²)	0,88 ± 1,02
- Número de placas de ateroma total	3,19 ± 2,27
Localización de las placas de ateroma:	
-Territorio Carotídeo	32 (27,60%)
-Territorio Femoral	24 (20,70%)
-Ambos territorios afectados	60 (51,70%)
Composición de placas de ateroma:	
-Porcentaje de lípidos	49,76 ± 21,88
-Porcentaje de fibrosis	24,15 ± 9,62
-Porcentaje de calcio	26,10 ± 16,03
GIM*: medido solo en pacientes que no presentan placas de ateroma (n= 69)	

Tabla 5. Estudio vascular ecográfico en pacientes con infección crónica por VHC

Respecto al territorio vascular afecto, se identificaron más placas que afectaban de forma sincrónica a ambos territorios vasculares estudiados (51,70%), seguido de la zona carotídea (27,60%) y por último la zona femoral (20,70%).

Posteriormente se procedió al estudio de la composición de las placas de ateroma por escala de grises ecográfica con el software HEMODYN 4, describiendo la composición de todas las placas detectadas según el porcentaje de lipídicos, fibrosis y calcio. Se identificó mayor porcentaje de componente lipídico (50%) siendo muy similar y en menor proporción el resto de componentes, la fibrosis (24%) y el calcio (26%). Este

hallazgo se observó también al analizarlo de forma individual, tanto en las placas del territorio carotídeo como femoral.

Finalmente se tipificó las placas detectadas según el componente que predominara en cada una de ellas. Se sumaron todas las placas identificadas en cada individuo para analizar el tipo predominante en cada población (con o sin infección crónica por VHC). Las placas lipídicas se denominaron así cuando el porcentaje de lípidos observado en esa placa era por encima del 50% de los otros dos componentes. Cuando las placas se componían por más del 50% de calcio se denominaron placas calcificadas mientras que las placas mixtas fueron aquellas que presentaban lípidos, fibrosis y calcio en una proporción similar (en torno a al 33%). En la siguiente figura se describe la distribución del tipo de placas encontradas en esta muestra según la población estudiada.

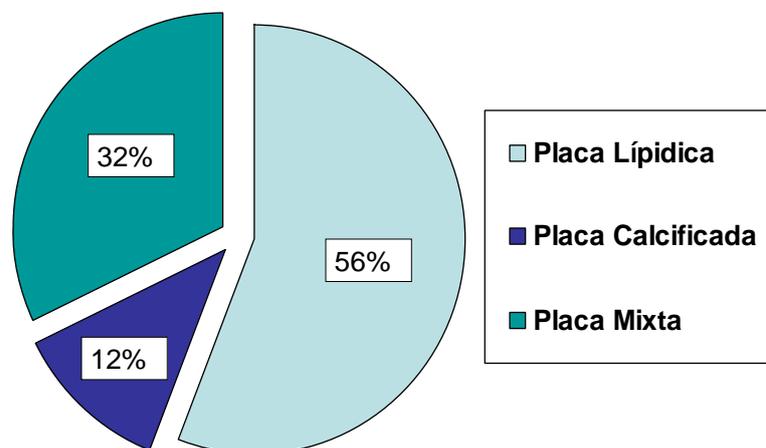


Figura 24. Tipo de placas de ateroma detectadas según la composición ecográfica en los pacientes con infección crónica por VHC

2. ANÁLISIS ANALÍTICO:

A) COMPARACIÓN DE LA PRESENCIA DE ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA EN PACIENTES INFECTADOS CON VHC FRENTE A UN GRUPO CONTROL (SIN INFECCIÓN POR VHC).

1.1. DIFERENCIAS Y SIMILITUDES ENTRE LAS DOS POBLACIONES A ESTUDIO:

1.1.1. Características clínico-analíticas:

Se analizaron un total de 596 pacientes: 185 pertenecientes al grupo con infección por VHC y 411 en el grupo control (sujetos control procedentes de la base de datos del estudio nacional NEFRONA). La Tabla 6 describe los datos clínicos y de laboratorio relativos a la cohorte completa.

Los grupos estudiados no presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a sexo, edad, historia de tabaquismo ni IMC. El grupo control presentó valores significativamente más altos en cuanto a tensión arterial sistólica y diastólica. No se observaron diferencias en el SCORE, siendo el riesgo bajo en ambos grupos ($1,43 \pm 1,77$ en los pacientes infectados frente a $1,50 \pm 2,08$ en los pacientes control; $p=0,548$). Tampoco hubo diferencias en el porcentaje de pacientes que presentaban esteatosis hepática medido por el HSI.

Respeto a los datos analíticos, se observaron diferencias significativas en los niveles de colesterol total, no HDL colesterol y LDL colesterol siendo superiores en los pacientes

control. Los pacientes con hepatitis presentaban cifras de HDL colesterol inferiores que los pacientes control ($51,79 \pm 14,01$ mg/dl vs $53,78 \pm 15,16$ mg/dl, $p= 0,023$).

Por estas alteraciones en el perfil lipídico de cada grupo de pacientes, se observó diferente puntuación en cuanto al índice aterogénico ($3,39 \pm 0,96$ en los pacientes VHC+ frente a $3,79 \pm 1,13$ en pacientes control, $p<0,001$).

Variables clínicas	VHC positivo (n = 185)	Controles (n =411)	P
Sexo masculino	101 (54,60%)	207 (50,40%)	0,376
Edad	54,52 (26-74)	53,42 (21-75)	0,115
Hábito tabáquico	125 (67,60%)	251 (61,10%)	0,242
-Exfumador	47 (25,40%)	171 (41,60%)	
-Fumador			
<20 cig/día	51 (25,40%)	65 (15,80%)	
>20 cig/día	27 (14,60%)	14 (3,40%)	
IMC	$26,76 \pm 5,07$	$27,28 \pm 4,57$	0,078
TAS	$125,70 \pm 16,49$	$130,13 \pm 17,59$	<0,001
TAD	$74,66 \pm 10,79$	$78,21 \pm 10,44$	<0,001
Esteatosis	90 (48,60%)	180 (43,80%)	0,097
SCORE	$1,43 \pm 1,77$	$1,50 \pm 2,08$	0,548
Variables analíticas			
Gluc	$96,06 \pm 13,73$	$95,82 \pm 12,85$	0,768
CT	$166,85 \pm 34,96$	$192,38 \pm 39,03$	<0,001
No HDLc	$115,06 \pm 33,26$	$138,56 \pm 38,86$	<0,001
LDLc	$92,01 \pm 31,05$	$116,46 \pm 36,46$	<0,001
HDLc	$51,79 \pm 14,01$	$53,78 \pm 15,16$	0,023
TG	$109,04 \pm 64,00$	$108,01 \pm 61,09$	0,785
IR1	$2,37 \pm 1,94$	$2,32 \pm 1,88$	0,695
IR2	$8,41 \pm 0,53$	$8,43 \pm 0,46$	0,551
IA	$3,39 \pm 0,96$	$3,79 \pm 1,13$	<0,001
AST	$61,74 \pm 52,57$	$36,94 \pm 37,53$	<0,001
ALT	$61,59 \pm 49,25$	$35,91 \pm 36,05$	<0,001
PCR	$1,85 \pm 2,82$	$2,71 \pm 5,68$	0,013

Tabla 6. Características clínico-analíticas de los grupos estudiados

No se observaron diferencias significativas en las cifras de glucosa, triglicéridos, ni en los indicadores de IR, medidos con el coeficiente TG/HDL ni con el producto TyG, siendo muy similares los niveles entre los pacientes con hepatitis C y los controles ($96,06 \pm 13,73$ g/dl vs $95,82 \pm 12,85$ g/dl; $109,04 \pm 64,00$ mg/dl vs $108,01 \pm 61,09$ mg/dl, $2,37 \pm 1,94$ vs $2,32 \pm 1,88$ y $8,41 \pm 0,53$ vs $8,43 \pm 0,46$).

Los pacientes con VHC presentaban niveles de transaminasas hepáticas significativamente superiores que los pacientes control, como era de esperar por la afectación hepática del virus. Además, presentaron cifras significativamente inferiores de proteína C reactiva ($1,85 \pm 2,82$ mg/dl en pacientes VHC+ vs $2,71 \pm 5,68$ mg/dl en pacientes control, $p=0,013$) ya que al ser una proteína de síntesis hepática se produce en menor porcentaje en los pacientes con infección.

Cuantificamos el porcentaje de pacientes que tenían factores de riesgo para desarrollar síndrome metabólico en cada grupo, representados en la Figura 25. El porcentaje de pacientes con HTA, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia y obesidad fueron más elevado en los pacientes controles, aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas salvo en los pacientes hipertensos (45% en grupo control frente 29,70% en el grupo VHC; $p<0,001$) y la presencia de dislipemia (49% en pacientes controles vs 20% en los pacientes infectados con VHC; $p<0,001$). No se observaron pacientes con hiperglucemia en ayunas, ya que la presencia de esta o diabetes mellitus era criterio de exclusión en el estudio.

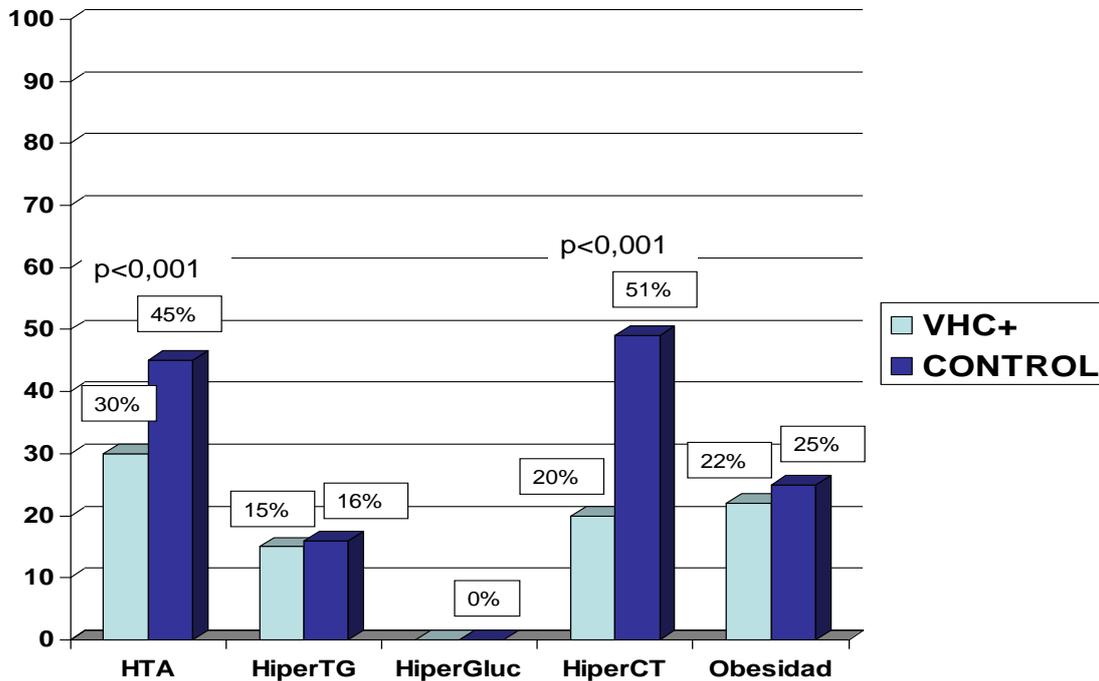
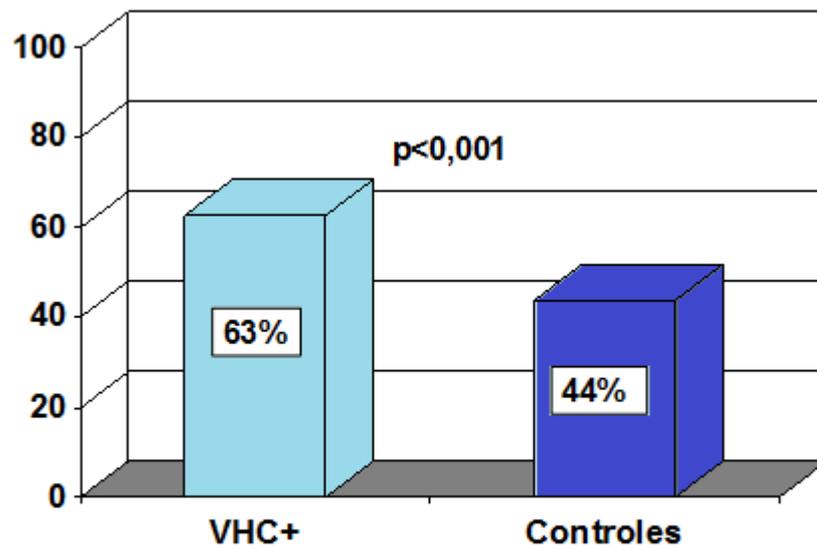


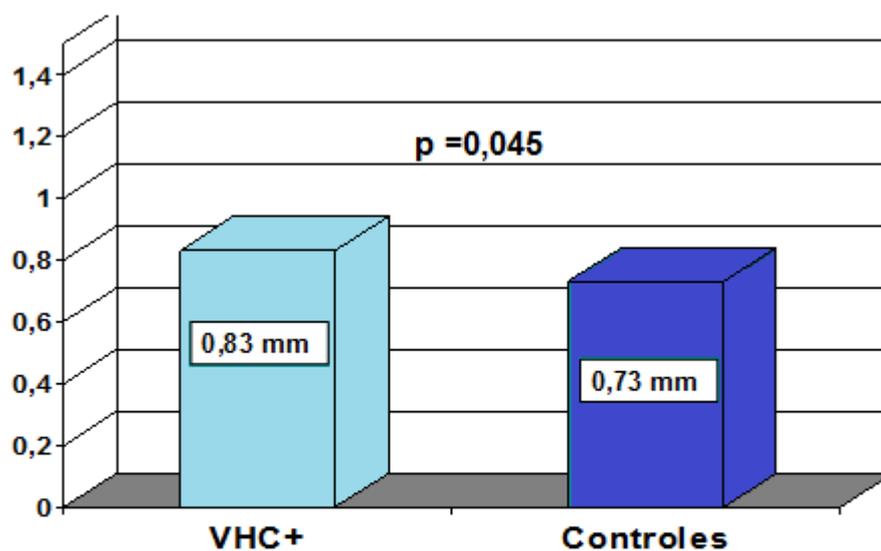
Figura 25. Porcentaje de pacientes con factores de riesgo de síndrome metabólico según la población estudiada

1.1.2. Características del estudio ecográfico vascular

El porcentaje de pacientes con placa de ateroma fue significativamente mayor en el grupo con VHC+ que en el grupo control (62,70% vs 43,80%, $p < 0,001$), así como la media del GIM, descrito solo en los pacientes que no presentaban placa ($0,83 \pm 1,30$ mm vs $0,73 \pm 0,59$ mm; $p=0.045$). (Figuras 26)



A) Presencia de placa de ateroma



B) Grosor Íntima-media carotídeo (GIMc)

* GIM medido solo en pacientes que no presentan placa (GIM>1,50mm)

VHC n=69 / Controles n=231

Figura 26. Porcentaje de presencia de placa de ateroma (A) y medida del GIM (B) según la población estudiada.

En la tabla 7 se recogen los datos del estudio ecográfico vascular en cada una de las poblaciones, así como la composición de las placas de ateroma detectadas.

Variables	VHC positivo (N = 185)	Controles (N = 411)	P
GIM*	0,83 ± 1,30	0,73 ± 0,59	0,045
Placa de ateroma	116 (62,70%)	180 (43,80%)	<0,001
Localización de placa de ateroma:			0,214
Territorio Carotídeo	32 (27,60%)	64 (35,60%)	
Territorio Femoral	24 (20,70%)	41 (22,80%)	
Ambos territorios afectos	60 (51,70%)	75 (41,70%)	
Carga de enfermedad ateromatosa:			
- Área de placas de ateroma total	0,88 ± 1,02	0,67 ± 0,62	<0,001
- Numero de placas de ateroma total	3,19 ± 2,27	2,73 ± 1,86	<0,001
Composición de placa de ateroma:			
- Porcentaje de lípidos	49,76 ± 21,88	29,25 ± 18,89	<0,001
- Porcentaje de fibrosis	24,15 ± 9,62	30,45 ± 9,38	<0,001
- Porcentaje de calcio	26,10 ± 16,03	40,69 ± 19,79	<0,001
*GIM: Solo medido en pacientes que no presentan placa carotídea (VHC N=69/ Control N=231)			

Tabla 7. Estudio ecográfico vascular según las poblaciones

Los pacientes con infección crónica por VHC presentaban más placas sincrónicas, en ambos territorios vasculares (51,70%), seguidos de la afectación carotídea (27,60%) y por último femoral (20,70%). En los pacientes control se observó menor porcentaje de placas que afectaran los dos territorios (41,70%) y mayor porcentaje de placas carotídeas (35,60%) y femorales (22,80%), pero con la misma distribución en ambas poblaciones ($p=0,214$). Aunque no se observó diferencias en la localización territorial

de las placas, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la carga de enfermedad ateromatosa entre los grupos. Los pacientes infectados con VHC presentaron mayor carga de enfermedad ateromatosa, tanto en el área total de placa ($0,88 \pm 1,02\text{mm}^2$ vs $0,67 \pm 0,62\text{mm}^2$; $p=0,001$), como en número de placas detectadas ($3,19 \pm 2,27$ vs $2,73 \pm 1,86$; $p<0,001$).

Al estudiar la composición de las placas de ateroma según la escala de grises ecográfica, también se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con y sin infección. Los pacientes con hepatitis presentaban placas con mayor porcentaje lipídico que la población control (50% vs 29%; $p<0,001$) y menor tasa de fibrosis (24% vs 30%; $p<0,001$) y calcio (26% vs 41%; $p<0,001$).

Al categorizar las placas detectadas en cada población se observó que los pacientes con infección crónica por VHC tenían un 56% de placas lipídicas frente a un 18% en los controles. (Figura 27)

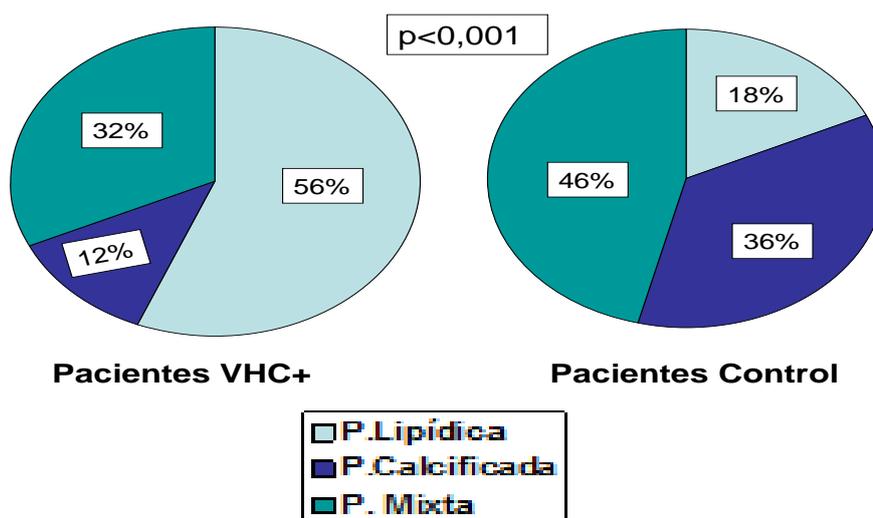


Figura 27. Distribución del tipo de placas de ateroma según composición predominante en cada población.

1.2. FACTORES DE RIESGO QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DE PLACA DE ATEROMA

SEGÚN LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Posteriormente analizamos los factores de riesgo que influían en la presencia de placa de ateroma en cada población estudiada según la presencia o ausencia de infección crónica por VHC para valorar si los factores asociados en ambos grupos eran los mismos. Los resultados se exponen en la tabla 8.

Variables	Pacientes VHC+			Pacientes controles		
	sin placa (N =69)	con placas (N =116)	P	sin placas (N =231)	con placas (N = 180)	p
Sexo masculino	23 (33,30%)	78 (67,20%)	<0,001	85 (36,80%)	122 (67,90%)	<0,001
Edad	50,10 ± 11,62	57,16 ± 8,85	<0,001	48,69 ± 12,15	58,37 ± 8,69	<0,001
Fumador + Ex-fumador	34 (49,30%)	91 (78,40%)	<0,001	116 (50,20%)	135 (750%)	<0,001
IMC	26,17± 5,26	27,11 ± 4,94	0,236	26,85 ± 4,58	28,37 ± 3,80	<0,001
TAS	119,71 ± 16,91	129,27 ±15,22	<0,001	127,14 ±16,73	138,53 ±16,93	<0,001
TAD	72,90 ± 10,90	75,71 ± 10,63	0,089	77,54 ± 9,81	82,71± 9,21	<0,001
SCORE	0,57 ± 0,91	1,94 ± 1,96	<0,001	0,79± 1,53	2,50 ± 2,53	<0,001
Variables analíticas						
Gluc	92,35± 12,76	98,25± 13,86	0,004	92,94 ± 12,32	99,34 ± 11,68	<0,001
CT	168,10± 33,53	166,10± 35,89	0,704	201,07 ±35,74	207,93± 33,35	0,047
No HDLc	112,63± 31,84	116,50± 34,12	0,438	146,38 ±36,11	155,95± 34,77	0,011
LDLc	92,37 ± 28,77	91,78 ± 32,44	0,901	126,09± 33,99	132,86± 30,04	0,050
HDLc	55,46± 13,64	49,60 ± 13,82	0,006	55,79 ± 15,31	53,05 ± 14,60	0,016
TG	88,69 ± 34,96	121,14 (73,76)	<0,001	98,87± 60,37	118,63 ±51,81	0,001
IA (CT/HDL)	3,16± 0,85	3,52± 0,98	0,010	3,85± 1,12	4,17± 1,18	0,008
IR1 (TG/HDL)	1,71± 0,86	2,57 ± 1,58	<0,001	2,09± 1,90	2,52± 1,57	0,016
IR2 (TyG)	8,24 ± 0,38	8,53 ± 0,47	<0,001	8,28 ± 0,54	8,56 ± 0,48	<0,001
PCR	2,03 ± 3,38	1,74± 2,43	0,532	2,82 ± 5,91	3,47 ± 7,31	0,338

Tabla 8. Factores asociados a la presencia de placa de ateroma en las poblaciones estudiadas.

La presencia de placa de ateroma en ambos grupos (con y sin infección por VHC) se asoció de forma estadísticamente significativa con los factores comúnmente conocidos de riesgo cardiovascular como el sexo masculino, el aumento de edad, cifras superiores de tensión arterial sistólica, el hábito tabáquico, y un mayor riesgo cardiovascular según las tablas SCORE. En cuanto al IMC se observó asociación en los pacientes controles, no siendo así en los pacientes infectados ($p=0,236$) al igual que ocurría con las cifras de tensión arterial diastólica ($p=0,089$).

Al analizar las variables analíticas observamos que en el grupo con infección por VHC había diferencias significativas entre los pacientes con ausencia o presencia de placa solo en los niveles de glucosa, triglicéridos, HDLc, los índices aterogénico y de insulinoresistencia mientras que en los pacientes controles todo el perfil lipídico y glucídico se asociaba con placa.

Al observar ambos grupos las cifras de estos parámetros analíticos eran más elevados en los pacientes controles que en los pacientes con infección por VHC, aunque presentaran o no placa de ateroma.

Al realizar el análisis multivariante de los factores de riesgo asociados de forma independiente con presencia de placa de ateroma según las poblaciones, identificamos que en los pacientes infectados con VHC eran el tabaquismo, la edad y el índice de insulinoresistencia mientras que en los pacientes controles solo el tabaquismo, la edad y el sexo masculino influían. (Tabla 9)

Tal y como muestra la tabla el hábito tabáquico y la edad fueron factores de riesgo independientes de presencia de placa en las dos poblaciones, mientras que el sexo

masculino no influyó en los pacientes infectados con VHC siendo un factor importante y conocido en la población control (OR= 3,03 IC 1,78-5,14; $p < 0,001$).

En los pacientes con infección se observó un nuevo factor de riesgo independiente de placa de ateroma, el índice de insulinoresistencia TG/HDL (OR= 1,44; IC: 1,02-2,03; $p = 0,039$).

Grupo VHC	OR	IC 95%	P
Tabaquismo	3,89	1,59-9,52	0,003
Edad	1,08	1,04-1,13	<0,001
Sexo masculino			0,074
TAS			0,074
IR1 (TG/HDL)	1,44	1,02-2,03	0,039
Grupo Control	OR	IC 95%	P
Tabaquismo	3,01	1,82-5,29	<0,001
Edad	1,08	1,06-1,12	<0,001
Sexo masculino	3,03	1,78-5,14	<0,001
TAS			0,075

Tabla 9. Análisis multivariante: factores de riesgo asociados a la presencia de placas de ateroma según la población estudiada.

1.2.1. La edad como factor de riesgo de riesgo de ateromatosis subclínica

Se evaluó la edad, ya que fue la única variable numérica que influía en la ateromatosis subclínica en ambos grupos. Realizamos una curva la ROC (Figura 28) para predecir cuál era la edad con mayor presencia de placa de ateroma en nuestra muestra.

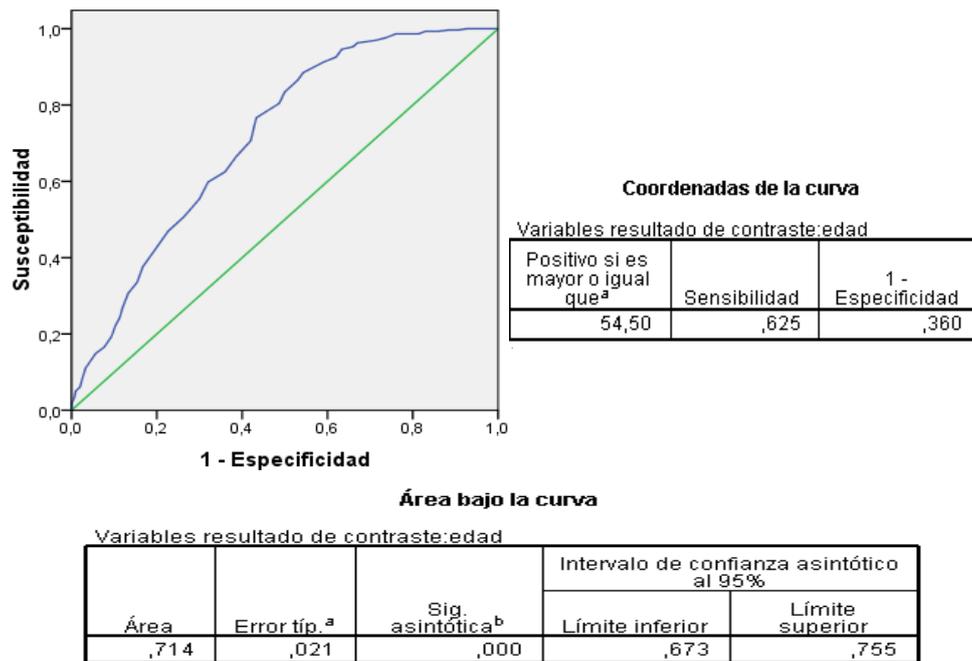


Figura 28. Curva ROC para predecir el punto de corte de edad y presencia de placa

La edad superior a 55 años fue el mejor valor de corte para predecir la presencia de placas de ateroma con un área bajo la curva (AUC) de 0,71 (error estándar = 0,02 [IC 95%: 0,67-0,75], 60% de sensibilidad y 70% de especificidad).

Por debajo y en este punto de corte (≤ 55 años), el porcentaje de pacientes con placas de ateroma fue del 55,60% en el grupo VHC+ y del 28,60% en el grupo control ($p < 0,001$). En los pacientes con edad mayor a 55 años, la ateromatosis aumentó hasta un 69,50% en el grupo con infección y al 60,10% en el grupo sin infección, sin observarse diferencias significativas en este tramo de edad entre poblaciones ($p = 0,120$). En el grupo con edad menor o igual a 55 años, los pacientes con hepatitis VHC tenían muchas más probabilidad de presentar placas de ateroma (OR = 3,11 IC 1,87-5,19; $p < 0,001$) (Figura 29).

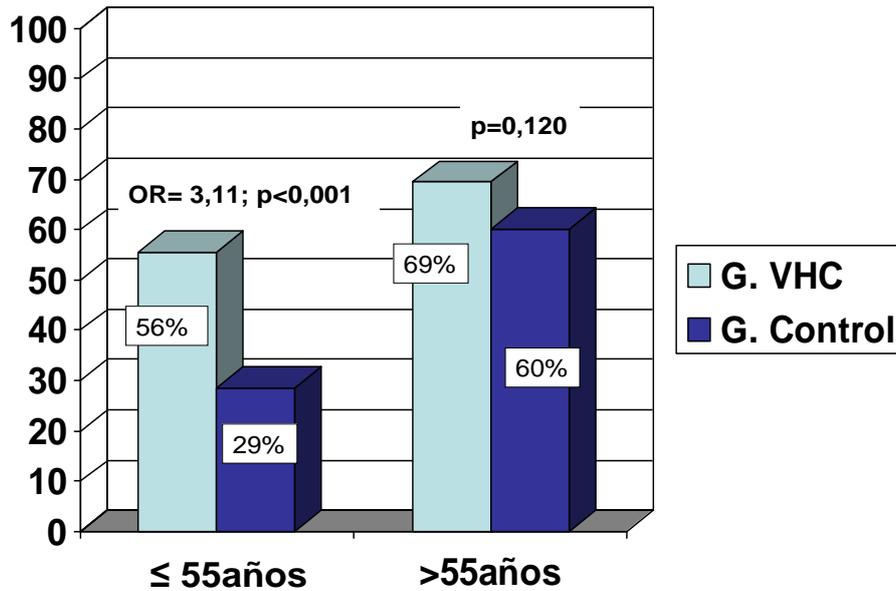


Figura 29. Presencia de placa de ateroma según población a estudio y edad (55 años).

Al hallar un mayor riesgo de ateromatosis en la población más joven con infección crónica por VHC, dividimos los pacientes por tramos de edad (de 10 años) para analizar en que tramo se observaba mayor presencia de ateromatosis subclínica según el grupo estudiado. Realizamos 4 subgrupos, tanto en el grupo con y sin infección por VHC. El primer grupo formado por pacientes menores de 44 años, el segundo grupo con pacientes en edad comprendida de 45 a 54 años, el tercer grupo de 55 a 64 años y un último grupo pacientes mayores de 65 años.

Tal y como muestra la figura 30, detectamos que los pacientes con infección crónica por VHC presentaban mayor porcentaje de placa de ateroma independientemente de grupo de edad frente a los controles, sin observarse diferencias significativas en la mayoría de los grupo etarios, salvo en el grupo de 45 y 54 años (66,70% los pacientes VHC frente al 43,20% en los pacientes control; p=0,002).

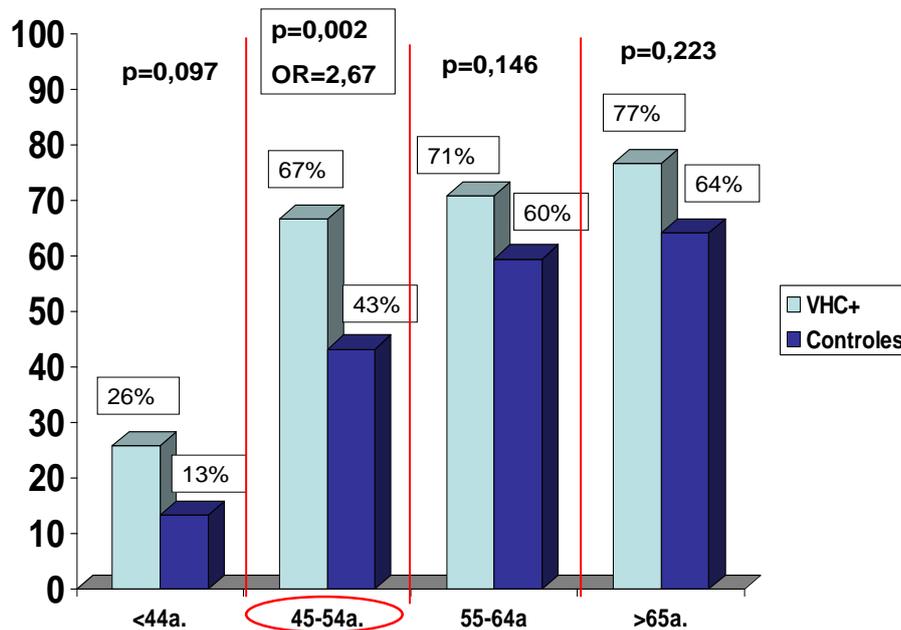


Figura 30. Porcentaje de pacientes con placa según la población a estudio por tramo de edad.

Además estos pacientes jóvenes para presentar afectación vascular, tenían un riesgo de presentar placa de aterosclerosis dos veces mayor si padecían infección por el virus (OR=2,63; IC: 1,42-4,88; p=0,002). Este hallazgo nos sugiere la posibilidad de una aterosclerosis más frecuente y precoz en los pacientes con infección crónica por VHC que en la población que no está infectada.

En el resto de grupos aunque los pacientes VHC tenían mayor porcentaje de placas, la diferencia entre cada población respecto a la presencia de placas era menor conforme avanzaba la edad, sin ser estadísticamente significativa.

1.2.2. El perfil lipídico y glucídico en pacientes con presencia de placa de ateroma

Comparamos las variables analíticas registradas referentes al metabolismo lipídico y glucídico en cada grupo de pacientes, para ver si existían diferencias entre estas dos poblaciones en los sujetos que presentaban placas de ateroma. Los resultados se exponen en la tabla 10.

Variables	Grupo control con placas	Grupo VHC con placas	p
	(n = 180) 43,8%	(n =116) 62,7%	
Gluc	99,34 ± 11,68	98,25 ± 13,86	0,470
IR1 (TG/HDL)	2,61 ± 1,75	2,77 ± 2,28	0,450
IR2 (TyG)	8,56 ± 0,47	8,54 ± 0,47	0,761
CT	207,93 ± 33,35	166,10 ± 35,84	<0,001
No HDLc	156,95 ± 34,78	116,50 ± 34,12	<0,001
LDLc	132,86 ± 30,04	91,78 ± 32,44	<0,001
HDLc	53,05 ± 14,60	49,60 ± 13,82	0,037
IA (CT/HDL)	4,17 ± 1,18	3,52 ± 0,98	<0,001
TG	118,63 ± 57,21	121,14 ± 73,76	0,744

Tabla 10. Comparación de las variables analíticas en pacientes con placas según la población

En cuanto a los parámetros que hacían referencia al perfil glucídico no se observaron diferencias significativas entre las poblaciones con ateromatosis. Los niveles de glucosa y de los índices de IR estaban en cifras de normalidad en los sujetos con presencia de placas de ateroma independientemente del grupo al que pertenecieran.

En cambio al revisar el perfil lipídico, se observaron niveles significativamente superiores de colesterol total, no HDLc, LDLc y HDLc e índice aterogénico en los pacientes controles con placas frente a los pacientes infectados con placa, aunque la

presencia de placa fuera superior en grupo VHC+ (43,80% vs 62,70%, $p < 0,001$). No se observaron diferencias significativas en los niveles de triglicéridos entre la población con ateroma de ambos grupos ($p = 0,761$).

1.3. FACTORES DE RIESGO QUE INFLUYEN EN LA PRESENCIA DE ATEROMATOSIS

SUBCLÍNICA EN LA MUESTRA TOTAL

1.3.1. Factores de riesgo asociados al aumento del GIM

Quisimos valorar si la infección crónica por VHC es un factor de riesgo independiente para el aumento de GIM, por lo que agrupamos los pacientes VHC+ y controles. Se analizó una muestra de 300 pacientes (69 VHC/ 231 control) que tenían medido el GIM, ya que no presentaban placa de ateroma. En la Tabla 11 se muestran las características clínicas y analíticas asociadas con la variación del GIM.

Observamos asociación del GIM con la infección por VHC ($p = 0,045$). Las variables de riesgo cardiovascular y metabólicas asociadas de forma significativa al GIM fueron la edad, el SCORE, el IMC y la tensión arterial tanto sistólica como diastólica. Respecto a los parámetros analíticos también se observó asociación estadísticamente significativa con la glucemia, el colesterol total, el no HDL colesterol, el LDL colesterol, el índice aterogénico (CT/HDL) y el índice de insulinoresistencia medio con el producto TyG. Los niveles de HDL colesterol y los triglicéridos no se correlacionaron con el aumento de GIM ($p = 0,270$; $p = 0,121$) tampoco el cociente TG/HDL ($p = 0,734$) ni los niveles de PCR ($p = 0,380$).

Variable	N	Media/correlación	P
Infección VHC/ control	69/231	0,83± 1,30 /0,73 ± 0,59	0,045
Sexo masculino/femenino	108/192	0,71 ± 0,12 /0,66 ± 0,11	<0,001
Edad	300	R 0,54	<0,001
Tabaquismo SI/NO	150/150	0,67 ± 0,11/ 0,65 ±0,10	0,055
IMC	300	R 0,17	0,004
TAS	300	R 0,16	0,005
TAD	300	R 0,16	0,004
SCORE	300	R 0,35	<0,001
Variables analíticas			
Gluc	300	R 0,19	0,001
CT	300	R 0,30	<0,001
No HDLc	300	R 0,28	<0,001
LDLc	300	R 0,26	<0,001
HDLc	300	R 0,07	0,270
TG	300	R 0,09	0,121
IA (CT/HDL)	300	R 0,12	0,038
IR1 (TG/HDL)	300	R 0,02	0,734
IR2 (TyG)	300	R 0,17	0,004
PCR	300	R 0,05	0,380

Tabla 11. Factores de riesgo asociados con el aumento del GIM

1.3.2. Factores de riesgo asociados a la presencia de placa de ateroma

Para valorar si la infección crónica por VHC es un factor de riesgo independiente en el desarrollo de placa de ateroma, agrupamos los 596 pacientes anteriormente expuestos (el grupo VHC+ y el control), separándolos en dos nuevos grupos según la ausencia o presencia de placa de ateroma. En la Tabla 12 se muestran las características clínicas y analíticas de estos pacientes con/sin placa y su asociación según el análisis bivariante.

Variables clínicas	Población sin placa (n= 300)	Población con placa (n=296)	P
Infección VHC	69 (23,00%)	116 (39,20%)	<0,001
Sexo masculino	108 (36,00%)	200 (67,60%)	<0,001
Edad	49,01 ± 12,07	57,92 ± 8,76	<0,001
Tabaquismo	150 (50,00%)	226 (76,40%)	<0,001
IMC	26,69 ± 4,75	27,87 ± 4,35	0,002
TAS	125,43 ± 17,05	134,90 ± 16,87	<0,001
TAD	76,57 ± 10,24	79,97 ± 10,36	<0,001
SCORE	0,74 ± 1,42	2,28 ± 2,34	<0,001
Variables analíticas			
Gluc	92,81 ± 12,41	98,91 ± 12,58	<0,001
CT	193,31 ± 37,81	191,45 ± 40,20	0,564
No HDLc	137,92 ± 37,98	139,13 ± 39,89	0,698
LDLc	117,63 ± 35,84	115,28 ± 37,11	0,564
HDLc	55,71 ± 4,88	51,82 ± 15,22	0,003
TG	96,45 ± 55,51	119,64 ± 64,37	<0,001
IA (CT/HDL)	3,68 ± 1,09	3,89 ± 1,14	0,023
IR1 (TG/HDL)	2,00 ± 1,71	2,65 ± 1,97	<0,001
IR2 (TyG)	8,27 ± 0,51	8,55 ± 0,47	<0,001
PCR	2,64 ± 5,44	2,78 ± 5,94	0,755

Tabla 12. Análisis bivariante de factores de riesgo asociados a la presencia de placa.

La infección crónica por VHC se asoció de forma estadísticamente significativa a la presencia de placas de ateroma, al igual que otros factores de riesgo cardiovascular tradicionalmente conocidos como el sexo masculino, la edad avanzada, la tensión arterial elevada, el hábito tabáquico (fumador y exfumador) y el aumento de IMC.

Al analizar los datos analíticos que influían se observó asociación significativa con los niveles elevados de glucosa (92,81 ± 12,41 mg/dl en pacientes sin placa frente a 98,91 ± 12,58 mg/dl en pacientes con placa de ateroma). Respecto al perfil lipídico, los

niveles séricos bajos de HDL colesterol ($p=0,003$), la elevación de los triglicéridos ($p<0,001$) y el aumento en la puntuación del índice aterogénico medido con el coeficiente CT/HDL ($p=0,023$) también influían en la presencia de placa, sin observarse asociación significativa con las cifras de colesterol total, No-HDLc ni LDLc. La insulinoresistencia medida tanto con el cociente TG/HDL y como con el producto TyG también influían en el desarrollo de placas en esta muestra de pacientes, sin asociarse a niveles de PCR.

Realizamos el análisis multivariante incluyendo todos los factores de riesgo, tanto clínicos como analíticos, que fueron significativos con la presencia de placas de ateroma en el análisis bivariante, para conocer que variables se asociaban de forma independiente.

El análisis multivariante reveló una probabilidad de más del doble de presencia de placa de ateroma en los pacientes que tenían infección crónica por VHC (OR=2,64 (1,68-4,14) $p<0,001$) (Tabla 13). Otros factores de riesgo independientes para la formación de placa fueron los ya más conocidos como el sexo masculino, la edad avanzada, el hábito tabáquico (fumador y exfumador) y la tensión arterial sistólica elevada. Detectamos que el único factor de riesgo analítico que predisponía de forma independiente con el desarrollo de placas de ateroma fue la mayor puntuación en el índice TyG o marcador indirecto de resistencia a la insulina.

Este parámetro es menos conocido como factor de riesgo cardiovascular, pero influye fuertemente, ya que los pacientes con un índice TyG elevado tenían tres veces más de riesgo de presentar placas (OR= 3,18; IC: 1,44-6,98; $p=0,004$). Ni el IMC, ni el perfil

lipídico contribuyeron al modelo predictivo para la presencia de placas de ateroma en nuestra muestra.

Variables	OR	IC 95%	P
Infección VHC	2,64	1,68-4,14	<0,001
Sexo masculino	2,79	1,77-4,38	<0,001
Edad	1,08	1,05-1,10	<0,001
Tabaquismo	3,25	2,06-5,11	<0,001
TAS	1,02	1,01-1,03	0,037
IR1 (TG/HDL)			0,095
IR2 (TyG)	3,18	1,44-6,98	0,004

Tabla 13. Análisis multivariante de factores de riesgo independiente de ateromatosis subclínica

1.3.3. Factores asociados a la composición lipídica de la placa de ateroma

En este apartado analizamos los factores de riesgo que se asocian con la composición de las placas, identificando las variables que predisponen a la presencia de placas lipídicas. Tabla 14.

Variables	Placas lipídicas (n=100)	Placas no lipídicas (n=196)	P
Infección VHC	67 (67,00%)	49 (25,00%)	<0,001
Sexo masculino	72 (72,00%)	128 (65,30%)	0,145
Edad	56,08 ± 8,63	58,82 ± 8,70	0,011
Tabaquismo	81 (81,00%)	145 (74,00%)	0,179
IMC	27,85 ± 3,89	27,88 ± 4,53	0,959
TAS	132,27 ± 15,50	136,24 ± 17,42	0,055
TAD	78,42 ± 9,42	80,76 ± 10,51	0,066
SCORE	2,17 ± 2,54	2,34 ± 2,23	0,563
Variables analíticas			
Gluc	98,95 ± 13,44	98,89 ± 12,14	0,971
CT	180,32 ± 39,44	197,01 ± 39,14	0,001
No HDLc	131,85 ± 39,15	142,90 ± 39,20	0,029
LDLc	106,83 ± 37,43	119,71 ± 36,31	0,007
HDLc	48,54 ± 12,65	53,14 ± 14,95	0,009
TG	115,61 ± 53,00	116,71 ± 49,83	0,861
IA (CT/HDL)	3,88 ± 1,18	3,91 ± 1,18	0,846
IR1 (TG/HDL)	2,62 ± 1,49	2,54 ± 1,78	0,506
IR2 (TyG)	8,56 ± 0,48	8,55 ± 0,47	0,791

Tabla 14. Factores de riesgo asociados con la presencia de placas lipídicas

Al realizar el análisis multivariante (tabla 15) con las variables significativas en el análisis bivariante anterior, identificamos que los únicos factores que se asocian con presencia de placas lipídicas fueron la infección crónica por VHC y la menor edad, sin asociarse con ninguno de los valores de colesterol ni sus fracciones.

Placa lipídica	OR	IC 95%	P
Infección por VHC	6,77	3,85-11,92	<0,001
Edad	0,96	0,93-0,99	0,030

Tabla 15. Factores de riesgo asociados con la composición de la placa de ateroma

Al hallar la edad como factor de riesgo para desarrollar placas lipídicas, dividimos nuevamente por subgrupos de edad los pacientes con y sin infección por VHC para analizar en que tramo se observaba mayor presencia de placas lipídicas. Realizamos los mismos 4 grupos (<44 años, de 45 a 54 años, de 55 a 64 años y > 65 años).

En la figura 31, se observa que los pacientes con infección crónica por VHC presentaban significativamente mayor porcentaje de placa lipídica que los pacientes control en casi todos los grupos etarios. Detectamos que el grupo edad de 45 a 54 años presentaba mayor porcentaje de placas lipídicas tanto en los paciente infectados como en los controles (67,40% vs 21,60%) y que además el riesgo de placa lipídica era siete veces mayor con la presencia de la infección viral. En el resto de los grupos de mayor edad se observaba mayor riesgo en los pacientes infectados, aunque el riesgo y el porcentaje de placas lipídicas disminuían según aumentaba la edad de los pacientes.

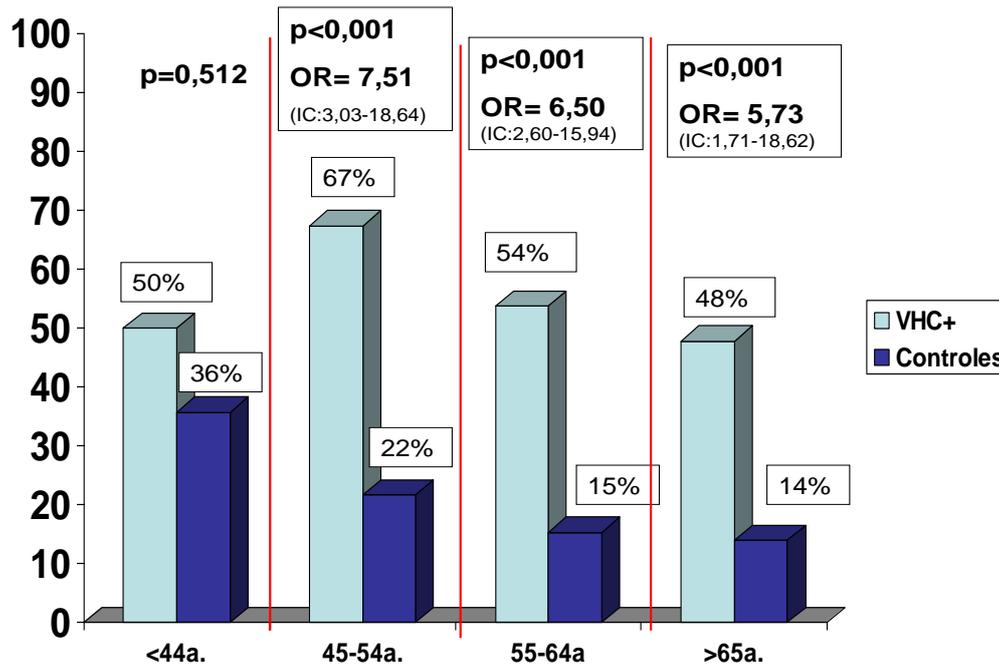


Figura 31. Distribución de las placas lipídicas según la edad y la infección por VHC

B) FACTORES DEL VHC QUE INFLUYEN EN LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA

1. CARACTERÍSTICAS VIRALES ASOCIADAS A ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC.

1.1. Factores virales asociados al aumento de GIM

Evaluamos los factores virales que se asociaban con el aumento de GIM en los pacientes con infección crónica por VHC, estudiado solo en los 69 pacientes que no presentaban placa de ateroma (GIM>1,5mm).

El genotipo viral no influyó en el aumento del GIM ($p=0,754$) tal y como se muestra en la figura 32. No se observó asociación del aumento de GIM con la carga viral ($p=0,422$) ni con el tiempo de infección por VHC ($p=0,207$). (Figura 33).

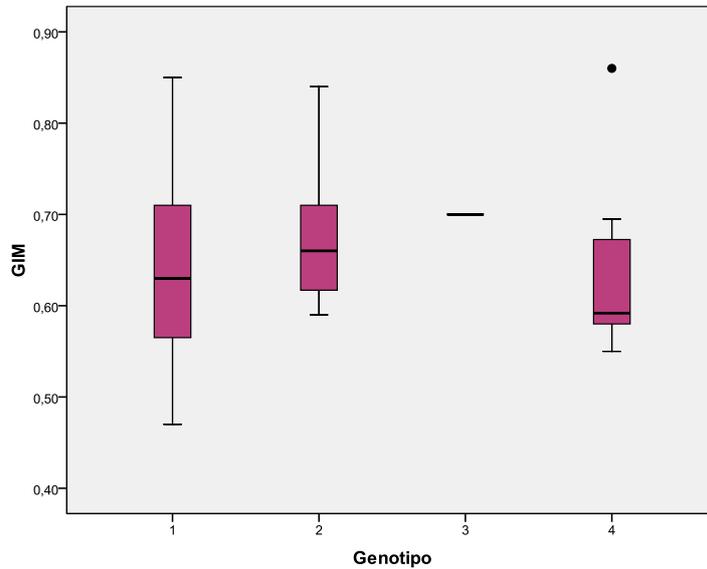


Figura 32. Distribución del GIM según el genotipo viral.

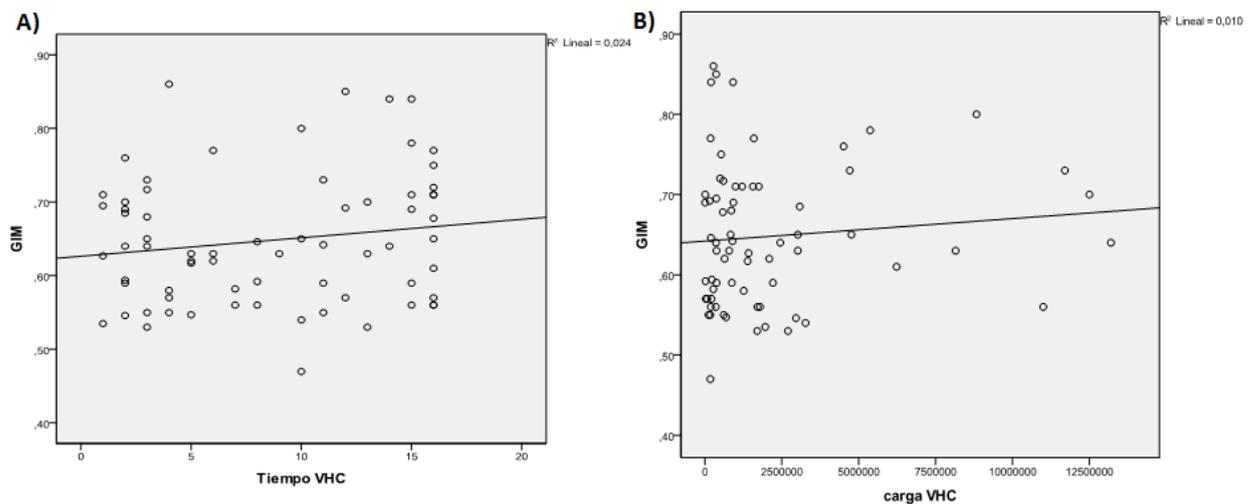


Figura 33. A) Gráfico de dispersión: GIM y tiempo de infección VHC B) Gráfico de dispersión: GIM y carga viral VHC

Al analizar las alteraciones hepáticas provocadas por el virus no se encontró relación con la esteatosis hepática ($p=0,686$) ni con los niveles de transaminasas (AST $p=0,309$; ALT $p=0,295$; GGT $p=0,792$), bilirrubina ($p=0,221$), albúmina ($p=0,272$) ni plaquetas ($p=0,567$). No hubo correlación con el grado de fibrosis hepática ($p=0,799$) (Figura 34).

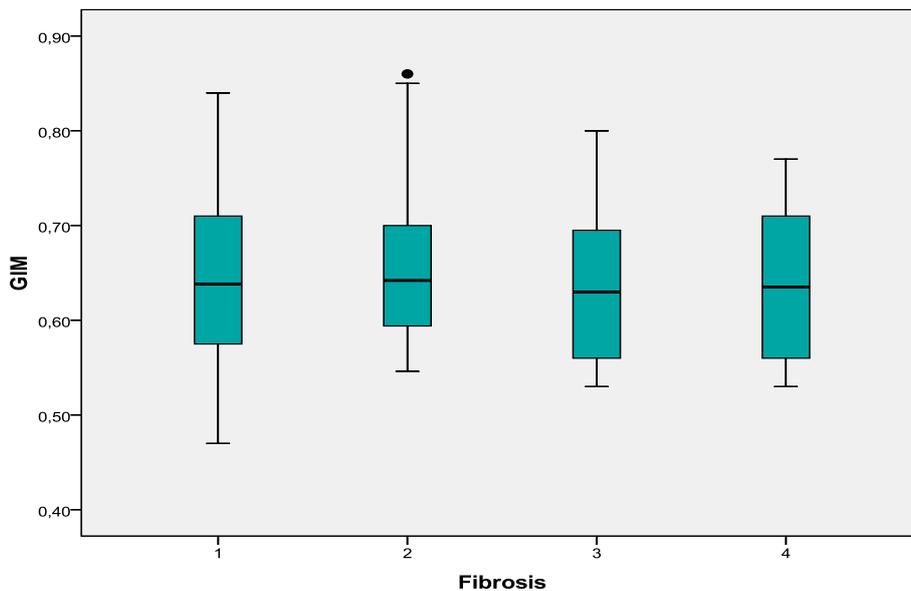


Figura 34. Distribución del GIM según el grado de fibrosis hepática por el VHC.

1.2. Factores virales asociados a la presencia de placa

De los 185 pacientes con hepatitis crónica por VHC incluidos en este trabajo, el 62,7% ($n=116$) presentaban placas de ateroma en el estudio ecográfico. En la tabla 16 se muestran las características clínico- analíticas y virales de los pacientes infectados con y sin placas de ateroma.

Variables	VHC sin placa (n= 69) 37,30%	VHC con placa (n= 116) 62,70%	P
Edad	50,10 ± 11,62	57,216 ± 8,85	<0,001
Sexo masculino	23 (33,30%)	78 (67,20%)	<0,001
Tabaquismo	34 (49,30%)	91 (78,40%)	<0,001
IMC	26,17 ± 5,26	27,10 ± 4,94	0,228
TAS	119,71 ± 16,91	129,27 ± 15,22	<0,0001
TAD	72,90 ± 10,90	75,71 ± 10,63	0,089
SCORE	0,57 ± 0,91	1,94 ± 1,96	<0,001
Gluc	92,36 ± 12,76	98,25 ± 13,86	0,004
IR1 (TG/HDL)	1,71 ± 0,86	2,75 ± 2,26	<0,001
IR2 (TyG)	8,21 ± 0,38	8,53 ± 0,52	<0,001
CT	168,10 ± 33,53	166,10 ± 35,89	0,708
No HDLc	112,63 ± 31,84	116,50 ± 34,12	0,445
LDLc	88,69 ± 34,97	121,18 ± 73,74	0,901
HDLc	55,46 ± 13,64	49,60 ± 13,82	0,006
IA (CT/HDL)	3,16 ± 0,85	3,52 ± 0,98	0,012
TG	88,69 ± 34,96	121,14 ± 73,72	<0,001
Bb	0,87 ± 0,52	3,37 ± 18,58	0,151
Alb	4,01 ± 0,45	3,98 ± 0,57	0,708
Plaq	190,61 ± 82,15	65,48 ± 72,50	0,312
ALT	55,71 ± 42,68	65,17 ± 52,67	0,212
AST	57,28 ± 48,86	64,49 ± 54,64	0,375
GGT	55,23 ± 73,83	65,48 ± 72,53	0,357
Genotipo			<0,001
1	55 (79,70%)	68 (58,60%)	
2	6 (8,70%)	5 (4,30%)	
3	1 (1,40%)	17 (14,70%)	
4	7 (10,10%)	26 (22,40%)	
Fibrosis hepática			0,022
No significativa	41 (59,40%)	48 (41,40%)	
Significativa	28 (40,60%)	68 (58,60%)	
Esteatosis hepática HSI	36 (52,2%)	33 (47,8%)	0,953
Carga viral	2,25 · 10 ⁶ ± 3,11 · 10 ⁶	3,24 · 10 ⁶ ± 4,30 · 10 ⁶	0,070
Tiempo infección VHC	8,62 ± 5,41	10,17 ± 4,92	0,048

Tabla 16. Características clínicas-analíticas y virales de los pacientes con VHC según presencia de placa

Los pacientes con placas de ateroma presentaban mayor edad, cifras elevadas de tensión arterial y antecedentes de tabaquismo que los pacientes sin placas ($p < 0,05$).

Además, en estos pacientes también se observaron valores elevados de glucemia, índice de insulinoresistencia, HDLc, índice de aterogénico y triglicéridos ($p < 0,05$).

Los pacientes que presentaban placa de ateroma tenían mayor grado de fibrosis hepática ($p = 0,002$), tal y como muestra la figura 35. En los pacientes con fibrosis hepática significativa (F3-4) el 58,60% presentaban placas. Se observó asociación de la presencia de placas con el genotipo viral ($p < 0,001$) y el tiempo de infección por VHC ($p = 0,048$) pero no con la viremia ($p = 0,070$).

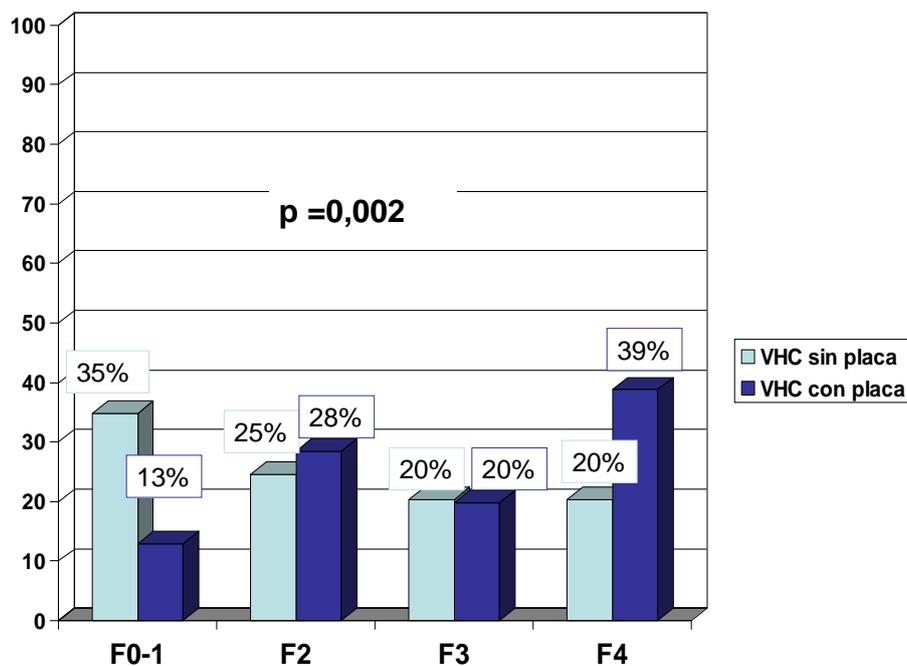
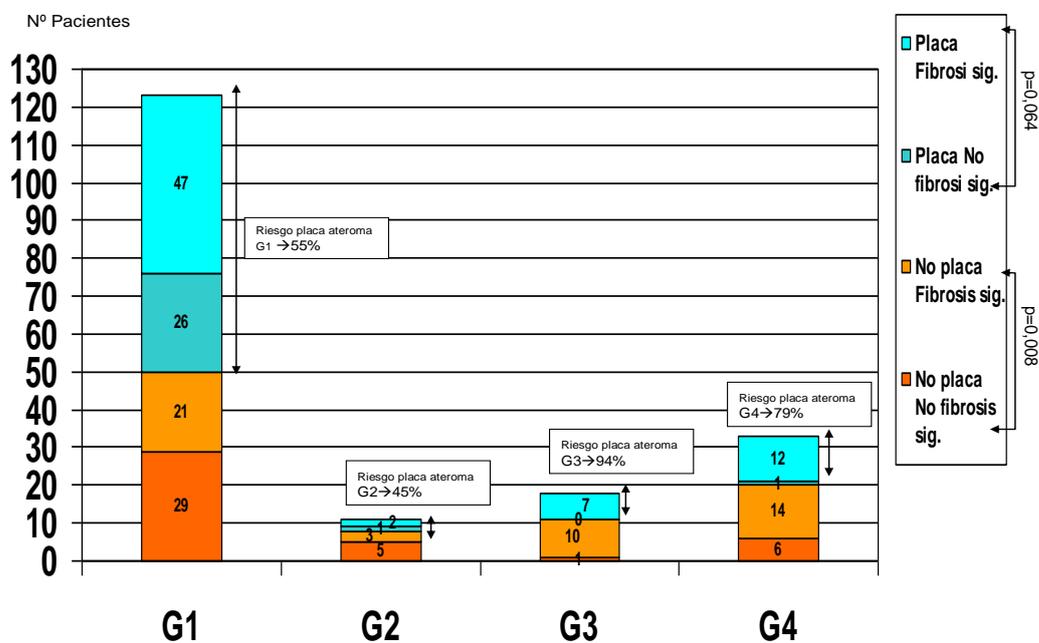


Figura 35. Distribución de placa de ateroma según el grado de fibrosis hepática

Analizando la presencia de placa en relación con el genotipo del virus y la fibrosis hepática se observó: que algunos genotipos presentan más ateromatosis que otros independientemente del grado de fibrosis.

Por ello, categorizamos los genotipos virales según el riesgo de placa de ateroma, independientemente del grado de fibrosis hepática (número de pacientes de ese genotipo que presentaban placa frente al total de pacientes de ese genotipo estudiados), obteniendo así, una variable ordinal.

El genotipo 2 fue el menos agresivo, presentando un 45,4% de riesgo de placa (5/11 pacientes). El genotipo 1 tenía un 55,3% de riesgo de placa (68/123) y el genotipo 4 un 78,8% (26/33). El más agresivo a la hora de presentar placa de ateroma fue el genotipo 3 (17/18: 94,4%). Figura 36



*Riesgo de placa de ateroma según cada genotipo (nº pacientes con placa de ese genotipo / nº pacientes totales de ese genotipo) **Fibrosis significativa:** F3-4/ **No fibrosis:** F0-1-2

Figura 36. Distribución de placa de ateroma según genotipo viral y fibrosis hepática.

Al tener en cuenta la fibrosis hepática significativa (F3-4), se detectó mayor presencia de placa siguiendo esta distribución: G1 con un 69% casos (de los 68 pacientes genotipo 1 con placa de ateroma 47 presentaban fibrosis significativa), luego el genotipo 4 con un 46% (de 26 pacientes G4 con placa 12 con fibrosis F3-4) y posteriormente el genotipo 2 y 3 con un 41-40% (de los pacientes con genotipo 2 tenían placa 5 y fibrosis significativa, y en el genotipo 3 de los 17 pacientes con placa 7 presentaban fibrosis F3-4). Figura 36.

Realizamos el análisis multivariante (tabla 17) con las variables clínico-analíticas y virales que tenían significación estadística en el análisis bivariante y el genotipo que categorizamos según el riesgo de placa de ateroma en orden ascendente anteriormente calculado (número 1→ genotipo 2, número 2→ genotipo 1, número 3→ genotipo 4 y número 4→ genotipo 3).

Variables	OR	(IC 95%)	P
Edad	1,09	1,05-1,14	<0,001
Sexo masculino	2,71	1,19-6,17	0,018
Tabaquismo	2,91	1,15-7,39	0,049
Tiempo infección VHC			0,073
Genotipo viral*	2,46	1,30-4,63	0,005
G2			
G1			
G4			
G3			
Fibrosis significativa (F3-4)			0,479
TAS			0,212
IR2 (TyG)	2,37	1,01-5,60	0,050
IA (CT/HDL)			0,818
*Genotipo viral : variable ordinal por riesgo ascendente de placa de ateroma (orden G2, G1, G4,G3)			

Tabla 17. Análisis multivariante de los factores de riesgo asociados con placa de ateroma en pacientes con infección crónica por VHC

Observamos que sólo el hábito tabáquico, la edad avanzada, el sexo masculino, mayor tiempo de evolución de la infección por VHC, más puntuación del índice de insulinoresistencia (TyG) y el genotipo fueron factores de riesgo independientes de la presencia de placa de ateroma en los pacientes infectados por VHC. Respecto al genotipo se detectó un aumento de riesgo de más del doble según el orden establecido del genotipo (2, 1, 4 y 3) sin asociarse con la fibrosis hepática ($p = 0,479$).

2. DISTRIBUCIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO Y GLUCÍDICO EN LOS PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC.

En este apartado quisimos evaluar la modificación del perfil lipídico y glucídico en los pacientes con infección crónica por VHC ya que estas alteraciones en la población general se asocian con la presencia de placas de ateroma.

Primeramente lo analizamos en la muestra total de pacientes infectados para ver si las características virales o la fibrosis hepática podían variar estos parámetros.

2.1. Según el genotipo viral

Tal y como se observa en la tabla 18 al agrupar los pacientes por el genotipo viral no detectamos diferencias significativas entre ellos respecto al perfil lipídico ni glucídico, estando todos los parámetros dentro de la normalidad, salvo con los niveles de HDLc ($p=0,032$). Se observó diferencias significativas entre el genotipo 1 y 3, siendo menores los niveles de HDLc en el G3 ($p= 0,021$) Figura 37.

Variables	G1 (n=123)	G2 (n=11)	G3 (n=18)	G4 (n=33)	p
Gluc	96,62 ± 14,51	94,90± 11,31	91,78± 8,69	96,65± 13,69	0,557
IR1	2,26 ± 1,71	2,87± 4,95	2,51± 1,13	2,50± 1,83	0,722
IR2	8,45 ± 0,48	8,30 ± 0,71	8,36 ± 0,39	8,48 ± 0,52	0,678
CT	169,83 ± 33,56	174,18±32,96	148,05±41,06	163,52±34,86	0,075
No HDLc	116,19 ± 33,69	124,18±26,16	105,22±38,29	11,26± 30,51	0,374
HDLc	53,13 ± 13,56	50,00± 15,32	42,83± 11,59	52,26± 15,49	0,032
LDLc	94,01 ± 31,08	95,63± 27,02	82,68± 32,90	88,42± 31,19	0,439
TG	109,11 ± 63,51	111,72±116,71	101,23±39,84	112,14±55,05	0,948
IA	3,35 ± 0,94	3,72± 1,05	3,57± 0,91	3,31 ± 1,01	0,542

Tabla 18. Distribución del perfil lipídico y glucídico según el genotipo viral

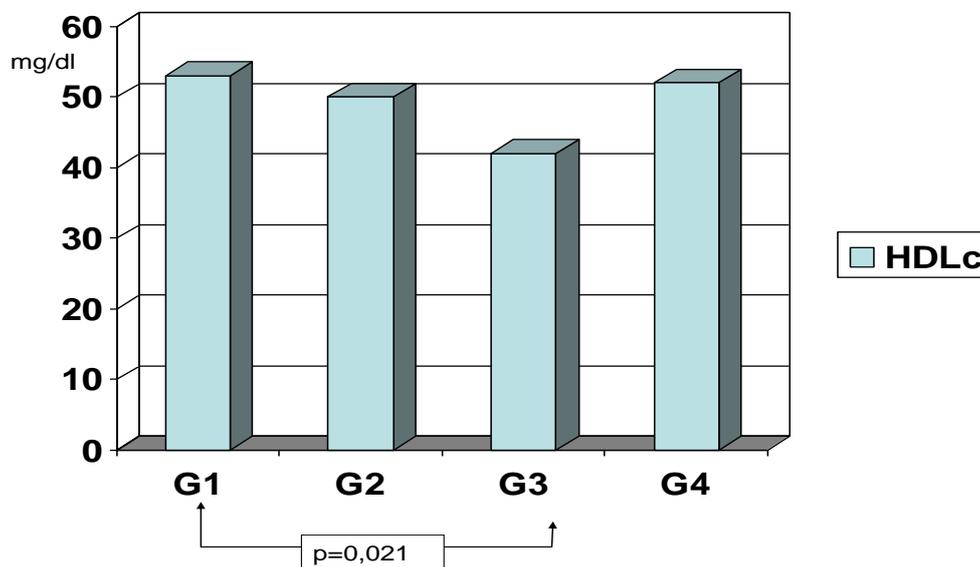


Figura 37. Diferencias entre los niveles de HDL colesterol según el genotipo viral.
(ANOVA de muestras independientes post hoc de Bonferroni)

2.2. Según la fibrosis hepática

En cambio cuando analizamos las modificaciones analíticas según el grado de fibrosis hepática (tabla 19) identificamos que existían cambios significativos entre los grados de fibrosis y los niveles de glucemia ($p=0,003$) colesterol total ($p<0,001$) no HDLc ($p<0,001$) LDLc ($p<0,001$) y el índice de insulinoresistencia TyG ($p=0,036$). Los niveles de glucosa y el índice de insulinoresistencia aumentan al avanzar la fibrosis mientras que los niveles de colesterol, LDLc y no HDLc descienden al avanzar la fibrosis. No hubo modificación significativa ni con los niveles de HDLc ni los triglicéridos ni el producto TyG ni con el índice aterogénico.

Variables	F1 (n=39)	F2 (n=50)	F3 (n=37)	F4 (n=59)	p
Gluc	92,11 ± 9,31	95,85 ± 13,73	95,07 ± 15,88	99,43 ± 14,02	0,070
IR1	1,98 ± 1,23	2,51 ± 2,11	2,10 ± 1,28	2,66 ± 2,42	0,278
IR2	8,35 ± 0,42	8,42 ± 0,56	8,38 ± 0,47	8,55 ± 0,49	0,182
CT	176,53 ± 28,53	173,40 ± 40,12	176,11 ± 27,60	149,10 ± 32,16	<0,001
No HDLc	121,96 ± 28,58	122,12 ± 36,72	124,53 ± 29,04	98,54 ± 30,01	<0,001
LDLc	99,10 ± 25,84	95,82 ± 34,08	101,90 ± 27,01	77,87 ± 29,56	<0,001
HDLc	54,57 ± 15,19	51,27 ± 14,94	51,53 ± 11,48	50,54 ± 13,93	0,559
TG	100,28 ± 45,42	110,2 ± 74,72	101,02 ± 46,73	118,44 ± 73,39	0,457
IA	3,39 ± 0,77	3,58 ± 1,09	3,657 ± 0,95	3,11 ± 0,88	0,034

Tabla 19. Distribución del perfil lipídico y glucídico según fibrosis hepática

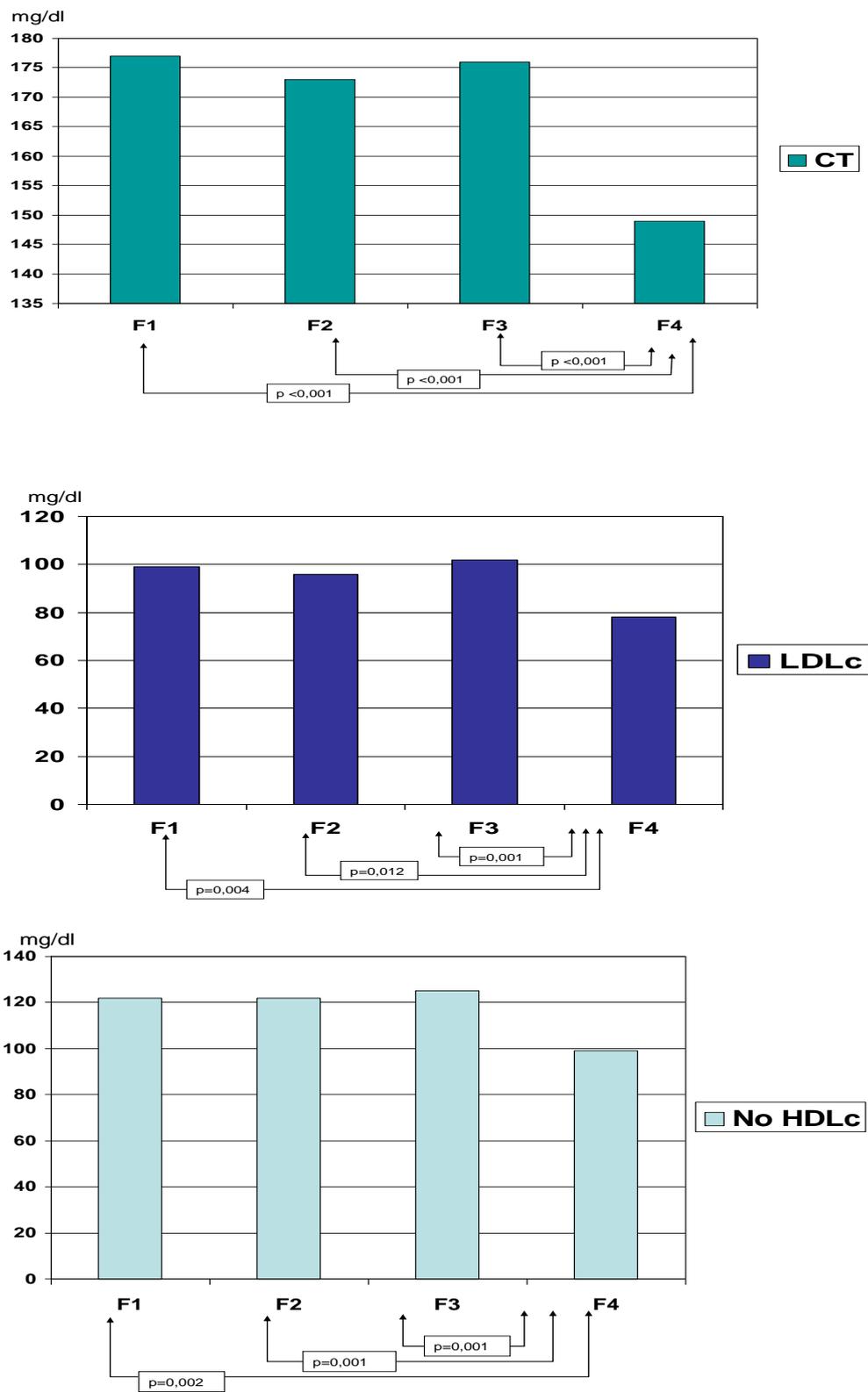


Figura 38. Diferencias entre los niveles de lípidos según la fibrosis hepática

3. DISTRIBUCIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO Y GLUCÍDICO EN LOS PACIENTES VHC CON PRESENCIA DE PLACAS DE ATEROMA

Posteriormente analizamos estas mismas variables analíticas en los pacientes infectados por VHC que presentaban placas de ateroma para ver si existía modificación con el genotipo viral o la fibrosis hepática.

3.1. Según el genotipo viral

Solo analizamos los pacientes con genotipo 1 ya que el resto de genotipos presentaban números muy pequeños que no permitían el análisis.

En la figura 39 se puede observar como los pacientes con VHC genotipo 1 y placas presentaban niveles significativamente más elevados de glucemia ($92,36 \pm 13,63$ mg/dl en los pacientes sin placa vs $100,07 \pm 14,38$ mg/dl en los pacientes con placa, $p=0,003$) así como puntuaciones más elevadas de los índices de insulinorresistencia (IR1: $1,73 \pm 0,93$ vs $2,69 \pm 2,04$; $p<0,001$, IR2: $8,23 \pm 0,32$ vs $8,47 \pm 0,56$; $p=0,050$). Los niveles de triglicéridos también aumentaban con la presencia de placa, así como el índice aterogénico ($89,51 \pm 37,11$ mg/dl vs $124,97 \pm 75,25$ mg/dl; $p<0,001$; $3,14 \pm 0,89$ vs $3,52 \pm 0,96$; $p=0,022$) mientras que los niveles de HDLc eran significativamente inferiores ($55,98 \pm 13,89$ mg/dl vs $50,82 \pm 12,74$ mg/dl; $p=0,034$).

En el resto del perfil lipídico (colesterol total, LDLc y no HDLc) no se detectaron diferencias estadísticamente significativas.

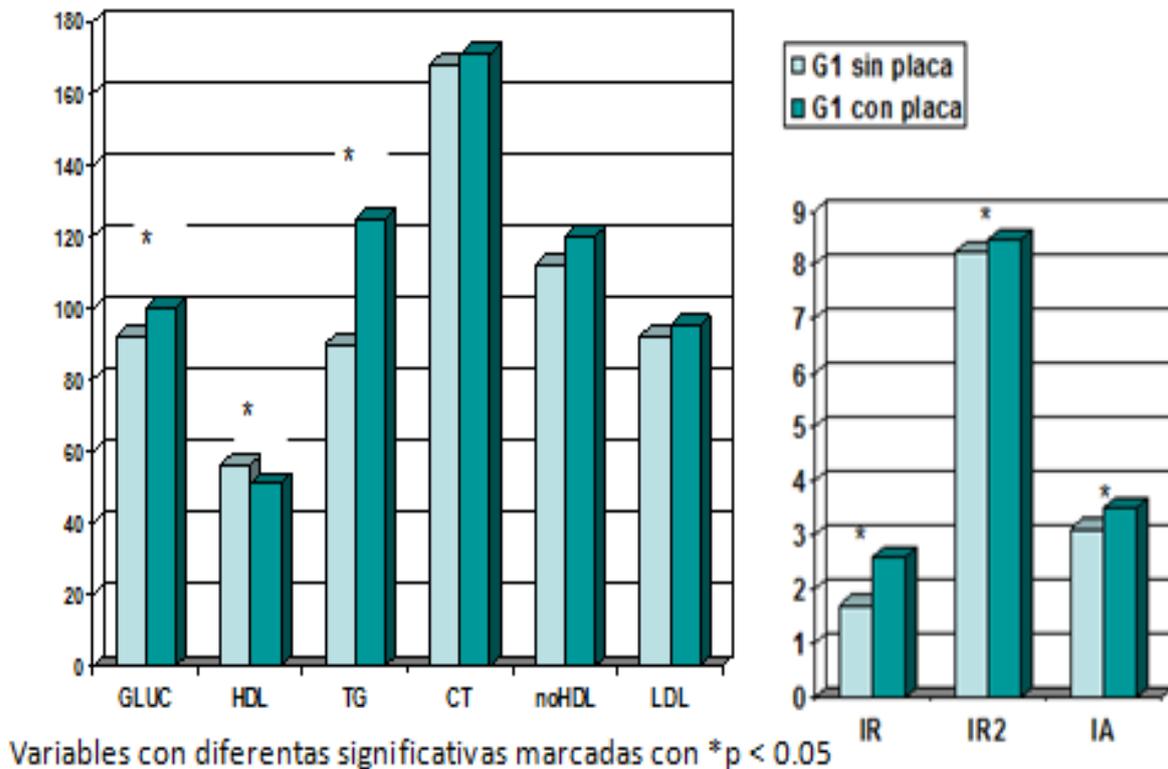


Figura 39. Distribución del perfil lipídico y glucídico en pacientes con infección VHC con genotipo 1 con y sin placa de ateroma

3.2. Según la fibrosis hepática

Analizamos el perfil lipídico en los pacientes VHC con y sin placas de ateroma, teniendo en cuenta el grado de fibrosis hepática medida mediante elastografía. Clasificamos los pacientes en fibrosis hepática no significativa (F0-1-2) y fibrosis significativa (F3-4) para transformar la fibrosis hepática en una variable dicotómica. Tabla 20.

	NO FIBROSIS SIGNIFICATIVA (F0-1-2)		P	FIBROSIS SIGNIFICATIVA (F3-4)		P
	NO PLACA	PLACA		NO PLACA	PLACA	
	Gluc	91,14± 8,97		96,66± 13,83	0,032	
IR1	1,67± 0,81	2,79± 2,20	0,002	1,76± 0,95	2,72± 2,33	0,038
IR2	8,22 ± 0,34	8,54 ± 0,57	0,001	8,29 ± 0,45	8,57 ± 0,48	0,010
CT	173,70± 33,28	175,68±37,36	0,794	159,89±32,77	159,34±33,47	0,942
No HDLc	118,09± 29,61	125,43± 35,98	0,301	104,64± 33,82	110,20 ± 31,51	0,665
LDLc	97,42± 29,15	97,13± 32,13	0,965	84,99 ± 27,05	88,01± 32,36	0,444
TG	85,99± 32,11	123,35± 77,49	0,003	92,6 4± 39,02	119,58± 71,48	0,817
HDLc	55,61± 15,64	50,25± 14,23	0,081	55,25± 10,31	49,14± 13,62	0,036
IA	3,27± 0,81	3,69± 1,05	0,004	2,99± 0,91	3,40± 0,92	0,245

Tabla 20. Distribución perfil lipídico e IR según fibrosis hepática

En los pacientes VHC sin fibrosis significativa se observaron diferencias en los niveles de glucosa, triglicéridos y los índices de insulinoresistencia y aterogénico que fueron superiores en los pacientes con placas de ateroma que los que no la presentaban.

En los pacientes VHC con fibrosis significativa, solo se observaron diferencias significativas entre los pacientes con o sin placas en las cifras de HDLc ($p=0,036$), con tendencia a disminuir a medida que progresa la fibrosis hepática, y los índices de insulinoresistencia (IR1: TG/HDL; $p=0,038$, IR2: TyG; $p=0,010$).

Como se puede observar en la tabla 20 tanto en los pacientes con o sin fibrosis significativa había diferencias estadísticas en los índices de insulinoresistencia, siendo mayores las puntuaciones en los pacientes con placa de ateroma pero con cifras

similares en ambos grupos (IR1: $2,79 \pm 2,20$ y IR2: $8,54 \pm 0,57$ en pacientes sin placa vs IR1: $2,72 \pm 2,33$ y IR2: $8,57 \pm 0,48$ en pacientes con placa, $p < 0,05$), independientemente del grado de fibrosis hepática.

4. CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO VASCULAR ECOGRÁFICO SEGÚN EL GENOTIPO VIRAL Y EL GRADO DE FIBROSIS HEPÁTICA EN LOS PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC.

En la tabla 21 se muestra el estudio vascular ecográfico según los genotipos virales.

	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3	Genotipo 4	p
Localización de placas:					0,162
T. Carótidas	22 (32,40%)	3 (60,00%)	1 (5,90%)	6 (23,10%)	
T. Femoral	11 (16,20%)	1 (20,00%)	6 (35,30%)	6 (23,10%)	
Ambos territorios	35 (51,40%)	1 (20,00%)	10 (58,80%)	14 (53,80%)	
GIM	$0,90 \pm 1,56$	$0,67 \pm 0,08$	$0,70 \pm 0,11$	$0,65 \pm 0,09$	0,649
Placas de ateroma	68 (55,30%)	5 (45,50%)	17 (94,40%)	26 (78,80%)	<0,001
Carga de ateroma:					
-Número de placas	$3,47 \pm 2,61$	$2,20 \pm 2,68$	$2,94 \pm 1,39$	$2,81 \pm 1,72$	0,407
-Área de placas	$1,02 \pm 1,23$	$0,54 \pm 0,63$	$0,78 \pm 0,65$	$0,67 \pm 0,54$	0,382
Composición de placas:					
-Porcentaje de lípidos	$46,08 \pm 21,06$	$57,63 \pm 26,70$	$46,17 \pm 24,78$	$56,91 \pm 24,18$	0,166
- Porcentaje de fibrosis	$25,81 \pm 9,35$	$20,20 \pm 12,15$	$25,46 \pm 11,37$	$20,91 \pm 11,31$	0,563
- Porcentaje de calcio	$28,09 \pm 16,98$	$22,15 \pm 15,64$	$36,29 \pm 16,58$	$20,67 \pm 16,59$	0,140

Tabla 21. Características del estudio vascular ecográfico según el genotipo viral

No se observó diferencias significativas en cuanto al territorio vascular afecto y el tipo de genotipo viral ($p=0,162$). El genotipo que afecta más el territorio femoral fue el genotipo 3 y el carótideo el genotipo 2 pero sin ser significativo, ya que en todos genotipos predominaba la afectación sincrónica de territorios vasculares.

Tampoco observamos diferencias significativas en cuanto a la carga de enfermedad ateromatosa (ni área ni número de placas) ni diferencias con la composición de las placas según los genotipos virales.

En la tabla 22 se muestra el estudio vascular ecográfico según el grado de fibrosis hepática clasificándolo como presencia (F3-4) o ausencia (F0-1-2) de fibrosis significativa.

	No fibrosis significativa	Fibrosis significativa	p
Localización:			0,018
T. Carotídeo	15 (31,30%)	17 (25,00%)	
T. Femoral	15 (31,30%)	9 (13,20%)	
Ambos territorios	18 (37,50%)	42 (61,80%)	
GIM	0,78 ± 0,98	0,89 ± 1,63	0,665
Placas de ateroma	48 (53,90%)	68 (70,8%)	0,018
Carga de ateroma:			
-Número de placas total	2,63 ± 2,11	3,61 ± 2,34	0,030
-Área de placas total	0,71 ± 0,90	1,07 ± 1,09	0,155
Composición de placas:			
-Porcentaje de lípidos	49,83 ± 24,02	48,84 ± 22,02	0,157
- Porcentaje de fibrosis	25,05 ± 11,69	23,81 ± 9,36	0,836
- Porcentaje de calcio	25,08 ± 16,34	27,09 ± 17,51	0,092

Tabla 22. Características del estudio vascular según el grado de fibrosis hepática

En los pacientes sin fibrosis significativa se localizó similar porcentaje de placas en las tres zonas vasculares estudiadas mientras que en los pacientes con fibrosis significativa predominaban más las placas sincrónicas, en ambos territorios arteriales ($p=0,18$).

Respecto a la carga de enfermedad ateromatosa, el número total de placas detectadas fue superior en los pacientes con fibrosis significativa ($3,61 \pm 2,34$ vs $2,63 \pm 2,11$; $p=0,030$) mientras que no se observaron al sumar el área total de las placas ($p=0,155$) ni al analizar el GIM ($p= 0,649$).

Tampoco se detectaron diferencias en la composición de las placas de ateroma según el grado de fibrosis hepática, siendo el componente predominante lipídico en todas ellas.

Clasificamos nuevamente las placas detectadas según el componente predominante para ver si existían diferencias según el genotipo o el grado de fibrosis hepática.

En la figura 40 se observa el porcentaje del tipo de placas según el genotipo siendo más frecuentes las placas lipídicas en los pacientes con genotipo 4 (80,80%) seguido del genotipo 2 (60,00%) el genotipo 3 (52,90%) y por último el genotipo 1 (47,10%) observándose diferencias significativas ($p=0,007$).

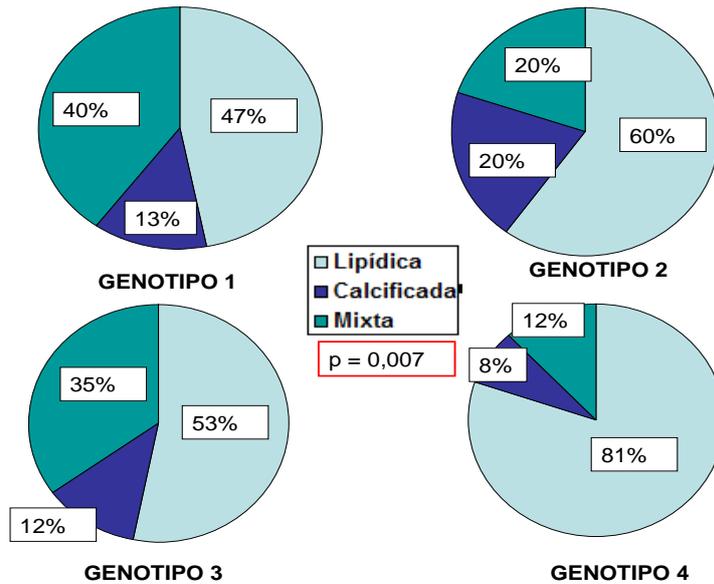


Figura 40. Distribución de tipo de placas según el genotipo viral.

En la figura 41 se expone el porcentaje de tipo de placas detectadas según el grado de fibrosis hepática siendo más frecuentes las placas lipídicas según avanza el grado de fibrosis (53,30% en F1, 54,50% en F2, 56,50% en F3 y 57,80% en F4 o cirrosis hepática) aunque estas diferencias no fueron significativas estadísticamente ($p=0,931$).

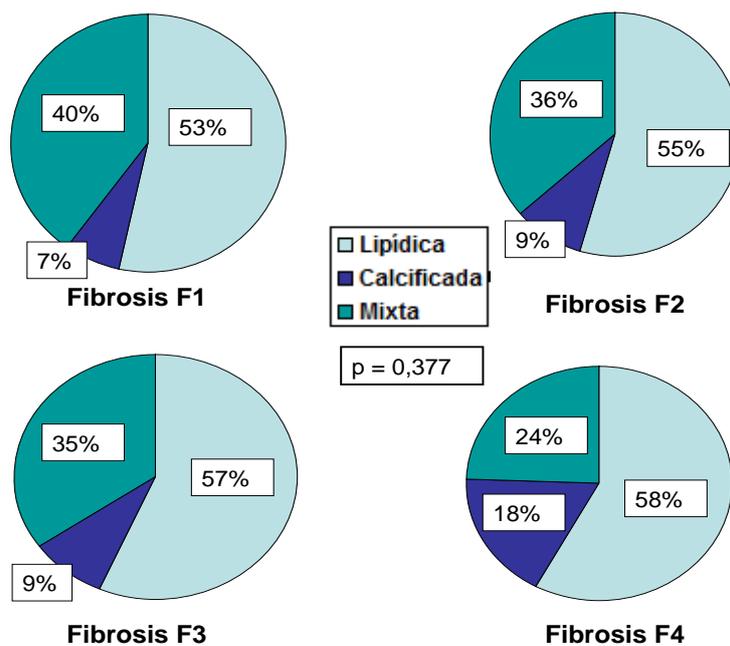


Figura 41. Distribución de tipo de placas según la fibrosis hepática

*** MODIFICACIÓN DE LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA TRAS EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC CON AAD**

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO:

1.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-ANALÍTICAS Y VIRALES DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC ANTES DEL TRATAMIENTO CON AAD

En la segunda parte del estudio, realizamos nuevamente ecografía arterial carotídea y femoral tras 12 meses de la curación del virus con AAD, es decir tras un año del primer estudio vascular. Se completó el seguimiento en 85 pacientes (45,95% de la muestra) ya que tuvimos pérdidas, muchos pacientes no quisieron realizarse en segundo estudio vascular.

Las características de los 85 pacientes que completaron el estudio de seguimiento tras el tratamiento antiviral se resumen en la Tabla 23, fueron muy similares a la muestra inicial del estudio.

El 47% eran hombres, y la media de edad de 55 años. Solo el 16,50% de los pacientes eran mayores de 65 años. Al evaluar los factores de riesgo clásicos de enfermedad ateromatosa observamos que: el 25,90% eran obesos, 14,10% hipertensos, 3,50% presentaban dislipemia. Ninguno de los pacientes tenía diabetes mellitus. Un 62,4% contaban hábito tabáquico (31,80% eran exfumadores, 18,80% fumaban menos de 20 cigarrillos/ día mientras que 11,80% fumaban más de 20 cigarrillos/día). Un 57,6% de la muestra presentaba esteatosis hepática según la fórmula Hepatic Steatosis Index

(HSI). Los valores medios de tensión arterial, glucosa y del perfil lipídico estaban dentro del rango de normalidad. El índice de insulinoresistencia antes de iniciar tratamiento antiviral, medido por el coeficiente Triglicéridos/ HDL colesterol fue del $2,28 \pm 1,84$ y el índice TyG del $8,48 \pm 0,52$. La mayoría de los pacientes estaban infectados por genotipo 1 seguido de genotipo 4 genotipo 3 y genotipo 2. Un 57,5% de pacientes presentaban enfermedad hepática crónica avanzada (F3-F4), siendo el 34% de los mismos cirróticos.

Variables	VHC positivo (N = 85)
Sexo masculino	40 (47,10%)
Edad	54,78 (33-75)
Hábito tabáquico	
No fumador	32 (37,60%)
Exfumador	27 (31,80%)
Fumador de <20 cigarrillos/día	16 (18,80%)
Fumador de >20 cigarrillos/día	10 (11,80%)
Esteatosis Hepática	49 (57,60 %)
GIM*	0,74 \pm 0,21
Placa de ateroma	56 (65,90%)
Genotipo:	
1	59 (69,40%)
2	6 (7,10%)
3	8 (9,40%)
4	12 (14,10%)
Respuesta a tratamiento antiviral previo:	
Naives	52 (61,20%)
No respuesta a biterapia	40 (38,80%)
Carga viral	$16,51 \cdot 10^6 \pm 3,09 \cdot 10^6$
Tiempo de evolución de infección por VHC	10,3 $2 \pm 4,75$
Fibrosis Hepática:	
F1	16 (18,90%)
F2	20 (23,50%)
F3	20 (23,50%)
F4	29 (34,10%)
* GIM: Solo medido en los 29 pacientes sin placa (GIM <1,5mm)	

Tabla 23. Características de los pacientes VHC tratados con AAD.

1.2. TERAPIA ANTIVIRAL RECIBIDA

En el momento del reclutamiento el 61,20% de los pacientes eran naive y el 38,80% eran no respondedores a biterapia (IFN pegilado y ribavirina).

Todos ellos se trataron con AAD siguiendo las directrices de la guía de tratamiento del VHC según los criterios del ICS (Institut Catalán de Salut) durante el periodo del estudio (Figura42).

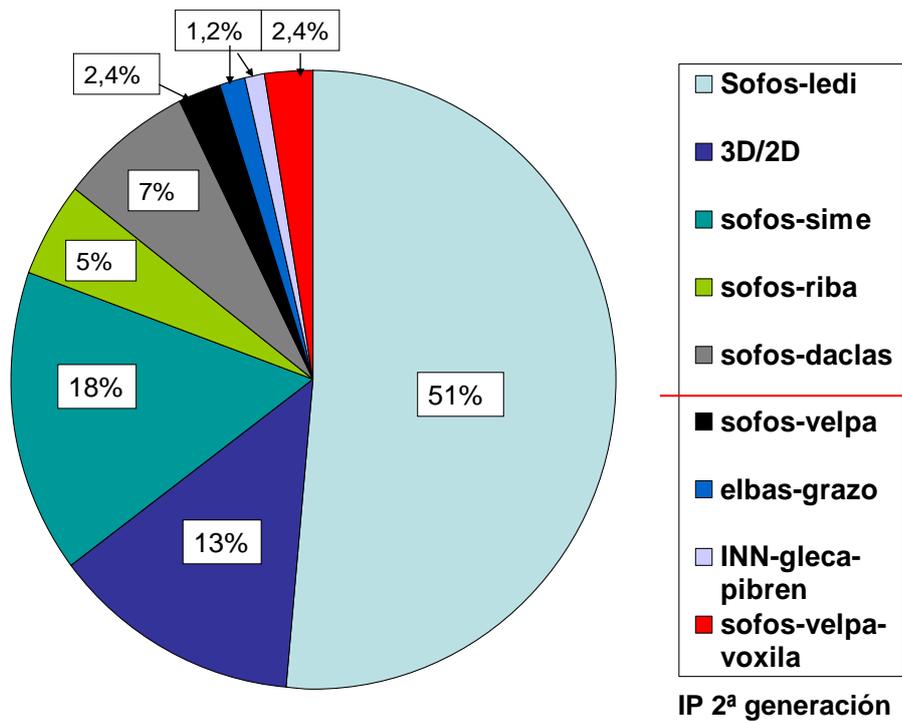


Figura 42. Terapia antiviral recibida en pacientes con infección crónica VHC con AAD

El 51,60% de los pacientes se trató con Sofosbuvir/ Ledipasvir ± Ribavirina durante 8, 12 ó 24 semanas, 17,60% con Sofosbuvir- Simeprevir ± Ribavirina durante 12 semanas, 4,70% Sofosbuvir ± Ribavirina durante 24 semanas, 7,10% con Sofosbuvir- Daclatasvir ± Ribavirina durante 12 semanas y 8% con Ombitasvir- Paritaprevir- Ritonavir y Dasabuvir ± Ribavirina durante 12 semanas (3D en pacientes genotipo 1) 11% Ombitasvir-Paritaprevir-Ritonavir durante 12 semanas (2D en genotipo 4).

Un 8,20% fueron no respondedores a los inhibidores de proteasa de primera generación (Boceprevir/ Telaprevir), tratándose posteriormente con IPs de segunda generación (Elbasvir- Grazoprevir, INN-Glecaprevir- Pibrentasvir y Sofosbuvir-Velpatasvir ± Voxilaprevir durante 12 semanas).

Todos los pacientes tratados alcanzando respuesta viral sostenida en el 100% de los casos.

2. ANÁLISIS ANALÍTICO:

2.1. MODIFICACIÓN DE LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA TRAS LA TERAPIA ANTIVIRAL

Al analizar la media de GIM tras 12 meses de tratamiento antiviral observamos una tendencia al empeoramiento, pero sin ser significativa ($0,74 \pm 0,21$ vs $0,81 \pm 0,38$ mm; $p= 0,068$). El GIM solo se evaluó en los pacientes sin placa antes de la terapia antiviral (29 pacientes).

Tampoco detectamos diferencias relevantes en la presencia de placas de ateroma tras el año del tratamiento, aunque hubo una tendencia no significativa al aumento de

placas (65,90% vs 71,80%; $p= 0,063$) (Figura 43). Los pacientes que tenían placa antes de la terapia antiviral mantuvieron las placas (n=56 pacientes con placas antes y después de AAD), observándose tras los 12 meses del seguimiento un aumento del 6% de placa (n=5 pacientes sin placa desarrollaron placas tras AAD).

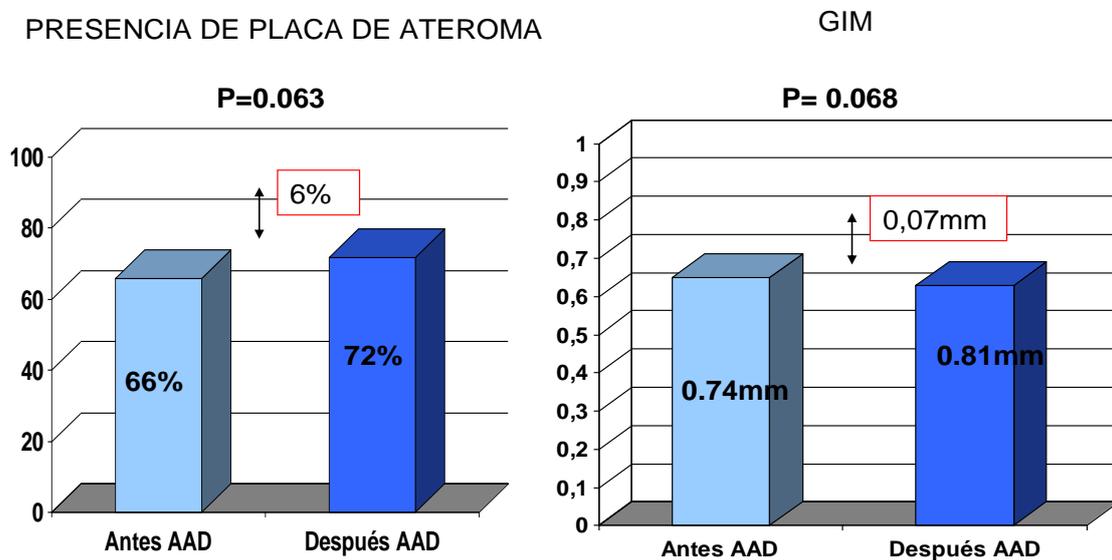


Figura 43. Cambios en el GIM y la presencia de la placa de ateroma tras 12 meses de la terapia

2.2. MODIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA TRAS LA TERAPIA ANTIVIRAL

Respecto a los parámetros de la hepatopatía (tabla 24), hallamos una reducción en los niveles de transaminasas tanto AST ($56,69 \pm 41,30$ UI/ml vs $25,18 \pm 12,58$ UI/ml; $p < 0,001$) y ALT ($57,42 \pm 41,21$ UI/ml vs $19,18 \pm 14,97$ UI/ml; $p < 0,001$), así como de la presencia de esteatosis hepática calculada con el Hepatic Steatosis Index (HSI $57,60\%$ antes de AAD vs $38,80\%$ después de AAD, $p = 0,002$). También se observó mejoría de la fibrosis hepática medida con elastografía hepática tras 12 meses del tratamiento. (F1= $18,80\%$, F2= $23,50\%$, F3= $23,50\%$, F4= $34,10\%$ vs F1= 40% , F2= 20% , F3= $14,10\%$, F4= $25,90\%$; $p < 0,001$).

	Basal	Seguimiento	P
AST	56,69 ± 41,30	25,18 ± 12,58	<0,001
ALT	57,42 ± 41,21	19,18 ± 14,97	<0,001
Esteatosis Hepática	49 (57,60%)	33 (38,80%)	0,002
Fibrosis Hepática			0,002
F1	16 (18,90%)	34 (40,00%)	
F2	20 (23,50%)	17 (20,00%)	
F3	20 (23,50%)	12 (14,10%)	
F4	29 (34,10%)	22 (25,90%)	

Tabla 24. Características de la enfermedad hepática de los pacientes VHC antes y después de 12 meses de AAD.

El la figura 44 se muestra la distribución o cambios de la fibrosis hepática medida con elastografía hepática tras los 12 meses de la erradicación del VHC con AAD.

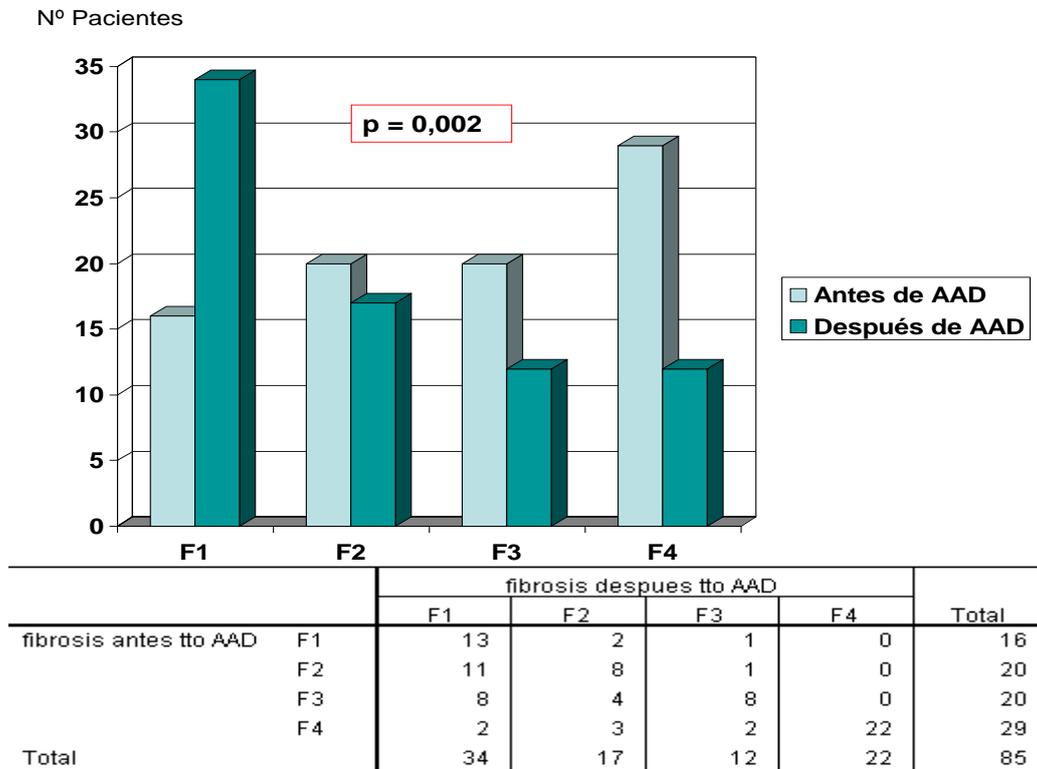


Figura 44. Distribución de la fibrosis hepática tras los 12 meses de la terapia.

2.3. MODIFICACIONES CLÍNICO-ANALÍTICAS TRAS LA TERAPIA ANTIVIRAL

No se objetivaron modificaciones en el IMC, la tensión arterial sistólica, diastólica ni los niveles de glucemia. En el periodo de seguimiento tras la terapia antiviral, se observó un empeoramiento significativo en el perfil lipídico (colesterol total $172,12 \pm 34,41$ mg/dl vs $199,65 \pm 37,91$ mg/dl; $p < 0,001$, No HDLc $118,63 \pm 34,86$ mg/dl vs $146,25 \pm 39,33$ mg/dl; $p < 0,001$ y LDLc $95,10 \pm 33,10$ mg/dl vs $111,97 \pm 32,59$ mg/dl; $p < 0,001$) y un aumento significativo del índice aterogénico (CT/HDL: $2,23 \pm 1,56$ vs $3,39 \pm 0,99$;

p<0,001). No hubo modificación en los niveles de HDLc ni triglicéridos ni en los índices de insulinoresistencia (Tabla 25).

	Basal	Seguimiento	p
IMC	27,61 ± 4,43	27,85 ± 4,34	0,247
TAS	126,20 ± 17,57	123,8 ± 21,47	0,213
TAD	74,84 ± 10,77	74,53 ± 11,29	0,748
Gluc	98,38 ± 16,25	98,13 ± 16,33	0,886
IR1 (TG/HDL)	2,28 ± 1,83	2,23 ± 1,561	0,832
IR2 (TyG)	8,48 ± 0,52	8,47 ± 0,49	0,784
CT	172,12 ± 34,41	199,65 ± 37,91	<0,001
No HDLc	118,63 ± 34,86	146,25 ± 39,33	<0,001
LDLc	95,10 ± 33,10	111,97 ± 32,59	<0,001
HDL c	53,47 ± 13,85	53,41 ± 13,14	0,925
TG	112,70 ± 70,63	109,81 ± 66,52	0,734
IA (CT/HDL)	2,23 ± 1,56	3,39 ± 0,99	<0,001

Tabla 25. Características clínico-analíticas de los pacientes VHC antes y después de 12 meses de AAD

2.4. MODIFICACIÓN DEL ESTUDIO ECOGRÁFICO VASCULAR TRAS LA TERAPIA

ANTIVIRAL

Tras 12 meses del tratamiento con AAD, no se hallaron diferencias en el área total de las placas, pero hubo una tendencia no significativa a aumentar el número de placas en este periodo de tiempo (p= 0,055). (Tabla 26.)

	Basal	Seguimiento	P
GIM	0,74 ± 0,21	0,81 ± 0,38	0,068
Placa de ateroma	56 (65,90%)	61 (71,80%)	0,063
Localización de placas de ateroma:			0,071
-Territorio carotídeo	16 (18,80%)	17 (20,00%)	
-Territorio femoral	9 (10,60%)	9 (10,60%)	
-Ambos territorios	31 (36,50%)	35 (41,20%)	
Carga de enfermedad ateromatosa:			
-Área total de las placas de ateroma	0,57 ± 1,07	0,64 ± 1,21	0,281
-Número total de placas de ateroma	3,00 ± 2,25	3,36 ± 2,31	0,055
Composición de placas de ateroma:			
-Porcentaje de lipídicos	49,49 ± 21,57	47,08 ± 20,35	0,305
-Porcentaje de fibrosis	25,4 ± 10,25	26,02 ± 9,52	0,988
-Porcentaje de calcio	24,77 ± 16,43	26,88 ± 6,85	0,171

Tabla 26. Características del estudio ecográfico vascular antes y después de 12 meses de AAD

Al analizar la distribución de las placas, no se observaron diferencias significativas en la zona vascular afecto antes del inicio de la terapia y a los 12 meses tras de finalizar los AAD (Figura 45). Se observó una leve tendencia a aumentar las placas en ambos territorios (carotídeo y femoral), ya que de los 5 pacientes que desarrollaron placas uno fue en territorio carotídeo y en resto se detectaron placas sincrónicas ($p=0,071$).

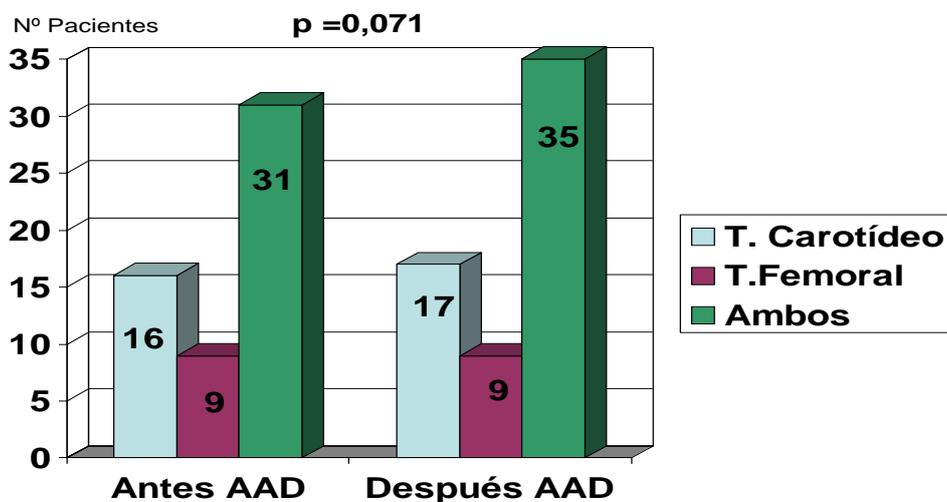


Figura 45. Modificación del territorio vascular afecto tras 12 meses de la terapia

Finalmente evaluamos si existía modificación en la composición de las placas de ateroma medido por escala de grises ecográfica antes y tras 12 meses del tratamiento antiviral, sin identificar alteraciones significativas ni en el porcentaje de lípidos, fibrosis ni calcio. Se observó una tendencia a la disminución del porcentaje lipídico (antes de AAD 49,49% vs 47,08% después de 12 meses del tratamiento) aumentando el porcentaje de fibrosis y calcio (25,40% vs 26,02% y 24,70% vs 26,77%) pero sin ser significativo (Figura 46).

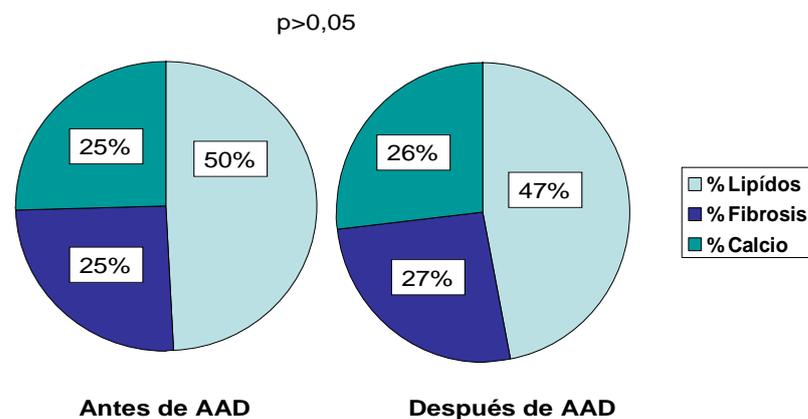


Figura 46. Cambios en la composición de las placas tras 12 meses de la terapia.

2.5. MODIFICACIÓN DE LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA TRAS LA TERAPIA ANTIVIRAL POR SUBGRUPOS. (FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, FIBROSIS HEPÁTICA Y GENOTIPO VIRAL)

Se confirmó la no variación de la ateromatosis subclínica (GIM y placas de ateroma) por subgrupos según factores de RCV y severidad de enfermedad hepática (Tabla 27).

	Basal	Seguimiento	P
Edad ≤65 años (n=71)			
GIM	0,74 ± 0,22	0,83 ± 0,42	0,075
Placa	46 (64,8 %)	51 (71,8 %)	0,063
Edad >65 años (n=14)			
GIM	0,72 ± 0,10	0,73 ± 0,07	0,674
Placa	10 (71,4%)	10 (71,4%)	1
IMC ≤ 30Kg/m² (n=63)			
GIM	0,73 ± 0,22	0,83 ± 0,42	0,055
Placa	39 (61,9%)	44 (69,8%)	0,063
IMC >30 kg/m² (n=22)			
GIM	0,74 ± 0,15	0,72 ± 0,11	0,685
Placa	17 (77,3 %)	17 (77,3%)	1
No fumador (n=32)			
GIM	0,74 ± 0,22	0,83 ± 0,40	0,137
Placa	16 (50%)	19 (59,4%)	0,250
Fumador (n=53)			
GIM	0,73 ± 0,21	0,78 ± 0,38	0,325
Placa	40 (75,5%)	42 (79,2%)	0,5
No Hipertension arterial (n=73)			
GIM	0,72 ± 0,19	0,79 ± 0,37	0,127
Placa	47 (64,4%)	51 (69,9%)	0,125
Hipertension arterial (n=12)			
GIM	0,85 ± 0,38	0,98 ± 0,52	0,255
Placa	9 (75%)	10 (83,3%)	1
No dislipemia (n=82)			
GIM	0,73 ± 0,21	0,81 ± 0,39	0,068
Placa	53 (64,6%)	58 (70,7%)	0,063
Dislipemia (n=3)			
GIM			
Placa	3 (100%)	3 (100%)	
No cirrosis (n=56)			
GIM	0,77 ± 0,23	0,88 ± 0,43	0,062
Placa	35 (62,5 %)	40 (71,44%)	0,063
Cirrosis (n=29)			
GIM	0,64 ± 0,08	0,63 ± 0,10	0,840
Placa	21 (72,4%)	21 (72,4 %)	1

Tabla 27. Cambios del GIM y la placa de ateroma antes y después de AAD por subgrupos.

Se detectó tendencia al empeoramiento sin ser significativo del GIM en pacientes menores de 65 años, no obesos y no dislipemicos.

No se observaron diferencias significativas de la ateromatosis subclínica tras el tratamiento antiviral entre los pacientes con o sin cirrosis.

Sin embargo, la fuerza de este análisis podría estar limitada por el pequeño número de pacientes en cada subgrupo.

No observamos diferencias al analizar las modificaciones del GIM ni la placa tras 12 meses de los antivirales según la presencia de fibrosis significativa o no antes de la terapia. Se observó un GIM de $0,81\text{mm} \pm 0,25$ antes de AAD y de $0,91\text{mm} \pm 0,45$ después de AAD en pacientes sin fibrosis significativa ($p=0,255$). En los pacientes con fibrosis significativa, tampoco hubo variaciones del GIM ($0,68\text{mm} \pm 0,17$ antes AAD vs $0,74\text{mm} \pm 0,33$ después AAD; $p=0,158$). (Figura 47)

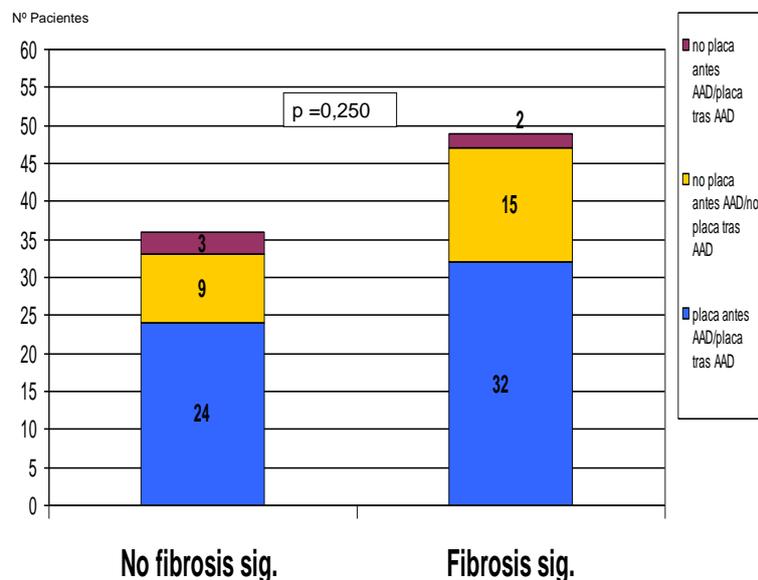


Figura 47. Cambios en las placas tras 12 meses de AAD según la fibrosis hepática

Por último analizamos la modificación del GIM y la presencia de placa de ateroma antes y después del tratamiento antiviral según el genotipo viral. Observamos una tendencia a la disminución pero no significativa del GIM en el genotipo 1 ($0,72\text{mm} \pm 0,23$ antes de AAD vs $0,79\text{mm} \pm 0,39$ después del tratamiento; $p=0,080$) y el genotipo 2 ($0,76\text{mm} \pm 0,11$ antes de AAD frente a $0,91\text{mm} \pm 0,44$ después del tratamiento; $p=0,475$). En los pacientes con genotipo 3 y 4 no se detectó ningún cambio en el GIM ya que todos los pacientes de este genotipo tenían placas de ateroma, tanto antes como después del tratamiento.

En cuanto a la presencia de placas de ateroma tras de los 12 meses después del tratamiento las placas aumentaron de 35 a 39 y en el genotipo 2 de 2 a 3, sin cambios en las del genotipo 3 y genotipo 4 ($n=8-11$) en ambos estudios ecográficos vasculares.

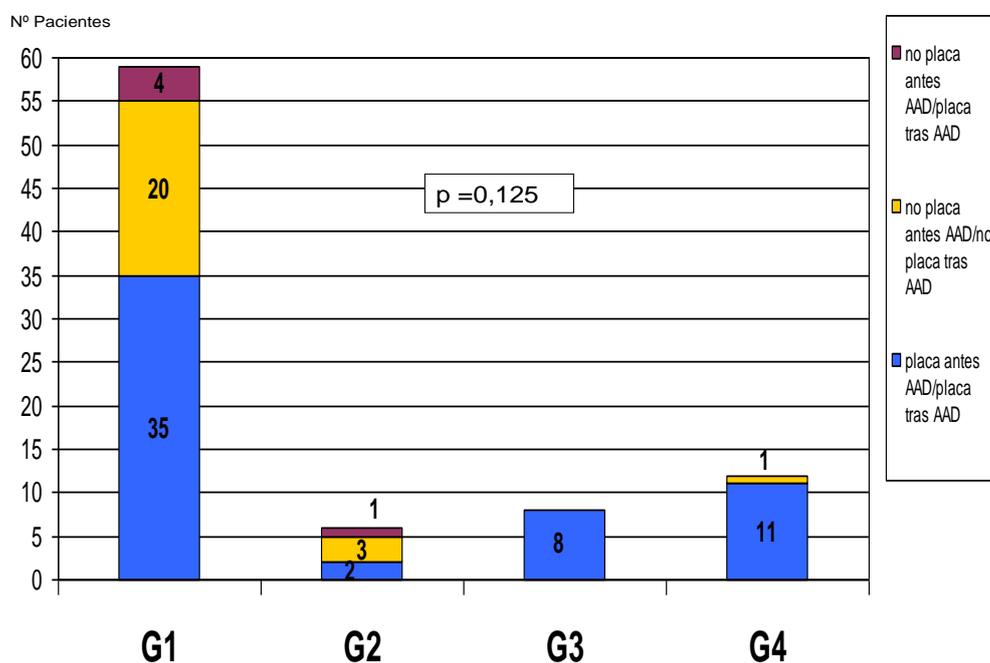


Figura 48. Cambios en las placas tras 12 meses de AAD según el genotipo viral.

DISCUSIÓN

***LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC Y SU ASOCIACIÓN CON LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA**

1. Asociación del VHC y la ateromatosis subclínica

En el presente trabajo analizamos la ateromatosis subclínica, definida como el aumento del GIM y la presencia de placas de ateroma, en los pacientes con infección crónica por VHC. Detectamos un GIM medio de $0,88 \pm 1,30$ mm y un 62,7% de placas en los pacientes infectados por este virus; además la infección por VHC se asoció de forma independiente con presencia de placa con un OR de 2,64 (IC95%= 1,68-4,14; $p < 0,001$).

Nuestros resultados concuerdan con lo publicado recientemente en dos metanálisis que describen una mayor presencia de ateromatosis en la población con VHC (entre un 38 y un 64%). Hasta el momento, se han publicado varios estudios acerca de la presencia del VHC y la ateromatosis subclínica (141-148), aunque esta asociación no está muy clara, ya que existen ideas incongruentes con factores confusionales y diferencias metodológicas entre ellos.

En el año 2014, Huang et al. (150) realizó el primer metanálisis que incluyó 10 estudios sobre ateromatosis carotídea y uno de ateromatosis femoral en pacientes con VHC. Solo 8 tenían análisis multivariante, concluyendo que la presencia de placa se asociaba al VHC con un OR de 1,76 (CI 95% 1,2-2,32) sin heterogeneidad entre ellos ($I^2 = 38\%$, $p = 0,127$).

El segundo metanálisis, un año más tarde (151), evaluó los 9 estudios con mejor metodología sobre placa de ateroma en esta población, en 7 se asociaba la medición del GIM. De estos, únicamente en 5 trabajos existieron diferencias estadísticamente significativas entre la infección por VHC y a la presencia de placas de ateroma con un OR de 2,27 (CI 95% 1,76-2,94; $p < 0,001$) sin observar heterogeneidad ($I^2 = 31\%$, $p = 0,17$). Al analizar el impacto del VHC y el aumento del GIM se observó una diferencia media de 0,09 mm (CI 95% 0,03-0,16; $p < 0,001$) pero con una mayor variabilidad entre los estudios ($I^2 = 90\%$, $p = 0,007$).

De estos trabajos, 4 analizaban cohortes europeas (italianas) con estilo de vida y dieta parecida a la española, siendo el aumento de GIM, la presencia de placas y la asociación del VHC con la ateromatosis detectada, muy similar aunque algo superior en nuestra serie.

Este metanálisis (151) también informa que el impacto del VHC sobre la presencia de placas de ateroma se ve directamente afectado por el hábito tabáquico con un OR de 2,66 (CI 95%: 1,96-3,61, $p < 0,001$) en las poblaciones con alta prevalencia de tabaquismo ($> 20\%$) con una interacción significativa ($X^2 = 6,45$; $p = 0,001$).

En nuestra muestra se observa un porcentaje elevado de hábito tabáquico (fumadores y exfumadores) 67,8%, siendo fumadores activos un 42,2%, mayor que el porcentaje estudiado en poblaciones VHC+ (138, 144) que ronda el 30%. Esta proporción más elevada de fumadores puede influir en el aumento de placas detectadas y la mayor asociación entre el VHC y la ateromatosis subclínica de nuestra serie.

El resto de factores de riesgo cardiovascular tradicionalmente conocidos, como la HTA y la obesidad, son similares a los reflejados en las cohortes italianas (HTA 30%, obesidad 20%).

La única diferencia respecto a los factores CV fue que en este trabajo se excluyeron los pacientes con DM y los tratados con antihipertensivos e hipolipemiantes, para evitar factores confusionales asociados de forma independiente con aterosclerosis, sea de forma positiva (DM) o negativa (fármacos que la pueden modificar).

La infección por VHC predispone al desarrollo de DM tipo 2 en un 30% de los casos, con más frecuencia que en la población general o pacientes con hepatitis de otra etiología (81-84), siendo la DM “*per se*” es un factor de riesgo vascular importante del desarrollo de ateromatosis.

Aun excluyendo un número importante de pacientes (pacientes infectados por VHC con DM), en nuestra muestra se observa mayor prevalencia de placas de ateroma, pudiendo deberse a la variabilidad metodológica del estudio ecográfico vascular.

Para analizar el RCV, la ecografía arterial evalúa la presencia de arteriosclerosis carotídea y femoral asintomática midiendo el aumento del GIM y la presencia de placas no estenosantes, que representan estadios precoces de daño arterial y ateromatosis (48), pero existen diferencias en la forma de medición que pueden variar los resultados entre cada trabajo.

La medición semiautomática del GIM y de la placa tiene una variabilidad intra e interobservador muy baja en comparación con la forma manual (58). En el presente estudio todas estas mediciones fueron realizadas de forma semiautomática por la

misma persona con una buena correlación (48). En los estudios nombrados anteriormente, las placas de ateroma se identificaron por ecografía vascular, pero el diagnóstico se estableció con valores diferentes de GIM (desde >1mm a > 1.5 mm). En nuestro trabajo se siguieron los criterios de Mannheim para el diagnóstico de ateromatosis, definiendo placa con un GIM > 1.5 mm, además de seguir el resto de recomendaciones para la búsqueda de placas de ateroma sugeridas por las sociedades científicas de cardiología (50-52, 57-58). Realizamos primero un barrido en el plano axial y posteriormente valoramos el plano longitudinal de cada arteria. Es importante enfatizar que el plano axial es fundamental para detectar placas excéntricas, que escaparían de la valoración en el plano longitudinal. La realización de estas mediciones ecográficas no se comentan en otros trabajos de ateromatosis subclínica en población VHC.

Recientes estudios (51,52) sugieren que el incremento del GIM entre 0,8mm y 1,5mm como indicador indirecto de ateromatosis subclínica es confuso considerándose más una expresión de envejecimiento vascular que un precursor de aterosclerosis.

Aunque en nuestra muestra hubo asociación entre este parámetro ecográfico y la infección por VHC ($p=0,045$); la correlación entre el GIM y los eventos CV es débil y cuestionable, ya que su estimación cuenta con limitaciones técnicas para lograr resultados confiables. Las últimas recomendaciones de la Association Task Force on Practice Guidelines sugieren que no sirve como marcador único de riesgo cardiovascular debiéndose asociar siempre a la medición de placas de ateroma. Varios de los estudios evaluados en los metanálisis sobre población con VHC (141,143) solo

contemplan la medición del GIM sin evaluar la presencia de placa de ateroma por lo que sus resultados pueden ser poco fiables.

Otra de las posibles razones para este porcentaje elevado de placas, podría deberse a la ampliación del estudio ecográfico a las arterias femorales, que aumenta la probabilidad de detectar ateromatosis. Se ha publicado la existencia de enfermedad ateromatosa en el territorio femoral con ausencia de placas carotídeas en población general prediciendo de forma precoz lesiones coronarias (48, 61-63). En estas publicaciones, también expone que el hábito tabáquico es un indicador potente de placas en arterias femorales, más que en arterias carotídeas, por lo que en poblaciones con prevalencia elevada de tabaquismo activo, como en pacientes con infección crónica por VHC, se debería estudiar el territorio femoral para no infradiagnosticar la ateromatosis subclínica.

Además de lo expuesto en cuanto a la medición ecográfica de la ateromatosis, las características virales y los grados de la enfermedad hepática que provoca el virus, también modifica la asociación entre el VHC y la enfermedad ateromatosa.

A diferencia de otros estudios sobre arteriosclerosis en población VHC+, nosotros analizamos diferentes genotipos virales, razón que también influye en este porcentaje y asociación más elevado de placas de ateroma de nuestra serie.

Reclutamos pacientes con los genotipos virales más frecuentes siguiendo una distribución similar a la observada en España (23,25). Predominó la presencia del genotipo 1 con un 67% de la muestra VHC+ (genotipo más estudiado en otros

trabajos), pero también pacientes con genotipo 4, (33% de los casos), y en menor frecuencia con genotipo 3 (10%) y genotipo 2 (6%).

Además, se han analizado diferentes grados de fibrosis hepática por el VHC, medida con elastografía (desde F0-1 sin fibrosis, hasta F4 o cirrosis no descompensada). En esta serie el porcentaje de pacientes con fibrosis significativa (47%) fue similar al de los pacientes sin fibrosis significativa (F0-1-2, muestra menos representada en la bibliografía).

Se registraron los casos de esteatosis hepática, una lesión histológica característica de esta infección viral que también se asocia con ateromatosis (144). La mitad de nuestros pacientes tenían esteatosis medida de forma indirecta con el índice HSI, similar al porcentaje de hígado graso por VHC descrito en la literatura.

En otros estudios publicados la enfermedad hepática causada por el virus se confirmó por biopsia hepática, nosotros no contamos con la histología para valorar la esteatosis ni la fibrosis hepática, por lo que realizamos un cálculo indirecto con el índice HSI y con elastografía. Estudios recientes confirman que este índice tiene un alta sensibilidad y especificidad (93% E92%) para el diagnóstico de esteatosis hepática, así como la gran correlación entre la rigidez hepática medida con elastografía y la fibrosis por biopsia (31,32).

Otro hallazgo muy relevante de este estudio, junto con la fuerte asociación entre el VHC y la ateromatosis, fue que la predicción del RCV por índices o tablas de riesgo en esta población, es cuestionable.

En nuestra serie el riesgo cardiovascular previo medido por el índice SCORE, era bajo en los pacientes infectados con VHC ($1,43 \pm 1,77$) pero al realizar el estudio ecográfico se observó casi un 63% de placas de ateroma.

Varios estudios poblacionales, han demostrado asociación entre la presencia de placas en arterias periféricas e incidencia de eventos cardiovasculares, incluso en sujetos sin eventos previos (1.8 veces el aumento del riesgo de EC y 4.1 veces el aumento del riesgo de ECV) (54-56, 61-63).

Una de las razones para cuestionar estos *scores*, se debe al perfil analítico de estos pacientes infectados, sobre todo a los niveles séricos de lípidos que están dentro de los parámetros normales o incluso bajos, por lo que la puntuación del SCORE es baja, pudiendo estar falseada por el efecto del VHC.

Las alteraciones metabólicas e inflamatorias ocasionadas por el virus (59) evita la presencia de dislipemia a diferencia de la población general, infradiagnosticando el riesgo cardiovascular, por lo que en este tipo de pacientes, donde predomina la inflamación crónica como causa de ateromatosis, se debe reclasificar este riesgo con ecografía vascular.

En este trabajo además de analizar la presencia de ateromatosis subclínica en una población poco estudiada, como son los pacientes con infección crónica por VHC, contabilizamos la carga de enfermedad ateromatosa midiendo el área y el número de placas en cada paciente. Estas medidas, son predictoras de vulnerabilidad de la placa pudiendo ocasionar mayor prevalencia de ECV (57,58).

Las guías de cardiología también reconocen como predictor de vulnerabilidad la composición de la placa de ateroma, habiéndose publicado que ecogenicidad de las placas carotídeas en población general, predice el riesgo de ictus independientemente del grado de estenosis que produzca la placa (70,71).

En nuestro trabajo la composición de la placa se midió por escala de grises ecográfica de forma computarizada, método mucho más objetivo que la caracterización visual y con buena correlación histológica (67,69).

Detectamos que en esta población con infección por VHC los componentes de las placas eran un 49% lípidos, un 26% fibrosis y un 24% de calcio, siendo predominantemente lipídicas, sin haberse descrito anteriormente en ningún estudio sobre la ateromatosis y virus C.

La presencia de placas lipídicas en población general se describen en la literatura (69) como placas más vulnerables y que pueden provocar mayor porcentaje de ECV.

Al categorizar las placas detectadas en los pacientes con infección por VHC según el componente que predominaba en la composición, observamos que más de la mitad de ellas (56% de las placas) eran lipídicas (porcentaje de lípidos en la placa >50%). Este elevado porcentaje de placas lipídicas podría ser la causa de un mayor registro de ECV en esta población infectada.

En vista de los resultados detectados en nuestro trabajo, tanto el aumento de prevalencia de ateromatosis subclínica como la presencia de placas predominantemente lipídicas, los pacientes con infección crónica por VHC se deberían considerar población de alto riesgo cardiovascular, pudiéndose beneficiar de

estrategias de cribado con la ecografía vascular para la prevención primaria de su enfermedad cardiovascular.

2. Comparación de la ateromatosis subclínica de los pacientes infectados con VHC frente a un grupo control (pacientes sin infección por VHC).

Este estudio observacional, analiza la presencia de enfermedad ateromatosa en sujetos con y sin infección crónica por VHC, encontrando que los pacientes infectados tienen mayor presencia de ateromatosis subclínica, y en edades más precoces que los controles.

Nuestros 185 pacientes con infección crónica por VHC se compararon con un grupo control de 411 pacientes sin infección por VHC, procedentes de la base de datos del estudio nacional (NEFRONA) con RCV bajo (SCORE <5% para ECV en 10 años). Se siguió el mismo protocolo de estudio vascular y analítico, así como los mismos criterios de exclusión en ambos grupos evitando factores confusionales que influyeran en el riesgo de ateromatosis (como se comentó en el apartado de material y métodos del estudio).

Entre los grupos estudiados (con o sin infección por VHC), no encontramos diferencias significativas en la mayoría de factores tradicionalmente conocidos de RCV como la edad, el sexo, el tabaquismo ni el IMC.

El índice de RCV que utilizamos fue el SCORE European Risk Chart, observándose una puntuación baja en ambas poblaciones ($1,43 \pm 1,77$ en VHC+ frente a $1,50 \pm 2,08$ en VHC-; $p= 0,548$).

El índice aterogénico (IA) o de Castelli, (CT/ HDLc) fue de $3,79 \pm 1,13$ en pacientes seronegativos y de $3,39 \pm 0,96$ en pacientes seropositivos, inferior a 4 que también indica bajo RCV en estudios poblacionales. Este índice basa la medición del RCV principalmente en los niveles de lípidos, siendo significativamente superior en los controles ($p < 0,0001$).

De todas las variables clínico-analíticas registradas, solo observamos diferencias en el perfil lipídico (salvo en los niveles de triglicéridos) y las cifras de tensión arterial, aunque los valores medios de estos parámetros en los dos grupos estaban dentro del rango de normalidad. Los pacientes sin infección presentaron cifras más elevadas de CT, no HDLc, LDLc y HDLc que los pacientes con infección por VHC ($p < 0,001$). Esto se debe a la íntima relación entre el ciclo vital del virus y el metabolismo lipídico, dando lugar a un descenso de los niveles de lípidos en plasma por una retención de estos en el hígado (esteatosis) (132).

No observamos diferencias en la presencia de esteatosis hepática, siendo similar en ambos grupos (48,6% en VHC+ vs 43,8% VHC-; $p = 0,097$), aunque la medición se realizó de forma indirecta con el HSI.

En la analítica también destacó un aumento de las enzimas hepáticas (AST/ALT) en los pacientes con VHC frente a los controles ($p < 0,001$), lo que indica una necroinflamación leve-moderada en el hígado por el virus (hepatitis).

Los pacientes infectados presentaban hepatitis pero sin afectación de la función hepática ya que los niveles de bilirrubina, albúmina y plaquetas estaban dentro de la normalidad, siendo un criterio de exclusión del estudio la cirrosis descompensada.

La PCR indica mayor riesgo vascular sobre todo en procesos inflamatorios que desarrollan ateromatosis. En este trabajo, la PCR fue significativamente inferior en los pacientes infectados (1,85 vs 2,71 mg/dl; $p=0,013$). Esto se debe a que es una proteína de síntesis hepática, disminuyendo cuando el hígado se afecta, sin ser un buen indicador de la inflamación real en los pacientes con VHC y hepatopatía.

La IR es una característica central y precoz de alteraciones en el metabolismo de la glucosa, fuertemente asociado con enfermedad cardiovascular en la población general (108).

En este estudio la IR se calculó con indicadores indirectos como son el coeficiente Triglicéridos/HDLc y el producto triglicéridos-glucosa, ya que no contábamos con niveles de insulina en ayunas para el cálculo del HOMA-IR por su dificultad técnica y su gran variabilidad biológica interindividual (58%) (109).

En la última década se han publicado diferentes estudios sobre la asociación de estos índices en base a lípidos detectados de forma rutinaria y fácil de medir en la práctica clínica para evaluar la IR con una correlación positiva con el HOMA-IR (111-114) la insulinorresistencia, síndrome metabólico y aterosclerosis (107).

El coeficiente TG/ HDLc, se considera indicador de IR en población general cuando su puntuación esta por encima de 2,5 en mujeres y 3,5 en hombre (114) mientras que el índice TyG es indicativo de IR con una puntuación superior a 8,8, en estudios poblacionales (112).

En nuestra muestra los pacientes con VHC tenían un TG/HDLc de $2,37 \pm 1,94$ y los pacientes control de $2,32 \pm 1,88$. Respecto al TyG fue de $8,41 \pm 0,53$ en pacientes VHC+

y $8,43 \pm 0,46$ en pacientes VHC-, sin observarse diferencias significativas, con niveles normales muy similares en ambos grupos.

Al contabilizar los factores de riesgo de síndrome metabólico premorbido (excluyendo diabetes) los pacientes controles presentaban un porcentaje significativamente superior de sujetos con HTA y dislipemia que los pacientes infectados.

Como comentamos anteriormente, está bien descrita en la literatura la alteración de los lípidos por el VHC (73), dando lugar a cifras séricas de colesterol bajas, por lo que es difícil observar dislipemia en los pacientes VHC+. Las alteraciones hemodinámicas producidas por la enfermedad hepática dificultan las cifras de tensión arterial elevadas en los pacientes con cirrosis.

Se ha publicado que los pacientes infectados presentan IR hasta en la mitad de los casos, sin necesidad de desarrollar síndrome metabólico, produciéndose esta alteración glucídica solo por la inflamación mantenida ocasionada por el VHC en el huésped (83).

Aunque los controles presentan a priori mayor número de factores de RCV (HTA y dislipemia) al realizar el estudio ecográfico se detectó más ateromatosis subclínica (placas de ateroma: 63% vs 44%, GIM: 0,83 vs 0,73 mm) y carga de enfermedad ateromatosa (área de placas: 0,88 vs 0,67mm² y número total de placas: 3,2 vs 2,7) en los pacientes infectados frente a los controles ($p < 0,05$).

Al evaluar la distribución de las placas de ateroma según la población, no observamos diferencias en el territorio vascular afecto ($p = 0,214$). En ambos grupos fue mayor la

presencia de placas sincrónicas, casi la mitad de los sujetos (con o sin infección por VHC) tenían placas en las dos zonas arteriales estudiadas (52% VHC+ vs 42% VHC-). La afectación de un único territorio vascular fue similar en arterias carótidas (28% VHC+ vs 36% VHC-) y femorales (21% vs 23%) en ambos grupos.

Este trabajo, como ya se ha comentado, amplía el estudio ecográfico al territorio femoral además del carotídeo (que suele ser el área estudiada habitualmente). Se detectó un número considerable de placas, en torno a un 22%, que si solo se evaluara un área se desconocerían.

Una reciente publicación (62) sugiere que la concordancia entre el eco-doppler carotídeo y femoral es débil, lo que implica que se identifican lesiones vasculares diferentes según el área y el tipo de población estudiada. Este análisis expone que el 40% de las placas afectan solo a las arterias carotídeas, mientras que el 27% únicamente al territorio femoral, concluyendo que ambas zonas arteriales deberían ser evaluadas para una detección más fiable de los eventos cardiovasculares. Además insiste en que el tabaquismo es un indicador potente de ateromatosis subclínica en el territorio femoral pero no en el carotídeo, influyendo en esta localización más el sexo y la edad del paciente.

Respecto a la composición de las placas de ateroma observadas en nuestro trabajo, los pacientes VHC+ presentaron un 56% de placas lipídicas, un 32% de placas mixtas y un 12% de placas calcificadas mientras que en los sujetos control un 18%, 46% y 36% respectivamente, detectando diferencias estadísticamente significativas entre estos grupos ($p < 0,001$), siendo más frecuentes las placas lipídicas en los pacientes con VHC.

En la literatura se ha descrito que la composición de las placas predice su vulnerabilidad, siendo las placas lipídicas más vulnerables y las que pueden provocar más eventos cardiovasculares (69-72).

El hallazgo de placas predominantemente lipídicas en población VHC+ frente a los controles de este estudio, podría justificar lo publicado en los metanálisis recientes (150,151) donde se observa que el VHC se asocia con un mayor número de eventos cardiovasculares.

Esta característica de las placas que detectamos, apoya también lo descrito de un efecto directo del virus sobre la ateromatosis, ya que se han descubierto partículas de ARN del VHC unidas a las LDL en los vasos arteriales afectados (78,79), que provocan una inflamación local pudiendo inestabilizar las placas.

A) Factores de riesgo asociados a ateromatosis subclínica en cada población

La mayoría de factores de riesgo asociados con ateromatosis subclínica fueron los mismos en ambos grupos (pacientes con o sin infección por VHC), y reconocidos como factores vasculares en población general: la edad avanzada, el sexo masculino, el hábito tabáquico (fumadores activos y exfumadores), la puntuación de risk SCORE y la HTA.

Sin embargo en nuestra muestra la ateromatosis en los pacientes infectados por VHC, a diferencia del grupo control, no se asoció con el IMC, la tensión arterial diastólica ni con el perfil lipídico (CT, LDLc y no HDLc); factores importantes en el desarrollo de arteriosclerosis según grandes estudios poblacionales (59,60).

Respecto al resto del perfil analítico que se asociaba con ateromatosis, tanto en los pacientes VHC+ como en los controles, se observaron diferencias significativas en el metabolismo glucídico, los niveles de HDLc y de triglicéridos.

Estos datos concuerdan con la relación descrita entre la arteriosclerosis con los niveles de triglicéridos, HDL colesterol y glucosa, sobre todo en procesos inflamatorios crónicos (107,108). Estudios recientes, sugieren que la presencia de placa de ateroma esta más influenciada por la resistencia a la insulina, determinada por estos parámetros (HDLc y TG), que por los niveles séricos de colesterol total y LDLc (113).

No obstante en ninguno de los grupos (pacientes con o sin infección por VHC) se observó asociación de la ateromatosis con los niveles de PCR. Esta proteína, esta considerada en las últimas publicaciones como un nuevo marcador de riesgo CV en población general, cuando sus niveles asciende por encima de 3mg/dl, ya que la aterosclerosis se define como un proceso inflamatorio sistémico crónico, pero como ya se comentó es infradiagnóstica en los pacientes con hepatopatía por VHC (43).

En el análisis multivariante del estudio, detectamos que tanto la edad (OR=1,08; IC95%: 1,04-1,13 en grupo VHC+ y OR=3,01 IC95%: 1,82-5,29 en grupo control) como el tabaquismo (OR=3,89; IC95%: 1,59-9,52 en grupo VHC+ y OR=1,08 IC95%: 1,06-1,12 en grupo control) fueron factores de riesgo independientes de ateromatosis en ambas poblaciones.

El sexo masculino solo influyó en la presencia de ateromatosis en los pacientes del grupo control (OR=3,03 IC95%: 1,78-5,14; $p < 0,001$) mientras que en los pacientes infectados por VHC fue el índice de IR (OR= 2,34 IC95%: 1,04-5,31; $p = 0,041$).

Al analizar más detalladamente la edad como factor vascular en los dos grupos, se observó que los pacientes infectados por VHC presentaban mayor porcentaje de placa de ateroma a edades más precoces.

Hallamos que los pacientes menores de 55 años tenían un riesgo de casi tres veces más de placa si presentaban infección crónica por VHC (56% de placas en VHC+ vs 29% en controles OR= 3,11 IC95%: 1,87-5,19; $p < 0,001$). En los mayores de 55 años hubo más porcentaje de placa de ateroma en los infectados pero sin diferencias significativas respecto a los controles (69% vs 60%; $p = 0,120$).

Estos datos sugieren que los pacientes con infección crónica por VHC desarrollan una ateromatosis acelerada o un envejecimiento precoz vascular, ya que en los sujetos jóvenes con VHC, específicamente con edad comprendida entre 45-55 años según este estudio, presentan mayor afectación en los vasos por el virus (OR =2,67; $p = 0,002$).

Estos resultados concuerdan con lo publicado en otras enfermedades inflamatorias crónicas como el lupus o la artritis reumatoide donde también se observa una mayor prevalencia de aterosclerosis, sobre todo en sujetos con menor edad que los controles (47).

Por otro lado al analizar el perfil analítico únicamente en los pacientes con placa de ateroma de ambos grupos (con o sin infección por VHC) solo los parámetros referentes al metabolismo glucídico, eran similares. Como se ha comentado aunque estos índices tiene buena correlación con IR y aterosclerosis, por el momento se desconoce el punto de corte de mayor riesgo ni las variaciones según las características de cada grupo poblacional estudiado como el sexo, la edad... (113).

En la población con ateromatosis también se observó que los niveles lípidos eran significativamente inferiores en los pacientes VHC+ que los controles, sobre todo las cifras de HDLc (49,6 vs 53,05 mg/dl).

Los hallazgos más actuales relevan que el único parámetro lipídico correlacionado con RCV son los niveles bajos de HDLc, mientras que los lípidos formados por lipoproteína B se pueden ver modificados por diferentes circunstancias, como ocurre en los pacientes infectados por la actividad del virus o la severidad de la enfermedad hepática, sin estar tan clara su asociación con la ateromatosis (134).

B) Factores de riesgo independientes de ateromatosis subclínica.

En nuestros resultados tanto el GIM como la presencia de placas de ateroma se asociaron de forma independiente con la infección crónica activa por VHC medida con anticuerpos antiVHC+ y niveles detectables de ARN del virus en los pacientes infectados.

La presencia de esta infección viral en la población representa tres veces más de riesgo de ateromatosis subclínica (OR=2,64; IC95%1,68-4,14). La asociación entre el VHC y la ateromatosis subclínica es similar a la de otros factores tradicionalmente conocidos de riesgo cardiovascular como el sexo (OR=2,79 IC95%: 1,77-4,38) y el tabaquismo (OR=3,25; IC95%:2,06-5,11), con una fuerza de asociación mayor que la edad (OR=1,08 IC95%: 1,05-1,10) y las cifras de tensión arterial (OR=1,02; IC95%: 1,01-1,03).

Hallamos también otro nuevo factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica como es el índice de IR medido con el producto TyG. La presencia de IR

medida de esta forma indirecta, se asoció con un riesgo tres veces mayor de presencia de placas de ateroma (OR=3,18; IC95%: 1,44-6,98; p= 0,004) sin asociarse con ningún otro parámetro analítico.

Recientemente se ha publicado que este índice TyG, es un buen marcador de riesgo cardiovascular, sobre todo en enfermedades con importantes alteraciones metabólicas (113), como es el caso de la infección por VHC.

El diagnóstico de IR mediante el índice HOMA-IR es variable cuando los niveles de insulina son fluctuantes, sobre todo en enfermedades hepáticas ya que el hígado es uno de los órganos principales de la homeostasis de glúcidos (110), aunque por el momento este es el primer trabajo que evalúa el índice TyG de IR en una población con VHC sin comparar con otros índices.

Discrepando con lo publicado, la presencia de placas de ateroma en nuestra población no se asoció con otros factores de riesgo cardiovascular tradicionales como el IMC o la dislipidemia.

Antiguamente se creía que los pacientes infectados por VHC no padecían enfermedades cardiovasculares, ya que presentan un patrón lipídico "*favorable*" (descenso de cifras de colesterol y LDL) no atribuible con riesgo de aterosclerosis. Tanto el VHC como la enfermedad hepática producen una alteración en la síntesis de las apolipoproteínas B. Recientes estudios (73-77) demuestra que esto es engañoso siendo la inflamación crónica que provoca el propio virus un factor de riesgo CV más importante en esta población, que otros como la dislipemia o el IMC, tal y como refleja nuestro estudio.

C) Factores de riesgo asociados con la composición de las placas de ateroma

Recientemente se ha publicado que el riesgo de ictus tromboembólico se refleja más por la composición y la morfología de la placa de ateroma que por la estenosis luminal de la arteria (70). Las imágenes ecográficas ayudan a caracterizar la composición de la placa, estratificando el riesgo de ECV en pacientes asintomáticos y valorando la terapia preventiva apropiada (68).

En este trabajo, además de evaluar la composición de las placas en esta población con VHC+ nunca antes estudiada, analizamos los factores de riesgo independiente que se asocian con composición predominantemente lipídica, más vulnerables.

La presencia de infección crónica por VHC se asociaba de forma independiente con placas lipídicas con un riesgo de casi 7 veces mayor (OR=6,77; IC95%: 3,82-11,92).

Esto confirma nuevamente la estrecha relación entre el VHC y el metabolismo lipídico y la ateromatosis. El VHC circula en sangre con las VLDL y LDL uniéndose a los receptores de las LDL de células endoteliales para penetrar en la pared arterial (77), posteriormente se produce una oxidación, dando lugar a un depósito de grasas e inflamación en las placas de ateroma con mayor inestabilidad (69).

Además del VHC, se detectó asociación del predominio de lípidos de las placas en los pacientes con menor edad (OR=0,96 IC95%:0,93-0,99; p=0,030). Como observamos en este estudio el riesgo de placas lipídicas disminuye conforme avanza la edad en todos los pacientes tanto en los controles como en los pacientes con VHC.

Tal y como era de esperar y de acuerdo con la biológica de la placa de ateroma ya que inicialmente son de composición lipídica y con el paso de los años se fibrosan y calcifican (43).

Nuestro estudio involucra la primera cohorte española de pacientes monoinfectados con VHC crónica, aunque cuenta con las limitaciones intrínsecas por su diseño transversal.

El sesgo de selección de los pacientes controles, ya que pertenecen a consultas de riesgo cardiovascular de localización nacional, se intentó minimizar limitando los criterios de selección a sujetos con riesgo bajo CV (SCORE <5% con probabilidad de ECV a los 10 años) sin antecedentes de enfermedad cardiovascular previa, tal y como se refiere en el apartado de material y métodos.

Para evitar factores confusionales en el desarrollo de la aterosclerosis, excluimos pacientes con diabetes y enfermedad renal crónica en ambos grupos de pacientes (con y sin infección por VHC). Algunas publicaciones identifican que el VHC promueve el desarrollo de diabetes e insuficiencia renal crónica, y la presencia de estas enfermedades actúan de forma sinérgica potenciando las de lesiones ateromatosas (88,89).

Sin embargo se debe considerar que en estos pacientes infectados coexisten distintos factores de riesgo CV dependientes del huésped, del virus y de la inflamación crónica ocasionada. La mayoría de estos factores actúan interrelacionados y dificultan el conocimiento real del papel directo del VHC en las placas de ateroma, aunque en este trabajo tras ajustar por factores CV, la infección por VHC se identificó como un factor independiente de ateromatosis.

En resumen, debido a estas interacciones las alteraciones analíticas y la valoración del RCV mediante el uso de *scores* o tablas no son buenos predictores, insistiendo en que la mayoría de los pacientes infectados presentan puntuaciones y/o perfil lipídico de “bajo riesgo”. Esto apoya la necesidad de pruebas cardiovasculares no invasivas, como la ecografía arterial, para mejorar la estratificación del riesgo en esta población.

Además no existen estudios similares a este que valoren la composición de la placa de ateroma en la población con infección por VHC. Se desconoce si las placas detectadas en estos pacientes con predominio de componente lipídico, suponen vulnerabilidad para presentar más ECV o una mayor facilidad de regresión con los tratamientos antivirales o se precisa de otros tratamiento estabilizadores de la placa, tal y como ocurre en población general (72).

3. Características virales que se asocian con ateromatosis subclínica.

Posteriormente evaluamos que características del VHC y de la enfermedad hepática provocada por el virus influían en la ateromatosis subclínica en nuestros 185 pacientes infectados.

No observamos asociación del aumento de GIM con ninguna característica viral (ni la carga, ni el genotipo, ni el grado de fibrosis hepática). Una limitación para alcanzar significación estadística, pudo ser el número bajo de pacientes en los que se detectó el GIM, ya que solo se evaluó en los pacientes que no presentaban placa de ateroma (n=69).

Tomamos esta decisión, por las dificultades técnicas en la medición del GIM cuando hay placas de ateroma, que como ya comentamos, no puede valorarse este grosor adecuadamente por la sombra ecográfica que produce la placa. Además las últimas guías de cardiología sugieren que el GIM no debería considerarse un biomarcador de aterosclerosis, prefiriéndose el análisis de la placa de ateroma (52).

Por esto, nos centramos en analizar los factores virales asociados con la presencia de placas de ateroma observando influencia de la fibrosis hepática ($p=0,022$), el genotipo ($p<0,001$) y el tiempo de evolución de la infección por VHC ($p=0,048$).

Esta asociación entre la ateromatosis y el tiempo de infección por VHC, no se ha documentado previamente pero concuerda con la historia natural de la enfermedad y se correlaciona con la fibrosis, a mayor progresión de infección viral más lesiones hepáticas (cirrosis) y extrahepáticas.

No se observó asociación con la carga viral ($p=0,070$), pudiendo deberse a que los niveles de ARN del virus en sangre son fluctuantes durante la evolución de la infección.

Un estudio italiano (144) sugiere que la esteatosis hepática se asocia con la presencia de placa de ateroma, pero nuestros resultados no lo confirmaron (52,2% esteatosis en pacientes VHC sin placa y 47,8% de esteatosis en VHC con placa, $p=0,953$), pudiendo ser un sesgo, si no se ajustó por otros factores confusionales. Según la bibliografía la esteatosis hepática es un cofactor importante que acelera el desarrollo de fibrosis en el hígado y su patogenía se debe tanto a factores del huésped (obesidad central, diabetes, ingesta de alcohol) como a factores virales (genotipo 3 y/o genotipo 2) (124-127).

En el análisis multivariante de nuestro trabajo, observamos que la presencia de placa de ateroma en la población infectada por VHC se asociaba de forma independiente sólo con la edad (OR=1,09 IC95%:1,05-1,14; $p<0,001$), el sexo masculino (OR=2,71 IC95%:1,19-6,17; $p=0,018$), el tabaquismo (OR=2,91 IC95%:1,15-7,39; $p=0,049$), el genotipo viral (OR=2,46 IC 95%:1,30-4,63; $p=0,005$) y el índice de IR:TyG (OR=2,37 IC95%:1,01-5,60; $p=0,050$).

Como ya se comentó al inicio de la discusión, este estudio es uno de los pocos que valora diferentes genotipos virales, ya que la mayoría de los datos publicados hacen referencia a los pacientes infectados con genotipo 1.

Aunque el número de pacientes de cada genotipo es bajo, siendo esta nuestra principal limitación, la proporción estudiada se correlaciona con la distribución de genotipos del VHC en el área española (70% pacientes infectados por genotipo 1, 16% genotipo 3, 12% genotipo 4 y 2,7% de genotipo 2), según lo referido recientemente por el GEHEP-SEIMC (*grupo de estudio de Hepatitis de la Sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica*).

Estos datos sugieren que según el genotipo que afecta a cada paciente se detecta mayor presencia de placa de ateroma independientemente del grado de fibrosis hepática ($p= 0,479$).

En esta serie se registró más prevalencia de placa en los pacientes con genotipo 3 (94,4%) seguido del genotipo 4 (78,8%), el genotipo 1 (55,3%) y por último el genotipo 2 (45,4%).

El riesgo de ateromatosis fue de más del doble (OR=2,46) según el genotipo siguiendo el orden ascendente del número de placas detectadas G2, G1, G4 y G3.

Los hallazgos concuerdan con los datos publicados que sugieren un potente efecto del genotipo 3 sobre la IR, frente al reflejado por otros genotipos. Estas alteraciones predisponen a mayor prevalencia de aterosclerosis sin asociarse con la fibrosis hepática ni con los trastornos metabólicos del huésped sino por las propias proteínas del *core* del genotipo viral (98,99).

Al evaluar la presencia de placas según la fibrosis hepática significativa (F3-4) se observó diferente distribución de las placas, siendo más frecuentes en los pacientes con genotipo 1 (69% de placas detectadas) mientras que en el resto de genotipos 4, 2 y 3 el porcentaje fue menor 46%,41% y 40%, respectivamente.

Estos resultados vuelven a confirmar la hipótesis anterior, el riesgo de placa de ateroma del genotipo 1 está más relacionado con la fibrosis hepática y con los factores metabólicos del paciente que con las alteraciones inflamatorias ocasionadas por el virus "per se", a diferencia de lo que ocurre con el genotipo 3.

En resumen, nuestros datos reflejan que la presencia de ateromatosis subclínica es genotipo dependiente potenciándose por los factores del huésped o de la enfermedad hepática según el genotipo viral.

El estudio de Petta publicado en 2012 (138) fue el primer estudio prospectivo con población control similar al nuestro, que evaluó las características virales que influían en el riesgo de aterosclerosis en la población con VHC. Este trabajo concluyó que la presencia de ateroma se relacionaba de forma independiente con la fibrosis hepática.

Al analizarlo detenidamente, ellos observaron que en los pacientes menores de 55 años la presencia de fibrosis hepática tenían mayor riesgo de desarrollar placa de ateroma (22,3% vs 52,3% $p=0,008$) mientras que en los pacientes mayores de 55 años la fibrosis no fue significativa (58% vs 51%, $p=0,51$), pudiendo influir más la edad que la fibrosis.

Aun así en este estudio italiano, solo se reclutaron pacientes con genotipo 1, que como nosotros también observamos este genotipo viral se ve influenciado por los factores de riesgo CV del huésped y por la evolución de la enfermedad hepática.

En nuestros resultados detectamos asociación de forma significativa con la fibrosis, hallándose más lesiones arterioscleróticas en los pacientes con cirrosis (39%) que en los pacientes sin fibrosis (13%; $p=0,022$). Al realizar el análisis multivariante la fibrosis no fue un factor de riesgo de ateromatosis independiente sino que parecía estar influido por otras variables como el genotipo, la IR, la edad...

En otro trabajo de ese mismo año (144), se analizaron los factores virales que influyen en la presencia de ateromatosis concluyendo que se deben al desorden metabólico y a la IR ocasionadas por el VHC, similar a nuestros hallazgos, aunque ellos no evaluaron el genotipo viral.

A) Distribución del perfil lipídico y glucídico en los pacientes con VHC según el genotipo y la fibrosis hepática

Varios estudios concuerdan en que las alteraciones metabólicas ocasionadas en la infección crónica por VHC son genotipo dependiente como la IR (98-100) o la

modificación de los lípidos ya que difieren según el genotipo viral, sobre todo el genotipo 3 que aumenta la síntesis de los triglicéridos en el hígado (124-127).

En nuestro análisis no hallamos diferencias significativas en la distribución de los índices de IR (TG/HDL ni TyG) según el genotipo viral, aunque podría deberse a que el tamaño muestral de cada genotipo fue pequeño, precisándose de más estudios prospectivos con mayor número de pacientes en esta línea para confirmar los resultados.

Respecto a los lípidos, se observó solo diferencias en los niveles de HDLc ($p=0,032$) siendo menores los del genotipo 3 que los del genotipo 1 (42,8 vs 53,13 mg/dl; $p=0,021$), que según las últimas recomendaciones de las guías cardiológicas, es el principal factor sérico que predispone a mayor riesgo CV (52).

Al evaluar las alteraciones analíticas según la severidad de enfermedad hepática se observó que los valores de glucemia e IR avanzaban conforme progresa la fibrosis sin ser significativo, mientras que los niveles de lípidos disminuían, siendo significativas estas diferencias únicamente en los niveles de CT, LDLc y No HDLc ($p<0,001$).

La lipoproteína que constituye estos lípidos (apolipoproteína B) se sintetiza en el hígado, por lo que en pacientes con estadios de fibrosis avanzada es de esperar que los niveles sean inferiores (131). En cambio la inflamación crónica se va intensificando, no solo por el VHC sino por la progresión de la fibrosis hepática, produciendo un incremento de las citoquinas proinflamatorias y de la IR (92).

El hallazgo por otros estudios de que la fibrosis hepática significativa (F3-4) es un factor de riesgo de ateromatosis (138,144) puede ser secundario a la interacción de estas

alteraciones metabólicas provocadas en estadios de hepatopatía avanzada (Fibrosis-IR-esteatosis) más que por la enfermedad hepática en sí misma.

B) Distribución del perfil lipídico y glucídico en pacientes VHC y placas de ateroma

Para evaluar si estos cambios en el perfil lipídico y glucídico se asociaban directamente con aterosclerosis, analizamos únicamente los pacientes infectados con VHC que presentaban placas de ateroma según el genotipo y la fibrosis hepática.

En cuanto al genotipo solo analizamos el genotipo 1, ya que el resto de genotipos no permitían el análisis estadístico por un número bajo de pacientes con placa (G2 n=3, G3 n=7, G4 n=13).

En los pacientes con placa de ateroma con VHC genotipo 1 (n=73) se observaron cifras de TG/HDL y TyG significativamente superiores que en los pacientes que no presentaban placas (2,6 y 8,47 vs 1,73 y 8,23; $p<0,001$, $p=0,050$), así como el IA (3,52 vs 3,14; $p=0,020$).

Aunque encontramos diferencias significativas en los índices de IR, se desconocen los valores considerados patológicos en esta población, ya que no hay estudios publicados al respecto. Teniendo en cuenta que el VHC disminuye las cifras de colesterol y triglicéridos en sangre, sería preciso bajar el punto de corte predictivo de estos indicadores indirectos basados en la medición de lípidos para este tipo de pacientes, evitando subestimar el riesgo CV.

Al analizar el perfil analítico según la severidad de la enfermedad hepática, detectamos también diferencias estadísticamente significativas entre los indicadores de IR en

pacientes con placa de ateroma tanto si presentan fibrosis avanzada como si no. Los pacientes con placa de ateroma tenían niveles de TG/HDL de 2,7 y de TyG de 8,5 mientras que sin placa era 1,7 y 8,2 respectivamente, similares en los pacientes con o sin daño hepático ($p < 0,05$).

Nuevamente este resultado demuestra que las alteraciones metabólicas que desarrollan IR se asocian con la presencia de placa de ateroma más que con la propia fibrosis hepática.

Además los indicadores de IR, tanto el coeficiente TG/HDL como el producto TyG evaluados en este estudio, podrían ser buenos marcadores de aterogénesis en la población infectada por VHC, ya que no se modifican con la progresión de la enfermedad hepática ni con las características virales.

En resumen el VHC causa resistencia a la insulina de forma intrahepática (progresión de la fibrosis hepática) y extrahepática (aumento de citoquinas proinflamatorias) sin obesidad, hipertensión, ni otros componentes del síndrome metabólico asociados. Esta alteración se produce por las propias proteínas de core, que a su vez, provoca una progresión de la enfermedad hepática.

C) Características del estudio vascular ecográfico según los factores virales

Por último evaluamos los hallazgos del estudio vascular ecográfico según las características virales, sin encontrar diferencias significativas entre el genotipo viral y la distribución de la placa de ateroma ($p = 0,162$).

Observamos una mayor tendencia de placas femorales en el genotipo 3 (35%) y de placas carotídeas en el genotipo 2 (60%), pero todos los genotipos virales tenían mayor porcentaje de placas en ambos territorios vasculares carótideo y femoral, en torno a un 50%.

No encontramos diferencias entre el genotipo viral y la composición de las placas de ateroma, siendo todas las placas estudiadas similares en torno a un 50% de lípidos ($p=0,166$), un 25% de fibrosis ($p=0,563$) y un 25% calcio ($p=0,140$) independiente del genotipo.

Tampoco se hallaron diferencias en cuanto en composición de las placas con el grado de fibrosis hepática, pero si en la localización vascular siendo significativamente más frecuentes las placas en ambos territorios vasculares (femoral y carótideo) en los pacientes con mayor grado de fibrosis (37,5 en pacientes F0-1-2 a 61,8% en pacientes con F3-4, $p=0,018$).

Los datos reflejan que las placas en los pacientes con infección crónica por VHC son predominantemente lipídicas y que afectan a ambos territorios vasculares con independencia del genotipo viral y la progresión de la enfermedad hepática, aunque son más frecuentes conforme avanza la fibrosis.

Esto concuerda con lo reportado en los metanálisis, que confirman un aumento de eventos cardiovasculares tanto enfermedad cerebral (evento más frecuente si existen placas localizadas en área carotídea) (152-156) como coronaria (cuando las placas se localizan en territorio femoral) (159-165) en los pacientes infectados con VHC.

En resumen es difícil conocer que características virales influyen en la ateromatosis subclínica ya que la mayoría de ellas se correlacionan entre sí.

En el estudio de Moucari (85) la IR se asocia de forma independiente con una mayor edad (>40 años), con síndrome metabólico, con el genotipo 1 y 4, con la fibrosis significativa y con la esteatosis hepática severa.

Estos factores potencian un estrés oxidativo generando acumulo de ácidos grasos en los hepatocitos, lo que aumenta la síntesis de citoquinas proinflamatorias y la estimulación de las células estrelladas produciendo fibrosis sobre el hígado. A su vez, la esteatosis hepática se debe a alteraciones metabólicas que aumentan los triglicéridos y la IR, tanto por el propio genotipo viral (más frecuente en genotipo 3) como por las características del huésped (IMC, TA...) dando lugar a la progresión de la enfermedad hepática.

La asociación en el tiempo de todos estos factores que actúan de forma sinérgica potenciándose entre sí (virales, enfermedad hepática y del huésped), es una limitación a la hora de conocer que características son factores de riesgo independientes en la ateromatosis. Además el tipo de estudio realizado no es el deseado para ello, ya que los estudios transversales tienen dificultad para evaluar los cambios según la progresión de la enfermedad viral.

Por último comentar que la primera fase de este trabajo se llevo a cabo al inicio del tratamiento del VHC con antivirales de acción directa en España (2015).

El uso de estos nuevos tratamientos antivirales eficaces (RVS 95-99%) y seguros, se priorizó según la severidad de la infección por los costes.

Principalmente se indicaron en casos de fibrosis hepática significativa ($\geq F2$) y enfermedad extrahepática severa, sin valorarse otras enfermedades como la ateromatosis subclínica que a futuro puede ocasionar enfermedades cardiovasculares que representan una elevada morbi-mortalidad en estos pacientes.

Tal y como se demuestra en este estudio el genotipo 3 produce más alteraciones metabólicas y riesgo de ECV sin correlación con la progresión de la fibrosis hepática, por lo que pensamos que el tratamiento antirival se debería considerar en todos los pacientes.

A día de hoy se ha extendido el uso de estos fármacos a todos los pacientes con VHC independientemente de la lesión hepática pudiendo beneficiarse de la curación del virus, aunque se desconoce la posible repercusión de los AAD en el desarrollo futuro de eventos cardiovasculares.

*** MODIFICACIÓN DE LA ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA TRAS EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC CON ANTIVIRALES DE ACCIÓN DIRECTA (AAD).**

En esta segunda fase del estudio evaluamos la modificación de la ateromatosis subclínica tras la curación del virus.

No detectamos modificación del GIM ni de la presencia de placas de ateroma en ningún territorio vascular estudiado, ni carotídeo ni femoral, tras 12 meses del tratamiento con AAD en pacientes con infección crónica por el VHC.

Observamos una leve tendencia al empeoramiento del GIM de 0,07mm (0,74mm antes de AAD vs 0,81mm después de AAD; $p=0,068$) y un aumento del 6% en la presencia de placas de ateroma (65,9% vs 71,8%; $p=0,063$), pero sin ser significativo en ninguno de los dos casos.

Estas diferencias no se hallaron de forma global, ni al dividir a los pacientes por subgrupos según los factores de riesgo cardiovascular (edad, IMC, tabaquismo, HTA o dislipemia).

Tampoco hubo modificaciones según la severidad de la enfermedad hepática. Se observó un aumento del GIM (0,77mm vs 0,88mm; $p=0,062$) y un aumento de las placas (62,5% vs 71,4%; $p=0,063$) en los pacientes no cirróticos (F1-2-3), mientras que en los pacientes cirróticos una leve disminución del GIM (de 0,01 mm) sin cambios en las placas de ateroma (72,4% de placa de ateroma antes y después de la terapia), sin ser significativo ninguno de estos hallazgos.

Respecto a las características virales tampoco tuvimos diferencias significativas en la ateromatosis subclínica tras el tratamiento con AAD. En los genotipos 1 y 2 se detectó un aumento de placa (G1 de 59% a 66% y G2 de 33 a 50%) sin hallarse cambios en genotipo 4 (91,7% de placas antes y después de AAD) ni el genotipo 3, ya que todos estos pacientes tenían placas tras el seguimiento ($p=0,125$).

Uno de los problemas de este análisis fue que el GIM solo se midió en los pacientes que no presentaban placa de ateroma, contando con una muestra muy reducida, dadas las limitaciones técnicas referidas anteriormente (58). Antes del tratamiento con

AAD se evaluó el GIM en 29 pacientes y después de la terapia en 24 pacientes, por lo que podría no alcanzarse significación estadística.

Lo mismo ocurrió al dividir los pacientes por subgrupos según los factores de riesgo CV, el número de pacientes fue muy pequeño en cada grupo para poder obtener conclusiones.

Además las últimas recomendaciones para medir el riesgo CV por ecografía, informan de que el GIM no debería considerarse un biomarcador para la medición directa del grado de evolución de la aterosclerosis. Este parámetro presenta mucha variabilidad y hay condiciones fisiológicas que lo modifican (como el sexo y la edad) y pueden analizarse como cambios patológicos en el GIM prefiriéndose el análisis de la placa de ateroma (57,58).

Otro problema, junto con la limitación metodológica del GIM, fue que el estudio de seguimiento contó con un número reducido de pacientes (n= 85) pudiendo perderse potencia estadística en el análisis, ya que sólo un 45 % de la muestra inicial del estudio (n= 185) completó el protocolo a los 12 meses tras la curación del VHC.

Las pérdidas durante el seguimiento se debieron principalmente a que los pacientes no acudieron a realizarse el control ecográfico tras 12 meses de la terapia por las limitaciones geográficas de nuestra provincia. Muchos pacientes de áreas periféricas se dieron de alta de las consultas de hepatología tras confirmar la erradicación del virus, realizándose el seguimiento en sus centros de referencia, sin querer acudir de nuevo por la distancia al hospital.

Aunque hubo pérdidas, se mantuvieron similares las características básicas de los pacientes al inicio y los que completaron el estudio en cuanto a sexo, edad, factores de riesgo CV, genotipo viral y la gravedad de la enfermedad hepática. Solo detectamos un menor porcentaje de pacientes fumadores (30,6% final vs 42,2% inicial).

La mitad de los pacientes se trataron con Sofosbuvir-ledipasvir que es un antiviral muy potente produciendo RVR a las 4 semanas. Un 8% no tuvieron respuesta a inhibidores de las proteasas de primera generación (Telaprevir/ boceprevir/ simeprevir) tratándose nuevamente con IPs de segunda generación. Tras los tratamientos recibidos, en todos ellos se consiguió RVS y se confirmó la curación del virus tras 12 semanas.

Nuestros resultados donde no se observa modificación significativa de la ateromatosis subclínica tras la terapia antiviral, contrastan con los estudios publicados en los que el aclaramiento virológico, ya sea espontáneo o en su mayoría obtenido con regimenes de tratamiento basados en Interferón, pueden mejorar los resultados cardiovasculares (170,171).

El problema es que estos estudios presentan mucha heterogenicidad sin quedar claro si el efecto positivo observado se debe a la eliminación del virus, o fue impulsado por el Interferón o por un sesgo de selección, ya que se realizaron en poblaciones muy seleccionadas por las contraindicaciones para recibir la terapia.

Los estudios publicados sobre la modificación de la ateromatosis subclínica tras la erradicación del VHC tanto con terapias basadas con Interferón como con AAD evalúan sobre todo ECV donde se observa una disminución de estos con ambas terapias.

Recientemente se han realizado 2 estudios de cohortes amplias, uno americano (172) y otro francés (173,174) que confirman la disminución de ECV tras la curación del VHC.

El estudio ERCHIVES evaluó 4436 pacientes tratados con Interferón y ribavirina observándose un 23,5% ECV y 12667 tratados con AAD con una tasa de 16,3% mientras que en los pacientes VHC sin tratamiento la tasa de ECV fue de 30,4% x1000 personas /año. El estudio francés observó una disminución de eventos con un HR= 0,86 (CI95% 0,74-0,99; p<0,001).

Por el momento solo se han publicado dos estudios que analizan la ateromatosis subclínica con ecografía vascular tras el tratamiento con AAD, uno japonés (184) que mide el GIM y otro italiano (183) que evalúa el GIM y la presencia de placa de ateroma.

En este estudio italiano de Petta no se observa modificación de las placas de ateroma de forma significativa solo mejoría del GIM. Se evalúan 182 pacientes procedentes de 4 centros italianos, sin indicar la posible variabilidad interobservador en las mediciones de estos parámetros por ecografía vascular según cada centro.

En este trabajo también evalúan la modificación del GIM y de la placa según factores de RCV. Observaron diferencias significativas en el GIM pero no en la placa de ateroma por todos los subgrupos salvo en los pacientes con IMC elevado.

En su muestra la población con obesidad (IMC>25 Kg/m²) fue del 14% mientras que en nuestra serie se observó un 26% de pacientes con obesidad, definiéndolos con un IMC>30 Kg/m².

Este mayor porcentaje de pacientes obesos podría ser una causa para no observar diferencias en la modificación del GIM en nuestro trabajo. La obesidad en los pacientes

curados del VHC podría ser un factor que favorece la persistencia de la ateromatosis, por lo que se debería incidir en la realización de dieta y ejercicio en estos pacientes tras el tratamiento antiviral.

En el estudio japonés solo se analiza el GIM y no la presencia de placa de ateroma de forma ecográfica. Cuenta con una muestra muy pequeña (n= 48) pero se observó un aumento significativo del GIM en los pacientes infectados tras el tratamiento con AAD.

Este grupo también detectó un incremento de los niveles de colesterol y LDLc sin variaciones en los niveles de triglicéridos ni la IR medida con el índice de HOMA, similar a los resultados de nuestro trabajo.

Como ya se indicó, insistir en que los consensos de cardiología no recomiendan el uso del GIM como predictor RCV de forma individual y menos sus cambios tras el tratamiento ya que tiene mucha variabilidad, pudiéndose afectar tanto por alteraciones fisiológicas como patológicas (57,58).

En el presente trabajo, detectamos que la erradicación del virus produce un aumento significativo de los niveles séricos de colesterol total, LDLc y No HDLc tras los 12 meses del tratamiento antiviral.

Estos datos apoyan lo publicado en pacientes con VHC tratados tanto con Interferón como con AAD, y explica además, la capacidad que tiene el virus de interferir en el metabolismo lipídico. Ya se ha explicado, que el virus viaja unido en sangre a las VLDL y LDL siendo depositado en las células endoteliales por los receptores LDL, tras la curación del virus estos lípidos se liberan nuevamente a la sangre (182).

Algunos estudios sugieren un incremento mayor de los niveles de colesterol tras la terapia con sofosbuvir, superior a tratamientos con Interferón u otros AAD (182), existiendo dudas de si es debido a la actuación sobre el metabolismo lipídico del fármaco o si la eliminación rápida del virus. Además este hallazgo, es constante en todos los estudios publicados desde el inicio del tratamiento hasta tiempo después de la curación del VHC, sin conocerse su efecto a largo plazo.

Hasta la fecha, se desconoce si estos cambios en los lípidos plasmáticos pueden interferir en el RCV de estos pacientes aunque se erradique el virus.

El aumento del colesterol, LDLc y No HDLc se ha descrito recientemente como partículas más aterogénicas lo que implica un mayor RCV en población general (134).

En nuestro trabajo no hubo diferencias significativas ni en los valores de glucemia ni del índice de IR medido por el coeficiente TG/HDL ni con el producto TyG, ya que no detectamos cambios en los niveles de triglicéridos ni HDLc tras el periodo de seguimiento.

Aunque hay estudios donde se observa una mejoría de los niveles de IR tras el tratamiento antiviral sobre todo en pacientes con DM (176,177), no se comentan si estas modificaciones son debidas a la eliminación del propio virus o a cambios en los factores CV del huésped (IMC, HTA).

La realización de dieta baja en grasas saturadas, disminución del IMC y ejercicio mejoraría estos niveles analíticos sobretodo los triglicéridos y HDLc siendo considerados factores de riesgo cardiovascular controlando la progresión de la placa

de ateroma, aunque no hay estudios al respecto sobre todo en población tras la curación del VHC.

Observamos una mejoría significativa de los niveles de transaminasas, de la esteatosis hepática calculada de forma indirecta por el Hepatic Steatosis Index y de la fibrosis hepática medida por elastografía hepática.

Estos datos, confirman lo sugerido en diferentes estudios que la erradicación del virus no sólo supone la curación de la hepatitis crónica, sino que además mejora la enfermedad hepática a corto medio plazo (174).

Nuestros datos, cuantifican la placa en el territorio carotídeo y femoral tras un año de la curación del VHC con AAD, no habiéndose realizado previamente en ningún estudio. Aunque no se detectaron diferencias significativas en la distribución territorial de las placas después del seguimiento, se observó una leve tendencia a la progresión de las placas en ambas áreas vasculares (de un 55.4% antes de tratamiento a un 57.4% tras el tratamiento, $p>0.05$).

Nuestro trabajo evalúa la única cohorte española de pacientes monoinfectados con VHC tras 12 semanas de erradicación del virus con AAD, aunque cuenta con algunas limitaciones intrínsecas.

Una de ellas, junto con el tamaño muestral pequeño, es que presenta un sesgo de selección, ya que se excluyeron pacientes con diabetes mellitus en el momento del estudio para evitar factores confusionales que predispusieran al desarrollo de placas de ateroma.

Los estudios publicados sobre todo en pacientes VHC tratados con Interferón, demuestran un mayor efecto del control del metabolismo glucémico en los pacientes diabéticos tras la curación del virus (176,177), que nosotros no hemos podido valorar.

Otro problema, es que la modificación de la placa de ateroma tras 12 meses de la terapia, podría ser poco tiempo para observar cambios sobre lesiones ya instauradas en los vasos arteriales, por lo que deberían hacerse más estudios prospectivos a largo plazo para confirmar o desmentir estos resultados.

Por último otra desventaja es que este estudio no cuenta con un grupo control (pacientes infectados con VHC sin tratamiento) para valorar el efecto independiente de la eliminación del virus sobre las placas.

Tampoco tenemos datos de la progresión de la ateromatosis subclínica en sujetos sanos para comparar con nuestros resultados de pacientes tras la curación del VHC para valorar los cambios asociados al tiempo. La progresión de las placas de ateroma es inherente al paso del tiempo, siendo un factor de riesgo que no se puede controlar y que se debería cuantificar, así como la influencia tras el control de otros factores de RCV.

Como fortaleza de este trabajo decir que se analiza la composición de las placas de ateroma medidas por escala de grises ecográfica, que nunca se ha estudiado en estos pacientes ni antes ni después del tratamiento antiviral.

Identificamos que los pacientes infectados presentan placas con mayor porcentaje de componente lipídico (50%) que fibroso (25%) y calcificado (25%).

Aunque no se observaron diferencias significativas en la composición de las placas tras 12 meses de la erradicación del VHC con AAD se detectó una tendencia de las placas de ateroma a disminuir el porcentaje de lípidos (50% antes del tratamiento frente a 47% después del tratamiento) y un aumento el porcentaje de fibrosis (del 25% a 26%) así como de calcio (25% vs 27%), sin ser estadísticamente significativo.

Los estudios poblacionales como se ha comentado con anterioridad, sugieren que las placas con menor porcentaje de lípidos son más estables provocando menos eventos cardiovasculares (69).

Los trabajos publicados con series amplias de pacientes VHC tratados con INF o AAD (172,173), demuestran una menor mortalidad y eventos cardiovasculares, lo cual podría deberse a la modificación de la composición de las placas, más organizadas y siendo menos vulnerables, más que por su desaparición, aunque por el momento esto no se ha analizado en ninguna publicación.

En conclusión, contamos con pocos datos sobre el efecto que pueden tener los nuevos tratamientos antivirales sobre la presencia y la composición de la placa de ateroma. Según nuestros resultados este efecto parece ser muy leve, ya que tras 12 meses de la erradicación del VHC con AAD, no detectamos modificación, si bien el tiempo de seguimiento podría ser limitado para sacar conclusiones a más largo plazo.

Por el momento nuestros datos apoyan la necesidad de un seguimiento multidisciplinar y el uso de pruebas no invasivas como la ecográfica vascular para estratificar a los pacientes que presentan mayor riesgo de ateromatosis subclínica, aun tras la curación del VHC.

La prevención de los factores modificables como los niveles de colesterol, tabaquismo y tensión arterial, podrían mejorar la ateromatosis subclínica hasta que se tenga mayor conocimiento sobre la regresión de las placas o se evalué el uso de tratamientos específicos (hipolipemiantes o antiagregantes) en estos pacientes.

En el momento actual con los nuevos tratamientos antivirales, se obtiene una curación de más del 90% de los pacientes infectados, y una mejoría de la función hepática, incluso con regresión de la fibrosis hepática en los casos más precoces. Es necesario conocer si, tras la curación, el riesgo cardiovascular de estos pacientes se iguala al de sus homólogos sin infección, o por el contrario persiste cierto grado de riesgo residual, por lo que sería necesario realizar más estudios prospectivos que evalúen este riesgo CV tras la erradicación del virus.

CONCLUSIONES

- La infección crónica por VHC es un factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica, definida como aumento del GIM y presencia de placas de ateroma en territorio carotídeo y femoral.
- Los pacientes con infección crónica por VHC analizados en nuestro estudio presentan una elevada prevalencia de ateromatosis subclínica en comparación con una población control con similar riesgo cardiovascular medido por SCORE.
- Los pacientes con VHC presentan menos factores de riesgo cardiovascular (HTA y dislipemia) que los sujetos control, aunque tienen mayor carga ateromatosa (área y número de placas) y una composición ecográfica de la placa más lipídica, pudiendo ser más vulnerables.
- El tabaquismo y la edad son factores de riesgos comunes en la presencia de placa de ateroma en ambas poblaciones mientras que en los pacientes con VHC influye el índice de insulinoresistencia (TG/HDL) y en los sujetos control el sexo masculino.
- Los pacientes con infección crónica por VHC presentan ateromatosis precoz o acelerada, es decir presentan mayor probabilidad de placas a edades más tempranas que la población control.

- Los factores de riesgo independientes en la presencia de placa de ateroma son la edad avanzada, el sexo masculino, la presencia de infección crónica por VHC, el hábito tabáquico y el índice de insulinoresistencia (TyG).
- La composición lipídica de las placas de ateroma se asocia a la edad, sobre todo entre 45- 55 años y la presencia de infección crónica por VHC.
- Las características virales que influyen como factores independientes en la presencia de placas de los pacientes infectados por VHC son la edad, el sexo masculino, el genotipo viral (orden ascendente de riesgo G2, G1, G4 y G3) y el índice de IR (TyG), sin asociarse con la carga viral ni la fibrosis hepática.
- Tras 12 meses de la RVS con AAD no hubo modificación de la ateromatosis subclínica (ni del GIM ni de la presencia de placa de ateroma). Observamos una tendencia al aumento no significativo (del GIM de 0,07mm y de las placas en un 6%). Estos resultados se confirmaron por factores de riesgo cardiovascular, severidad de la enfermedad hepática y genotipo viral.
- Al año de seguimiento tras la erradicación del VHC con AAD observamos mejoría significativa en los niveles de transaminasas, esteatosis y rigidez hepática. Se detectó un aumento de los niveles de colesterol, LDL colesterol y

no HDL colesterol así como del índice aterogénico en plasma, sin observarse cambios en el IMC ni la TA ni otros parámetros analíticos.

- Respecto a la composición de las placas de ateroma tras 12 meses del tratamiento con AAD detectamos una tendencia no significativa a la disminución del porcentaje lipídico con un aumento de la fibrosis y calcio, lo que podría estabilizar las placas de ateroma tras la terapia, aunque se precisa de más tiempo de seguimiento para valorar estos cambios.

◇ CONCLUSIÓN FINAL:

Ante estos resultados, sería conveniente valorar el riesgo cardiovascular en los pacientes infectados con VHC por métodos no invasivos como la ecografía vascular, tanto en territorio carotídeo como femoral, ya que los índices pronósticos son infradiagnósticos en esta población.

Por el momento, dado el corto periodo de seguimiento tras el tratamiento con AAD, se debería controlar el riesgo cardiovascular, aun tras la curación del virus, e insistir en recomendaciones higiénico- dietéticas que mejoren el perfil metabólico, ya que se desconoce el efecto de otros fármacos (antiagregantes o estatinas) en el tratamiento de la ateromatosis subclínica de estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] World Health Organization. Hepatitis C n.d. <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/communicable-diseases/hepatitis> (accessed 2018).
- [2] Mitchell AE, Colvin HM, Palmer Beasley R. Institute of Medicine recommendations for the prevention and control of hepatitis B and C. *Hepatology*. 2010; 51(3): 729-733.
- [3] Zampino R, Marrone A, Restivo L, Guerrera B, Sellitto A, Rinaldi L, et al. Chronic HCV infection and inflammation: Clinical impact on hepatic and extra-hepatic manifestations. *World J Hepatol*. 2013; 5: 528–40.
- [4] Huang H, Kang R, Zhao Z. Is hepatitis C associated with atherosclerotic burden? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014; 9:e106376.
- [5] Petta S, Maida M, Macaluso FS, Barbara M, Licata A, Craxì A, et al. Hepatitis C Virus Infection Is Associated with Increased Cardiovascular Mortality: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Gastroenterology*. 2016; 150: 145–155.e4.
- [6] Adinolfi LE, Restivo L, Guerrera B, Sellitto A, Ciervo A, Iuliano N, et al. Chronic HCV infection is a risk factor of ischemic stroke. *Atherosclerosis*. 2013; 231:22–6.
- [7] Petta S, Macaluso FS, Craxì A. Cardiovascular diseases and HCV infection: a simple association or more? *Gut*. 2014; 63: 369–75.
- [8] Wong RJ, Kanwal F, Younossi ZM, Ahmed A. Hepatitis C Virus Infection and Coronary Artery Disease Risk: A Systematic Review of the Literature. *Dig Dis Sci*. 2014; 59: 1586–93.
- [9] Mostafa A, Mohamed MK, Saeed M, Hasan A, Fontanet A, Godsland I, et al. Hepatitis C infection and clearance: impact on atherosclerosis and cardiometabolic risk factors. *Gut*. 2010; 59: 1135–40.
- [10] Bilora F, Campagnolo E, Rinaldi R, Rossato A, Arzenton M, Petrobelli F. Carotid and femoral atherosclerosis in chronic hepatitis C: a 5-year follow-up. *Angiology*. 2008; 59: 717–20.

- [11] Voulgaris T, Sevastianos VA. Atherosclerosis as Extrahepatic Manifestation of Chronic Infection with Hepatitis C Virus. *Hepat Res Treat*. 2016; 2016: 7629318.
- [12] Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimon L. Coronary atherosclerosis: a multifactorial disease. *Circulation*. 2008; 59: 717–20.
- [13] Finn AV, Kolodgie FD, Virmani R. Correlation between carotid intimal/medial thickness and atherosclerosis. A point of view from pathology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010; 30: 177-181
- [14] Naqvi TZ, Lee MS. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014; 7(10): 1025-38.
- [15] Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cifková R, Cosentino F, et al. The role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation: Endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society. *Atherosclerosis*. 2015; 241(2): 507-532.
- [16] Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989; 244(4902): 359-362.
- [17] Joyce MA, Tyrrell DL. The cell biology of hepatitis C virus. *Microbes Infect*. 2010; 12(4): 263-271.
- [18] Ashfaq UA, Javed T, Rehman S, Nawaz Z, Riazuddin S. An overview of HCV molecular biology, replication and immune responses. *Virol J*. 2011; 8: 161-422X-8-161.
- [19] Moradpour D, Penin F and Rice C.M. Replication of hepatitis C virus. *Nature Reviews Microbiology*. 2007; 5: 453–463.
- [20] Targett-Adams P, Boulant S, Douglas MW, McLauchlan J. Lipid metabolism and HCV infection. *Viruses*. 2010; 2(5): 1195-1217. 142

- [21] Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, et al. Classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014; 59:318-27.
- [22] Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2013; 10: 553–562.
- [23] Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Plan Estratégico Para el Abordaje de la Hepatitis C en el Sistema Nacional de Salud. España 2015. 2015; Available at: http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/docs/plan_estrategico_hepatitis_C.pdf. Accessed 12/03, 2015.
- [24] Davis GL, Alter MJ, El-Serag H, Poynard T, Jennings LW. Aging of hepatitis C virus (HCV)-infected persons in the United States: a multiple cohort model of HCV prevalence and disease progression. *Gastroenterology*. 2010; 138(2): 513-21, 521.e1-6.
- [25] Bruguera M, Forns X. Hepatitis C en España. *Med Clin (Barc)*. 2006;127:113–7.
- [26] Alter MJ. HCV routes of transmission: what goes around comes around. *Semin Liver Dis*. 2011; 31(4): 340-346. 144.
- [27] Santantonio T, Wiegand J, Gerlach JT. Acute hepatitis C: current status and remaining challenges. *J Hepatol* 2008; 49(4): 625-633.
- [28] Seeff LB. The history of the "natural history" of hepatitis C (1968-2009). *Liver Int*. 2009; 29 Suppl 1: 89-99.
- [29] Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, Cohen P, Louri I, Loustaud-Ratti V, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. The GERMIVIC. Groupe d'Etude et de Recherche en Medecine Interne et Maladies Infectieuses sur le Virus de l'Hepatite C. *Medicine (Baltimore)*. 2000; 79(1): 47-56.

- [30] AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. *Hepatology*. 2015; 62(3): 932-954.
- [31] Castera L, Bedossa P. How to assess liver fibrosis in chronic hepatitis C: serum markers or transient elastography vs. liver biopsy? *Liver Int*. 2011; 31 Suppl 1: 13-17.
- [32] Sebastiani G, Halfon P, Castera L, Mangia A, Di Marco V, Pirisi M, et al. Comparison of three algorithms of non-invasive markers of fibrosis in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; 35(1): 92-104.
- [33] Asociación Española para el Estudio del Hígado (AEEH). Guía AEEH de tratamiento de la infección por virus de la Hepatitis C 2018. Disponible en: <http://aeeh.es/wp-content/uploads/2018/07/GUIA-DE-TRATAMIENTO-VHC-2018.pdf>. Accessed 03/07, 2018.
- [34] Reichard O, Norkrans G, Fryden A, Braconier JH, Sonnerborg A, Weiland O. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alpha-2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. The Swedish Study Group. *Lancet*. 1998; 351(9096): 83-87.
- [35] Marcellin P, Cheinquer H, Curescu M, Dusheiko GM, Ferenci P, Horban A, et al. High sustained virologic response rates in rapid virologic response patients in the large real-world PROPHECY cohort confirm results from randomized clinical trials. *Hepatology*. 2012; 56(6): 2039-2050
- [36] Poordad F, McCone J, Jr, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011; 364(13): 1195-1206.
- [37] Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2011; 364(25): 2405-2416.

- [38] Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011; 364(25): 2417-2428.
- [39] Zeuzem S, Berg T, Gane E, Ferenci P, Foster GR, Fried MW, et al. Simeprevir increases rate of sustained virologic response among treatment-experienced patients with HCV genotype-1 infection: a phase IIb trial. *Gastroenterology*. 2014; 146(2): 430-41.e6.
- [40] 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(20): 1878-1887. 147.
- [41] European Association of the Study of the Liver (EASL). Recommendations of treatment of hepatitis C. 2017. Available at: <http://www.easl.eu/medias/cpg/HEPC-2017/Fullreport.pdf>
- [42] Schoen F, Cotran R. Vasos sanguíneos. In: Cotran R, Kumar V, Collins T, eds. *Patología estructural y funcional*. Madrid: McGraw-Hill - Interamericana 2000: 519-70.
- [43] Spagnoli LG, Bonanno E, Sangiorgi G, Mauriello A. Role of inflammation in atherosclerosis. *J.Nucl.Med*. 2007; 48: 1800-15.
- [44] Rothwell PM, Villagra R, Gibson R, Donders RC, Warlow CP. Evidence of a chronic systemic cause of instability of atherosclerotic plaques. *Lancet*. 2000; 355: 19-24.
- [45] Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol*. 2000; 20: 1262-75.
- [46] Fong I. Emerging relations between infectious diseases and coronary artery disease and atherosclerosis. *CMAJ*. 2000; 163(1): 49-56.
- [47] Tahmasebpour HR, Buckley AR, Cooperberg PL, Fix CH. Sonographic examination of the carotid arteries. *Radiographics*. 2005; 25: 1561-75.

- [48] Junyent M, Martínez M, Borrás M, Bertriu A, Coll B, Craver L, et al. Utilidad de las técnicas de imagen y biomarcadores en la predicción del riesgo cardiovascular en pacientes con enfermedad renal crónica en España: Proyecto NEFRONA. *Nefrologia*. 2010; 30: 119-26.
- [49] Dalager S, Falk E, Kristensen IB, Paaske WP. Plaque in superficial femoral arteries indicates generalized atherosclerosis and vulnerability to coronary death: An autopsy study. *J Vasc Surg*. 2008. 2. Molnár S, Kerényi L, Ritter MA, et al. Correlations between the atherosclerotic changes of femoral, carotid and coronary arteries. A post mortem study. *J Neurol Sci*. 2009; 287(1-2): 241-245.
- [50] Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, Csiba L, Desvarieux M, Ebrahim S, Fatar M, Hernandez HR, Jaff M, Kownator S, Prati P, Rundek T, Sitzer M, Schminke U, Tardif JC, Taylor A, Vicaut E, Woo KS, Zannad F, Zureik M. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004- 2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis*. 2007; 23: 75-80.
- [51] Guía ESC 2016 sobre prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica. Sexto Grupo de Trabajo Conjunto de la Sociedad Europea de Cardiología y otras Sociedades sobre Prevención de Enfermedad Cardiovascular en la Práctica Clínica. European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Rev Esp Cardiol*. 2016; 69(10): 939.e1-e87.
- [52] Goff DC Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 2935-59.
- [53] Junyent M, Zambón D, Gilabert R, Núñez I, Cofán M, Ros E. Carotid atherosclerosis and vascular age in the assessment of coronary heart disease risk beyond the Framingham Risk Score. *Atherosclerosis*. 2008; 2: 803-9.

- [54] Lorenz MW, Polak JF, Kavousi M, Mathiesen EB, Völzke H, Tuomainen TP, et al, Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension; European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). PROG-IMT Study Group. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): a meta-analysis of individual participant data. *Lancet*. 2012; 379: 2053-62
- [55] Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, et al. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) study. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55: 1600
- [56] Folsom AR, Kronmal RA, Detrano RC, O'Leary DH, Bild DE, Bluemke DA, et al. Coronary artery calcification compared with carotid intima-media thickness in the prediction of cardiovascular disease incidence: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Arch Intern Med*. 2008; 168: 1333-9.
- [57] Graham I, Ater D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention. Fourth Joint European Societes Task Force on Cardiovasculr Disease Presentation in Clinical Practice. *European J Cardiovasc Prevent and Rehabil*. 2007; 14(S2): S1-S113.
- [58] Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al.; American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008; 21: 93-111.
- [59] Abe Y, Rundek T, Sciacca RR, Jin Z, Sacco RL, Homma S, et al. Ultrasound assessment of subclinical cardiovascular disease in a community-based

- multiethnic population and comparison to the Framingham score. *Am J Cardiol.* 2006; 98: 1374-8.
- [60] Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J.* 2003; 24: 987–1003.
- [61] Griffin M, Nicolaidis A, Tyllis T, Georgiou N, Martin RM, Bond D, et al. Carotid and femoral arterial wall changes and the prevalence of clinical cardiovascular disease. *Vasc Med.* 2009; 14: 227-32
- [62] Davidsson L, Fagerberg B, Bergström G, Schmidt C. Ultrasound-assessed plaque occurrence in the carotid and femoral arteries are independent predictors of cardiovascular events in middle-aged men during 10 years of follow-up. *Atherosclerosis.* 2010; 209: 469-73.
- [63] Yerly P, Rodondi N, Viswanathan B, Riesen W, Vogt P, Bovet P. Association between conventional risk factors and different ultrasoundbased markers of atherosclerosis at carotid and femoral levels in a middle-aged population. *Int J Cardiovasc Imaging.* 2013; 29: 589-99.
- [64] Grant EG, Benson CB, Moneta GL, Alexandrov AV, Baker JD, Bluth EI, Carroll BA, Eliasziw M, Gocke J, Hertzberg BS, Katarick S, Needleman L, Pellerito J, Polak JF, Rholl KS, Wooster DL, Zierler E. Carotid artery stenosis: grayscale and Doppler ultrasound diagnosis--Society of Radiologists in Ultrasound consensus conference. *Ultrasound Q.* 2003; 19: 190-8.
- [65] De Bray JM, Baud J, Dauzat M. Consensus concerning the morphology and the risk of carotid plaques. *Cerebrovasc.Dis.* 1996; 7: 289-96.
- [66] Geroulakos G, Ramaswami G, Nicolaidis A, James K, Labropoulos N, Belcaro G, Holloway M. Characterization of symptomatic and asymptomatic carotid plaques using high-resolution real-time ultrasonography. *Br.J.Surg.* 1993; 80: 1274-7.

- [67] El-Barghouty NM, Levine T, Ladva S, Flanagan A, Nicolaides A. Histological verification of computerised carotid plaque characterisation. *Eur.J.Vasc.Endovasc.Surg.* 1996; 11: 414-6.
- [68] Joakimsen O, Bonna KH, Stensland-Bugge E. Reproducibility of ultrasound assessment of carotid plaque occurrence, thickness, and morphology. The Tromso Study. *Stroke.* 1997; 28: 2201-7.
- [69] Tegos TJ, Sohail M, Sabetai MM, Robless P, Akbar N, Pare G, Stansby, G, Nicolaides AN. Echomorphologic and histopathologic characteristics of unstable carotid plaques. *AJNR Am.J.Neuroradiol.* 2000; 21: 1937-44.
- [70] Elatrozy T, Nicolaides A, Tegos T, Zarka AZ, Griffin M, Sabetai M. The effect of B-mode ultrasonic image standardisation on the echodensity of symptomatic and asymptomatic carotid bifurcation plaques. *Int.Angiol.* 1998; 17: 179-86.
- [71] Sztajzel R, Momjian S, Momjian-Mayor I, Murith N, Djebaili K, Boissard G, Comelli M, Pizolatto G. Stratified gray-scale median analysis and color mapping of the carotid plaque: correlation with endarterectomy specimen histology of 28 patients. *Stroke.* 2005; 36: 741-5.
- [72] Reilly LM, Lusby RJ, Hughes L, Ferrell LD, Stoney RJ, Ehrenfeld WK. Carotid plaque histology using real-time ultrasonography. Clinical and therapeutic implications. *Am.J.Surg.* 1983; 146: 188-93.
- [73] Del Campo JA, Romero-Gomez M. Modulation of host lipid metabolism by hepatitis C virus: Role of new therapies. *World journal of gastroenterol.* 2015; 21 (38): 10776-10782.
- [74] Hui j, Sud A, Farrell G, Bandara P, Byth K, Kench, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression. *Gastroenterology.* 2003; 125: 1695–704.
- [75] Negro F, Alael M. Hepatitis C virus and type 2 diabetes. *World J Gastroenterol.* 2009; 15 :1537–47.

- [76] Lonardo A, Adinolfi L, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP, et al. Steatosis and hepatitis C virus mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology*. 2004; 126: 586–97
- [77] Adinolfi LE, Zampino R, Restivo L, Lonardo A, Guerrera B, Marrone A, et al. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: Clinical impact and mechanisms. *World J Gastroenterol*. 2014; 20: 3410.
- [78] Ishizaka Y, Ishizaka N, Takahashi E, Unuma T, Tooda E, Hashimoto H, et al. Association between hepatitis C virus core protein and carotid atherosclerosis. *Circ J*. 2003; 67: 26–30.
- [79] Boddi M, Abbate R, Chellini B, Giusti B, Solazzo V, Soft F, et al. HCV infection facilitates asymptomatic carotid atherosclerosis: preliminary report of HCV RNA localization in human carotid plaques. *Dig Liver Dis*. 2007; 39 Suppl 1: S55-60.
- [80] Aranceta J, Foz M, Gil B, Joverd E, Mantilla T, Millán J, et al. Documento de Consenso: obesidad y riesgo cardiovascular. *Clin Invest Arterioscl*. 2003; 15: 196–233.
- [81] Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, et al. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology*. 2004; 126: 840–8.
- [82] Taura N, Ichikawa T, Hamasaki K, Nakao K, Nishimura D, Goto T, et al. Association between liver fibrosis and insulin sensitivity in chronic hepatitis C patients. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101: 2752–9. 12.
- [83] Harrison S, Ramrakhiani S, Brunt EM, Anbari MA, Cortese C, Bacon BR. Insulin resistance among patients with chronic hepatitis C: etiology and impact of treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6: 864–76. 13.
- [84] Fukui M, Kitagawa Y, Nakamura N, Yoshikawa T. Hepatitis C virus and atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *JAMA*. 2003; 289: 1245–6. 14.

- [85] Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, et al. Insulin Resistance in chronic hepatitis C: Association with genotypes 1 and 4, serum RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008;134:416-423.
- [86] Abenavoli L, Masarone M, Peta V, Milic N, Kobylak N, Rouabhia S y Persico M. Insulin resistance and liver steatosis in chronic hepatitis C infection genotype 3. *World J Gastroenterol* 2014 Noviembre 7; 20(41):15233-15240.
- [87] Fartoux L, Poujol-Robert A, Guechot J, Wendum D, Poupon R, Serfaty L. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut*. 2005; 54: 1003–8.
- [88] Mason AL, Lau JY, Hoang N, Qian K, Alexander GJ, Xu L, et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 1999;29:328–33.
- [89] Metha SH, Brancati FL, Sulkowski MS, Strathdee SA, Szklo M, Thomas L, et al. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *Hepatology*. 2003; 38: 50–6.
- [90] Vidali M, Zampino R, Occhino G, Restivo L, Ivaldi A, Tripodi M, et al. Oxidative stress and insulin resistance contribute to steatosis in HCV genotype non-3 infected patients. In 42nd Meeting of the European Association for the Study of Liver diseases. 2007.
- [91] Westin J, Nordlinder H, Lagging M, Norkrans G, Wejstal R. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients. *J Hepatol*. 2002; 37: 837–42.
- [92] Pradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, Dargere D, Parfait B, Vidaud M, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in non alcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2001; 34: 738–44.

- [93] Gabriel A, Ziołkowski A, Radlowski P, Tomaszek K, Dziambor A. Hepatocyte steatosis in HCV patients promotes fibrosis by enhancing TGF-beta liver expression. *Hepatol Res.* 2008;38:141–6.
- [94] Vidali M, Tripodi MF, Ivaldi A, Zampino R, Occhino G, Restivo L, et al. Interplay between oxidative stress and hepatic steatosis in the progression of chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2008;48: 399–406.
- [95] Lo Iacono O, Venezia G, Petta S, Mineo C, De Lisi S, Di Marco V, et al. The impact of insulin resistance, serum adipocytokines and visceral besity on steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;25:1181–91.
- [96] Korenaga M, Wang T, Li Y, Showalter LA, Chan T, Sun J, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases reactive oxygen species (ROS) production. *J Biol Chem.* 2005;280:37481–8.
- [97] Aparcero R, Campo J. A. y Romero-Gómez M. Hepatitis C y síndrome metabólico. *Gastroenterol Hepatol.* 2010; 33 (7): 530–540.
- [98] Pazienza V, Cle´ment S, Pugnale P, Conzelman S, Foti M, Mangia A, et al. The hepatitis C virus core protein of genotypes 3a and 1b downregulates insulin receptor substrate 1 through genotypespecific mechanisms. *Hepatology.* 2007;45:1164–71.
- [99] Bugianesi E, Marchesini G, Gentilcore E, Cua IH, Vanni E, Rizzetto M, et al. Fibrosis in genotype 3 chronic hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease: Role of insulin resistance and hepatic steatosis. *Hepatology.* 2006;44:1648–55
- [100] Camm_a C, Bruno S, Di Marco V, Di Bona D, Rumi M, Vinci M, et al. Insulin resistance is associated with steatosis in non-diabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology.*2006;43:64–71.
- [101] Akuta N, Suzuki F, Hirakawa M, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, et al. Amino acid substitutions in the hepatitis C virus core region of genotype 1b are the

- important predictor of severe insulin resistance in patients without cirrhosis and diabetes mellitus. *J Med Virol.* 2009;81:1032–9.
- [102] Persico M, Capasso M, Persico E, Svelto M, Russo R, Spano D, et al. Suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) expression and hepatitis C virus-related chronic hepatitis: Insulin resistance and response to antiviral therapy. *Hepatology.* 2007;46:1009–15.
- [103] Dai CY, Huang JF, Hsieh MY, Hou NJ, Lin ZY, Chen SC, et al. Insulin resistance predicts response to peginterferon-alpha/ ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol.* 2009;50:712–8.
- [104] Chu CJ, Lee SD, Hung TH, Lin HC, Hwang SJ, Lee FY, et al. Insulin resistance is a major determinant of sustained virological response in genotype 1 chronic hepatitis C patients receiving peginterferon alpha-2b plus ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29:46–54.
- [105] Romero-Gómez M, Fernández-Rodríguez CM, Andrade RJ, Diago M, Alonso S, Planas R, et al. Effect of sustained virological response to treatment on the incidence of abnormal glucose values in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2008;48:721–7.
- [106] Tarantino G, Conca P, Ariello M, Mastrolia M. Does a lower insulin resistance affect antiviral therapy response in patients suffering from HCV related chronic hepatitis? *Gut.* 2006;55:585
- [107] Reaven GM. Insulin resistance, the insulin resistance syndrome, and cardiovascular disease. *Panminerva Med.* 2005;47: 201-10.
- [108] Reaven G. ATVB in focus metabolic: syndrome and insulin resistance: mechanisms and consequences. Insulin resistance and coronary heart disease in nondiabetic individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32:1754-9.
- [109] Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008; 294: E15-26.

- [110] Singh B, Saxena A. Surrogate markers of insulin resistance: A review. *World J Diabetes*. 2010;1:36-47.
- [111] Abbasi F, Reaven GM. Comparison of two methods using plasma triglyceride concentration as a surrogate estimate of insulin action in nondiabetic subjects: triglycerides \times glucose versus triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol. *Metabolism*. 2011;60:1673-6.
- [112] Guerrero Romero F, Simental Mendia LE, Gonzalez Ortiz M, Martinez Abundis E, Ramos Zavala MG, Hernandez Gonzalez SO, et al. The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:3347-51.
- [113] Irace C, Carallo C, Scavelli FB, De Franceschi MS, Esposito T, Tripolino C, et al. Markers of insulin resistance and carotid atherosclerosis. A comparison of the homeostasis model assessment and triglyceride glucose index. *Int J Clin Pract*. 2013;67 Suppl 7:665-72.
- [114] Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Leiva Sisnieguez CE, March CE, Balbín E, et al. Comparison of the abilities of the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio and the metabolic syndrome to identify insulin resistance. *Diab Vasc Dis Res*. 2013;10 Suppl 4:346-52.
- [115] Cordero A, Laclaustra M, Leon M, Grima A, Casasnovas J, Luengo E, et al. Prehypertension is associated with insulin resistance state and not with an initial renal function impairment. A metabolic Syndrome in Active subject in Spain (MESYAS) *Am J Hypertens*. 2006;19:189-196.
- [116] Reaven GM. Compensatory hyperinsulinemia and the development of an atherogenic lipoprotein profile: the price paid to maintain glucose homeostasis in insulin-resistant individuals. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2005;34: 49-62.
- [117] Niederau C, Lange S, Heintges T, Erhardt A, Buschlamp M, Hurter D, Nawrocki M, Kruska L, Hensel F, Petry W, Haussinger D. Progression of chronic hepatitis C: results of a large prospective cohort study. *Hepatology*. 1998;28:1687- 95.

- [118] Ramalho F, Costa A, Pires A, Cabrila P, Serejo F, Correia AP, Fatela N, Cloria H, Lopes J, Pinto HC, Marinho R, Raimundo M, Velosa J, Batista A, De Moura MC. Correlation of genotypes and route of transmission with histological activity and disease stage in chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci.* 2000;45:182-7.
- [119] Mirandola S, Realdon S, Iqbal J, Gerotto M, Dal Pero F, Bortoletto G, et al. Liver microsomal triglyceride transfer protein is involved in hepatitis C liver steatosis. *Gastroenterology.* 2006;130:1661–9.
- [120] Barba G, Harper F, Harada T, Kohara M, Goulinet S, Matsuura Y, et al. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:1200–5.
- [121] Dharancy S, Malapel M, Perlemuter G, Roskams T, Cheng Y, Dubuquoy L, et al. Impaired expression of the peroxisome proliferator–activated receptor alpha during hepatitis C virus infection. *Gastroenterology.* 2005;128:334–42.
- [122] Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell.* 1994;79:1147–56.
- [123] Kim KH, Hong SP, Kim K, Park MJ, Kim KJ, Cheong J. HCV core protein induces hepatic lipid accumulation by activating SREBP1 and PPARgamma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;355:883–8.
- [124] Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SR. Host and disease specific factors affecting steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 1998;29:198-206.
- [125] Abid K, Paziienza V, de Gottardi A, Rubbia-Brandt L, Conne B, Pugnale P, et al. An in vitro model of hepatitis C virus genotype 3a-associated triglycerides accumulation. *J Hepatol.* 2005; 42: 744–51.
- [126] Hourigan LF, MacDonald GA, Purdie GM, Whitehall VH, Shorthouse C, Clouston AD, Powell EE. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology.* 1999;29:1215-9.

- [127] Adinolfi L, Gambardella M, Andreana AAA, Tripodi M, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotypes and visceral obesity. *Hepatology*. 2001;33:1558-64. 17.
- [128] Serejo F, Costa A, Ramalho F, et al. Liver steatosis and HCV infection. Liver fibrosis. In: *Proceedings of Cell Biology to Clinical Targets*. Italy. 2001.
- [129] Kumar D, Farrel G, Fung C, George G. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology*. 2002;36:1266-72
- [130] Walsh MJ, Jonsson JR, Richardson MM, Lipka GM, Purdie DM, Clouston AD, et al. Non-response to antiviral therapy is associated with obesity and increased hepatic expression of suppressor of cytokine signalling 3 (SOCS-3) in patients with chronic hepatitis C, viral genotype 1. *Gut*. 2006; 55(4):529-535.
- [131] Thomssen R, Bonk S, Thiele A. Density heterogeneities of hepatitis C virus in human sera due to the binding of beta-lipoproteins and immunoglobulins. *Med Microbiol Immunol*. 1993; 182: 329-334
- [132] Fabris C, Federico E, Sorado G, Falletti E, Pirisi M. Blood lipids of patients with chronic hepatitis: differences related to viral etiology. *Clin Chim Acta*. 1997; 261: 159-165
- [133] Prince AM, Huima-Byron T, Parker TS, Levine DM. Visualization of hepatitis C virions and putative defective interfering particles isolated from low-density lipoproteins. *J Viral Hepat*. 1996; 3: 11-17
- [134] Millán J et al. No-HDL-cholesterol as risk marker and therapeutic goal. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*. 2018; 30 (2): 72-73
- [135] Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, Maroni J, Szarek M, Grundy SM, et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2007; 357: 1301-10

- [136] Monazahlan M, Bohme I, Bonk S, Koch A, Sholz C, Grethe S. Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. *J Med Virol.* 1999; 57: 223-229.
- [137] Ishizaka N, Ishizaka Y, Yamkado M. Atherosclerosis as a possible extrahepatic manifestation of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Med Insights Cardiol* . 2014; 8: 1–5.
- [138] Petta S, Torres D, Fazio G, Cammà C, Cabibi D, Di Marco V, et al. Carotid atherosclerosis and chronic hepatitis C: A prospective study of risk associations. *Hepatology.* 2012; 55: 1317–23.
- [139] Z. Abbas, T. Moatter. Interleukin (IL) 1beta and IL-10 gene polymorphism in chronic hepatitis C patients with normal or elevated alanine aminotransferase levels. *The Journal of the Pakistan Medical Association.* 2003; 53(2): 59–62.
- [140] Bugianesi, F. Salamone, F. Negro. The interaction of metabolic factors with HCV infection: does it matter?. *Journal of Hepatology.* 2012; 56 (1): S56–S65.
- [141] Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Tooda E ichi, Hashimoto H, Nagai R, et al. Association between hepatitis C virus seropositivity, carotid-artery plaque, and intima-media thickening. *Lancet.* 2002; 359: 133–5.
- [142] H. Tomiyama, T. Arai, K.-I. Hirose, S. Hori, Y. Yamamoto, A. Yamashina. Hepatitis C virus seropositivity, but not hepatitis B virus carrier or seropositivity, associated with increased pulse wave velocity. *Atherosclerosis.* 2003; 166 (2): 401–40.
- [143] A. Mostafa, M. K. Mohamed, M. Saeed. Hepatitis C infection and clearance: impact on atherosclerosis and cardiometabolic risk factors. *Gut.* 2010; 59 (8): 1135–1140.
- [144] L. E. Adinolfi, L. Restivo, R. Zampino. Chronic HCV infection is a risk of atherosclerosis. Role of HCV and HCV-related steatosis. *Atherosclerosis.* 2012; 221; (2): 496–502.

- [145] H. Huang, R. Kang, Z. Zhao. Hepatitis C virus infection and risk of stroke: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2013; 8 (11): 81305.
- [146] M. Masia, S. Padilla, C. Robledano, J. M. Ramos, F. Gutierrez. Evaluation of endothelial function and subclinical atherosclerosis in association with hepatitis C virus in HIVinfected patients: a cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*. 2011; 11: 265.
- [147] Y. Caliskan, H. Oflaz, H. P"us"urogl. Hepatitis C virus infection in hemodialysis patients is not associated with insulin resistance, inflammation and atherosclerosis. *Clinical Nephrology*. 2009; 71 (2): 147–157.
- [148] P.C.Tien, M. F. Schneider, S.R.Cole. Association of hepatitis C virus and HIV infection with subclinical atherosclerosis in the women's interagencyHIV study. *AIDS*. 2009; 23 (13): 1781–1784.
- [149] H. VÖlzke, C. Schwahn, B.Wolff . Hepatitis B and C virus infection and the risk of atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis*. 204; 174 (1):99–103.
- [150] Huang H, Kang R, Zhao Z. Is hepatitis C associated with artherosclerotic burden? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* ; 2014;9 (9).
- [151] Petta S, Maida M, Macaluso FS. Hepatitis C Virus Infection is associated with increased cardiovascular mortality: A meta-analysis of observational studies. *Gastroenterology*. 2016; 150: 145-55.
- [152] U. Forssen, A. McAfee, C. Enger, D. Bennett, S. Shantakumar. Risk of thromboembolic events (TEs) among patients infected with hepatitis C. *Hepatology*. 2009; 50: 672A.
- [153] Gutierrez J, Elkind MSV. Chronic inflammatory diseases and stroke: Evidence for heterogeneous mechanisms. *Ann Neurol*. 2012; 72: S6-S7
- [154] C.-C. Liao, T.-C. Su, F.-C. Sung, W.-H. Chou, T.-L. Chen. Does hepatitis C virus infection increase risk for stroke? A population-based cohort study. *PLoS ONE*.2012; 7 (2): 31527.

- [155] C.-S. Hsu, J.-H. Kao, Y.-C. Chao. Interferon-based therapy reduces risk of stroke in chronic hepatitis C patients: a population-based cohort study in Taiwan. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2013; 38 (4): 415–423.
- [156] L. E. Adinolfi, L. Restivo, B. Guerrera. Chronic HCV infection is a risk factor of ischemic stroke. *Atherosclerosis*. 2013; 231 (1): 22–26.
- [157] M.-H. Lee, H.-I. Yang, S.-N. Lu. Chronic hepatitis C virus infection increases mortality from hepatic and extrahepatic diseases: a community-based long-term prospective study. *Journal of Infectious Diseases*. 2012; 206 (4): 469–477.
- [158] Z. M. Younossi, M. Stepanova, F. Nader, Z. Younossi, E. Elsheikh. Associations of chronic hepatitis C with metabolic and cardiac outcomes. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2013; 37 (6): 647–652.
- [159] C. Vassalle, S. Masini, F. Bianchi, and G. C. Zucchelli. Evidence for association between hepatitis C virus seropositivity and coronary artery disease. *Heart*. 2004; 90 (5): 565–566.
- [160] A.A. Butt, W. Xiaoqiang, M. Budoff, D. Leaf, L.H. Kuller, A. C. Justice. Hepatitis C virus infection and the risk of coronary disease. *Clinical Infectious Diseases*. 2009; 49(2): 225–232.
- [161] O. Alyan, F. Kacmaz, O. Ozdemir. Hepatitis C infection is associated with increased coronary artery atherosclerosis defined by modified reardon severity score system. *Circulation Journal*. 2008; 72 (12): 1960–1965.
- [162] C. P. M. S. Oliveira, C. R. Kappel, E. R. Siqueira. Effects of hepatitis C virus on cardiovascular risk in infected patients: a comparative study. *International Journal of Cardiology*. 2013; 164 (2): 221–226.
- [163] C. Enger, U. M. Forssen, D. Bennett, D. Theodore, S. Shantakumar, A. McAfee. Thromboembolic events among patients with hepatitis C virus infection and cirrhosis: a matched-cohort study. *Advances in Therapy*. 2014; 31 (8): 891–903.

- [164] S. K. Satapathy, Y. J. Kim, A. Kataria. Higher prevalence and more severe coronary artery disease in hepatitis C virusinfected patients: a case control study. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*. 2013; 3: 186–191.
- [165] N. V. K. C. Pothineni, R. Delongchamp, S. Vallurupalli. Impact of hepatitis C seropositivity on the risk of coronary heart disease events. *American Journal of Cardiology*. 2014; 114 (12): 1841–1845.
- [166] R. J. Wong, F. Kanwal, Z. M. Younossi, A. Ahmed. Hepatitis C virus infection and coronary artery disease risk: a systematic review of the literature. *Digestive Diseases and Sciences*. 2014; 59(7): 1586–1593.
- [167] K. A. Forde, K. Haynes, A. B. Troxel. Risk of myocardial infarction associated with chronic hepatitis C virus infection: a population-based cohort study. *Journal of Viral Hepatitis*. 2012; 19, 4: 271–277.
- [168] C. M. Arcari, K. E. Nelson, D. M. Netski, F. J. Nieto, C. A. Gaydos. No association between hepatitis C virus seropositivity and acute myocardial infarction. *Clinical Infectious Diseases*. 2006; 43(6): e53–e56.
- [169] Y. Momiyama, R. Ohmori, R. Kato, H. Taniguchi, H. Nakamura, F. Ohsuzu. Lack of any association between persistent hepatitis B or C virus infection and coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2015; 181: 211–213.
- [170] Hsu YC, Lin JT, Ho HJ, Kao YH, Huang YT, Hsiao NW, Wu MS, Liu YY, Wu CY. Antiviral treatment for hepatitis C virus infection is associated with improved renal and cardiovascular outcomes in diabetic patients. *Hepatology*. 2014; 59: 1293-1302.
- [171] Maruyama S, Koda M, Oyake N, Sato H, Fujii Y, Horie Y, Murawaki Y. Myocardial injury in patients with chronic hepatitis C infection. *J Hepatol*. 2013; 58: 11-15.
- [172] Butt A *et al*. HCV treatment is associated with a reduced risk of cardiovascular disease events: results from ERCHIVES. IDWeek, abstract 930, 2018. <https://idsa.confex.com/idsa/2018/webprogram/Paper69131.html>.

- [173] Cacoub P, Nahon P, Layese R, Blaise L, Desbois AC, et al. ANRS CO12 CirVir group. Prognostic value of viral eradication for major adverse cardiovascular events in hepatitis C cirrhotic patients. *Am Heart J*. 2018; 198: 4-17.
- [174] Nahon P, Bourcier V, Layese R, Audureau E, Cagnot C, et al. ANRS CO12 CirVir Group. Eradication of Hepatitis C Virus Infection in Patients With Cirrhosis Reduces Risk of Liver and Non-Liver Complications. *Gastroenterology* 2017; 152: 142-156.e2
- [175] Singer AW, Osinusi AO, Brainard DM, Chokkalingam AP. Risk of cardiovascular and cerebrovascular events in hepatitis C patients following completion of direct-acting antiviral therapy: a retrospective cohort study. *J Hepatol*. 2017; 66: S95-S332.
- [176] Adinolfi LE, Rinaldi L, Marrone A, Giordano M. The effect of sustained virological response by direct-acting antivirals on insulin resistance and diabetes mellitus in patients with chronic hepatitis C. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2018; 16: 595-597.
- [177] Adinolfi LE, Nevola R, Guerrera B, D'Alterio G, Marrone A, Giordano M, Rinaldi L. Hepatitis C virus clearance by direct-acting antiviral treatments and impact on insulin resistance in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2018; 33: 1379-1382.
- [178] Mehta DA, Cohen E, Charafeddine M, Cohen DE, Bao Y, Sanchez Gonzalez Y, Tran TT. Effect of Hepatitis C Treatment with Ombitasvir/ Paritaprevir/R+ Dasabuvir on Renal, Cardiovascular and Metabolic Extrahepatic Manifestations: A Post-Hoc Analysis of Phase 3 Clinical Trials. *Infect Dis Ther*. 2017; 6: 515-529
- [179] Saraiva GN, do Rosário NF, Medeiros T, Leite PEC, Lacerda GS, de Andrade TG, de Azeredo EL, Ancuta P, Almeida JR, Xavier AR, Silva AA. Restoring Inflammatory Mediator Balance after Sofosbuvir- Induced Viral Clearance in Patients with Chronic Hepatitis C. *Mediators Inflamm*. 2018; 2018: 8578051.
- [180] Mascia C, Vita S, Zuccalà P, Marocco R, Tieghi T, Savinelli S, Rossi R, Iannetta M, Pozzetto I, Furlan C, Mengoni F, Mastroianni CM, Vullo V, Lichtner M. Changes in

- inflammatory biomarkers in HCV-infected patients undergoing direct acting antiviral-containing regimens with or without interferon. *PLoS One*. 2017; 12: e0179400.
- [181] Sise ME, Bloom AK, Wisocky J, Lin MV, Gustafson JL, Lundquist AL, Steele D, Thiim M, Williams WW, Hashemi N, Kim AY, Thadhani R, Chung RT. Treatment of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia with direct-acting antiviral agents. *Hepatology*. 2016; 63: 408-417.
- [182] Meissner EG, Lee YJ, Osinusi A, Sims Z, Qin J, Sturdevant D, McHutchison J, Subramanian M, Sampson M, Naggie S, Patel K, Remaley AT, Masur H, Kottlilil S. Effect of sofosbuvir and ribavirin treatment on peripheral and hepatic lipid metabolism in chronic hepatitis C virus, genotype 1-infected patients. *Hepatology*. 2015; 61: 790-801.
- [183] Petta S, Adinolfi LE, Fracanzani AL, Rini F, Caldarella R, Calvaruso V, Cammà C, Ciaccio M, Di Marco V, Grimaudo S, Licata A, Marrone A, Nevola R, Pipitone RM, Pinto A, Rinaldi L, Torres D, Tuttolomondo A, Valenti L, Fargion S, Craxì A. Hepatitis C virus eradication by directacting antiviral agents improves carotid atherosclerosis in patients with severe liver fibrosis. *J Hepatol*. 2018; 69: 18-24.
- [184] Ichikawa T, Miyaaki H, Hiuma S, Motoyoshi Y, Narita S ,el al. Carotid Intima-media Thickness and Small Dense Low-density Lipoprotein Cholesterol Increase after One Year of Treatment with Direct-acting Antivirals in Patients with Hepatitis C Virus Infection. *Intern Med Advance Publication*. DOI:10.2169/internalmedicine.1514-18.

ANEXOS

ANEXO 1: Hoja de información y consentimiento

Proyecto: VHC y asociación con ateromatosis subclínica. Estudio observacional de aterosclerosis en paciente con virus de hepatitis crónicas C.

Investigador principal: Dra. Tamara Revuelto Artigas

Servicio de Digestivo de Hospital Universitari Arnau de Vilanova y Hospital universitari de Santa Maria de Lleida (GSS)

Investigadores colaboradores: Dra. Àngels Betriu Bars

UDETMA. Servei de Nefrologia. Hospital Universitari Arnau de Vilanova

Institut de Recerca Biomèdica de Lleida (IRBLleida)

Sr. / Sra

Desde la UDETMA (Unitat de Detecció i Tractament de les Malalties Aterotrombòtiques) y la Unidad de Hepatología de l'Hospital Universitari Arnau de Vilanova y Hospital Universitari Santa María (GSS) de Lleida, y en colaboración con el IRBLleida, se ha puesto en marcha un estudio dirigido a población de la provincia de Lleida diagnosticada con el virus de la hepatitis C (VHC), con edad > 18 años, sin historia previa de enfermedad cardiovascular, diabetes ni enfermedad renal.

El proyecto está dirigido a estudiar la presencia de placas de grasa en las arterias (ateromatosis) en pacientes con VHC, y compararlo con un grupo control sin VHC. Además de estudiar la evolución de estas placas con el tratamiento aceptado para la VHC (antivirales de acción directa AAD). Mediante técnicas de imagen no invasivas y no dolorosas (ecografía arterial simple), analizaremos la presencia de enfermedad ateromatosa subclínica, una patología muy relacionada con la inflamación y las alteraciones de los lípidos, presentes en la población afectada de VHC. Con la ecografía, miraremos las arterias carótidas (a cada lado del cuello) y las arterias femorales (a nivel de la ingle).

Los resultados del proyecto podrían proporcionar información importante sobre la enfermedad ateromatosa en personas infectadas por el VHC con la finalidad de prevenir su aparición o progresión. Así como valorar la evolución de las placas de grasa con el tratamiento para VHC con antivirales de acción directa (AAD), que si fuera positivo el resultado, podría valorarse como indicación de tratamiento antiviral en ausencia de daño hepático. A pesar de este beneficio, no significa necesariamente que el estudio debe proporcionarle a usted un beneficio directo, aunque si se detectan anomalías importantes se le informará al respecto para su prevención.

Los resultados de las pruebas se podrán recoger en la Unidad de Hepatología, cuando acuda a los controles habituales por su hepatopatía por VHC. Su médico le hará las recomendaciones necesarias en función de los resultados.

La participación en el estudio es voluntaria y la no aceptación en participar no supondrá ningún tipo de problema en su relación y trato con los sanitarios del hospital. Queda garantizada la preservación de sus datos personales y de salud, de manera que en todos los estudios que se puedan derivar en el futuro, no habrá posibilidad de ser identificado.

Consulte a su médico especialista de la Unidad de Hepatología monográfica de hepatitis (Dra. Revuelto) si tiene cualquier duda o considera que necesita más información.

**CONSENTIMIENTO PARTICIPACIÓN ESTUDIO VHC Y ASOCIACIÓN CON
ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA. ESTUDIO OBSERVACIONAL DE ATEROSCLEROSIS EN
PACIENTE CON VIRUS DE HEPATITIS C.**

Yo.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado

He podido hacer preguntas sobre el estudio

He recibido suficiente información

Entiendo que mi participación es voluntaria.

Acepto libremente participar en el estudio y cedo mis datos personales y los datos de las analíticas de sangre y pruebas realizadas, entendiendo que serán utilizados para todos los estudios derivados, manteniendo el anonimato y asegurando que en todos los casos no será posible mi identificación.

Firma paciente

Firma investigador

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Edad >18 años
- Infección por VHC

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Edad < 18 años o > 75 años
2. Cirrosis hepática descompensada
3. Enfermedad hepática crónica de etiología diferente al VHC (por alcohol, VHB, patología autoinmune o por depósito de hierro).
4. Neoplasia (Incluido Hepatocarcinoma)
5. Embarazo o lactancia
6. Antecedentes de enfermedad cardiovascular previa según la *Clasificación Internacional de Enfermedades, 10ª revisión (ICD10-CM)*: patología coronaria (infarto, angina, cirugía coronaria); accidente vascular cerebral, patología arterial periférica, isquemia arterial de cualquier origen; insuficiencia cardíaca grado III/IV.
7. Coinfección por VIH
8. Insuficiencia renal (filtrado glomerular CKD EPI < 60 ml/min/1.73m²)
9. Enfermedad infecciosa o inflamatoria activa (aguda o crónica)
10. Diabetes mellitus.
11. Pacientes con dislipemia tratados con hipolipemiantes.
12. Antecedentes de hipertensión arterial con antihipertensivos.
13. Historia familiar de cardiopatía isquémica precoz.
14. Discapacidad Mental.

ANEXO 2: Aprobación del uso de pacientes control del estudio NEFRONA



Solicitud de propuesta de investigación

Fecha de solicitud: 18/07/2016

Fecha de aprobación: 01/08/2016

1. Información del proyecto	
Título del proyecto:	
Composición de la placa de ateroma en pacientes con infección crónica por VHC, estudio comparativo de pacientes no infectados por el virus con ateromatosis subclínica.	
Investigador principal: TAMARA REVUELTO ARTIGAS	
Filiación institucional:	
Médico especialista en Digestivo del Hospital Universitario de Santa María(Lleida)	
Área temática a la que pertenece el proyecto: Ciencias de la salud	
Co-autores del proyecto	
<i>Nombre</i>	<i>Responsabilidad</i>
Dra. Àngels Betriu Bars	Co-Directora de tesis doctoral
Dr. Josep Maria Reñé Espinet	Co-director de tesis doctoral

2. Precisarà mostres del Biobanco	SI	NO x <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especificar financiación esperada:		

3. Resumen del proyecto
Justificación:
En la última década se ha observado un aumento de enfermedad ateromatosa en pacientes con infección crónica por VHC. La infección por VHC es un factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica. Esto se debe a la inflamación sistémica y las alteraciones del sistema inmunitario que produce el virus aun con niveles de lípidos bajos en sangre.

Se desconoce si existen diferencias en la composición de la placa de ateroma (lípidos, calcio y fibrosis) entre los pacientes con infección crónica por VHC y la población sin infección, diagnosticada de ateromatosis subclínica.

Se trata de valorar si existen diferencias en la composición de la placa de ateroma entre ambos grupos y si los pacientes infectados por el virus presentan una composición más inflamatoria o lipídica que se modifica por la acción de los tratamientos antivirales.

Hipótesis:

- 1) Los pacientes con infección por VHC presentan más ateromatosis subclínica que la población sin infección.
- 2) La composición de la placa de ateroma es distinta entre los grupos. El grupo con infección crónica por VHC presentaría mayor componente inflamatorio-lipídico.

Objetivos:

Comparar la composición (lípidos, calcio y fibrosis) de placa de ateroma en pacientes con infección por VHC frente a pacientes sin infección.

Metodología y mediciones:

Se trata de un estudio descriptivo y observacional, llevado a cabo por la unidad de hepatología del Hospital Universitario Arnau de Vilanova y el Hospital Universitario de Santa María y la "Unidad de detección y tratamiento para enfermedad ateromatosa" (UDETMA) de Lleida.

Se han estudiado a 185 pacientes con infección crónica con VHC antes de iniciar tratamiento antiviral, evaluando la carga de enfermedad ateromatosa con ecografía de arterias carotídeas y femorales mediante la medición del grosor íntima-media carotídeo (GIM) y evaluación de la presencia de placa (definida como GIM > 1,5mm), con ecografía doppler color vascular modo B según el consenso Mannheim.

La composición de la placa de ateroma se ha analizado con el software HEMODYN-4, que permite calcular el porcentaje de lípidos, de tejido fibroso y de calcio de las diferentes placas de ateroma.

El estudio ha sido evaluado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida, España y a todos los individuos han firmado el consentimiento informado de participación en el estudio.

Estos pacientes con VHC estudiados, que se quieren comparar con los pacientes sin VHC procedentes de la base de datos del estudio NEFRONA, con la misma edad, sexo y factores de riesgo cardiovascular, para ver el efecto del virus de la hepatitis C sobre las arterias y valorar si existe variación en la composición de la placa de ateroma.

*Variables clínicas recogidas: edad, sexo, presencia de tabaquismo, hipertensión arterial, dislipemia, índice de masa corporal.

*Valores analíticos: Niveles de triglicéridos, colesterol, HDLc y LDLc, glucemia y PCR.
Número de pacientes que se necesitan para el estudio: Se necesitarían ≥ 185 pacientes con presencia y composición de placa de ateroma, sin infección por VHC, ni DM, IRC, ni enfermedad cardiovascular previa con una edad de $>18 <75$ años. (Los controles del estudio nefrona: grupo sin insuficiencia renal)
Duración estimada del proyecto: Transversal (12meses)
Resultados esperados del proyecto: Con este estudio, esperamos conocer la composición de la placa de ateroma en pacientes infectados por VHC. Esto podría aportar información acerca de la posible modificación de la placa de ateroma con el tratamiento antiviral. Si la composición de los pacientes infectados es más inflamatoria (hipoecogénica) que en los pacientes sin infección, posiblemente el tratamiento antiviral mejoraría las placas de ateroma.

3. Bibliografía

- 1) Ishizaka N, Ishizaka Y, Yamkado M. Artherosclerosis as a posible extrahepatic manifestation of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Med Insight Cardiol.* 2014;8:1-5.
- 2) Dai CY, Chuang WL, Ho CK, et al. Associations between hepatitis C viremia and low serum triglyceride and cholesterol levels: a community-based study. *JHepatol.* 2008; 49: 9-16.
- 3) Petta S, Macaluso FS, Craxi A. Cardiovascular diseases and HCV infection: a simple association or more? *Gut* 2014; 63: 369-375.
- 4) Adinolfi LE, Restivo L, Zampino R, Guerrera B, Lonardo A, et al. Chronic HCV infection is a risk of atherosclerosis. Role of HCV and HCVrelated steatosis. *Atherosclerosis.* 2012; 221: 496–502.
- 5) Petta S, Torres D, Fazio G, Camma C, Cabibi D, et al. Carotid atherosclerosis and chronic hepatitis C: a prospective study of risk associations. *Hepatology.* 2012; 55: 1317–1323.
- 6) Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Arcaro G, et al. Differences and similarities in early atherosclerosis between patients with nonalcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis B and C. *Journal of Hepatology.* 2007; 46: 1126–1132.
- 7) Adinolfi LE, Zampino R, Restivo L, Lonardo A, Guerrera B, et al. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: clinical impact an mechanisms. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 3410–3417.
- 8) Huang H, Kang R, Zhao Z. Is hepatitis C associated with artherosclerotic burden? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014; 9 (9).
- 9) Petta S, Maida M, Macaluso FS, et al. Hepatitis C Virus Infection is associated with increased cardiovascular mortality: A meta-analysis of observational studies. *Gastroenterology.* 2015. DOI:10.1053/j.gastro.2015.09.007.
- 10) Yao-Chun H, Hsiu J, Yen-Tsung H, et al. Association between antiviral treatment and extrahepatic outcomes in patients with hepatitis C virus infection. *Gut* 2014; 0: 1-9. DOI:10.1136/gutjnl-2014-308163



COMPROMISO DEL INVESTIGADOR

Yo TAMARA REVUELTO ARTIGAS con DNI 25194336K confirmo que realizaré el proyecto "Composición de la placa de ateroma en pacientes con infección crónica por VHC, estudio comparativo de pacientes no infectados por el virus con ateromatosis subclínica" con los siguientes objetivos: Comparar la composición (lípidos, calcio y fibrosis) de placa de ateroma en pacientes con infección por VHC frente a pacientes sin infección.

Me comprometo a:

1. Que la base de datos cedida por el centro coordinador sólo será utilizada para los objetivos solicitados.
2. Que los datos incluidos en la base de datos cedida por el centro coordinador no se modificarán.
3. Que las determinaciones de los biomarcadores realizados en mi centro serán cedidas a la base de datos general para su enriquecimiento y podrán ser utilizados por otros grupos de investigación, con mi consentimiento previo y el visto bueno del Comité Científico.
4. Que en el caso de utilizar biomarcadores realizados en otros centros, solicitaré el permiso del centro que lo ha realizado y el visto bueno del comité científico. Así uno de los investigadores de dicho centro será incluido como coautor del trabajo.
5. Custodiar la base de datos no permitiendo que se ceda a terceras personas no autorizadas.

Y para que así conste, firman a continuación.

Nombre investigador
Tamara Revuelto Artigas

Presidenta de la SEN
M. Dolores del Pino

Investigadora Principal
Elvira Fernández Giráldez



Dra. Tamara Revuelto:

En nombre del Comité Científico del proyecto NEFRONA, tengo el placer de comunicarte que tu proyecto "Composición de la placa de ateroma en pacientes con infección crónica por VHC, estudio comparativo de pacientes no infectados por el virus con ateromatosis subclínica" ha sido evaluado positivamente.

Ello te autoriza a utilizar la base de datos del estudio tras haber firmado la carta de compromiso que se adjunta.

Quedo a tu disposición para cualquier aclaración al respecto.

Un saludo cordial,



Elvira Fernández

IP proyecto NEFRONA

ANEXO 3: Publicaciones durante la tesis: artículos & comunicaciones a congresos

*** Artículos a revistas científicas:**

- Tamara Revuelto Artigas, Natividad Zaragoza Velasco, Xavier Gómez Arbones, Teresa Vidal Ballester, Carme Piñol Felis, Josep Maria Reñé Espinet, Àngels Betriu Bars.

Infección crónica por el virus de la hepatitis C: un factor de riesgo independiente para la ateromatosis subclínica. En revista clínica española: RCE-D-18-00303R1

DOI:10.1016/j.rceng.2019.02.008.

- Tamara Revuelto Artigas, Natividad Zaragoza Velasco, Xavier Gómez Arbones, Teresa Vidal Ballester, Carme Piñol Felis, Josep Maria Reñé Espinet, Àngels Betriu Bars. 2019.

El tratamiento antiviral no mejora la ateromatosis subclínica en pacientes con hepatitis crónica por VHC. En revista Gastroenterología & Hepatología: GASTROHEPATO-D-18-

00391R2

DOI:10.1016/j.gastrohep.2019.02.002.



ORIGINAL ARTICLE

Chronic hepatitis C infection: An independent risk factor for subclinical atheromatosis[☆]

T. Revuelto Artigas^{a,b,c,d,*}, N. Zaragoza Velasco^{b,c,d}, X. Gómez Arbones^{d,e},
T. Vidal Ballester^c, C. Piñol Felis^{d,e}, J.M. Reñe Espinet^{b,d,e}, A. Betriu Bars^{c,d}

^a Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Santa María, Lleida, Spain

^b Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida, Spain

^c Unidad de Detección y Tratamiento de Enfermedades Aterotrombóticas (UDETMA), Hospital Universitario Arnau de Vilanova (Grupo de Investigación Translacional Vascular y Renal, IRBLleida), Lleida, Spain

^d Instituto de Investigación Biomédica, Lleida, Spain

^e Universidad de Lleida (UdL), Lleida, Spain

Received 6 July 2018; accepted 4 December 2018

KEYWORDS

Hepatitis C virus (HCV);
Atheromatous plaque;
Subclinical atherosclerosis

Abstract

Background: The association between subclinical atheromatosis and chronic hepatitis C virus (HCV) infection is unknown but is relevant now that antivirals are improving the survival of patients with the infection.

Objectives: To determine whether HCV is an independent risk factor for subclinical atheromatosis and to analyze the changes in lipid profiles according to viral RNA levels and hepatic fibrosis.

Patients and methods: We conducted an observational, cross-sectional study that included 102 HCV-positive patients and 102 HCV-negative patients with parity in terms of sex and age, with no history of cardiovascular or kidney disease or diabetes. Atheromatosis (the presence of atheromatous plaques) and the carotid intima-media thickness (CIMT) were assessed using ultrasonography of the carotid and femoral arteries.

Results: There was a greater presence of atheromatosis in any vascular territory in HCV-positive patients than in the patients without infection (58.8% vs. 28.4%, $p < .0001$). In the multivariate analysis, the factors significantly associated with atheromatosis included HCV infection

[☆] Please cite this article as: Revuelto Artigas T, Zaragoza Velasco N, Gómez Arbones X, Vidal Ballester T, Piñol Felis C, Reñe Espinet JM, et al. Infección crónica por el virus de la hepatitis C: un factor de riesgo independiente para la ateromatosis subclínica. Rev Clin Esp. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2018.12.007>

* Corresponding author.

E-mail address: tamararevuelto@gmail.com (T. Revuelto Artigas).

(OR, 14.37 [5.5–37.3]; $p < .001$), age (OR, 1.12 [1.1–1.2]; $p < .001$), male sex (OR, 4.32 [1.9–9.5]; $p < .001$) and the triglyceride/HDL cholesterol coefficient (TG/HDL-indirect indicator of insulin resistance) (OR, 1.34 [1.1–1.6]; $p = .007$). The HCV-positive patients with atheromatous plaques had a higher TG/HDL coefficient but no significant differences in terms of the viral load or degree of hepatic fibrosis and with a 'low risk' lipid profile.

Conclusions: HCV infection is an independent risk factor for subclinical atheromatosis. Systemic arterial ultrasonography for this population improves the cardiovascular risk assessment beyond lipid profile abnormalities and the risk calculation using SCORE tables.

© 2019 Published by Elsevier España, S.L.U.

PALABRAS CLAVE

Virus de la hepatitis C (VHC);
Placa de ateroma;
Arteriosclerosis subclínica

Infección crónica por el virus de la hepatitis C: un factor de riesgo independiente para la ateromatosis subclínica

Resumen

Introducción: Se desconoce la asociación entre ateromatosis subclínica e infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC), relevante ahora que los antivirales mejoran la supervivencia en los pacientes infectados.

Objetivos: Conocer si el VHC es factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica y analizar las modificaciones del perfil lipídico según niveles de ARN viral y fibrosis hepática.

Pacientes y métodos: Estudio observacional y transversal; incluye 102 pacientes VHC positivos y 102 sujetos VHC negativos con paridad de sexo y edad, sin antecedentes de enfermedad cardiovascular, renal ni diabetes. La ateromatosis (presencia de placas de ateroma) y el grosor íntima-media carotídeo (GIMC) se evaluó mediante ecografía de arterias carótidas y femorales.

Resultados: La presencia de ateromatosis en cualquier territorio vascular fue mayor en pacientes VHC que en sujetos no infectados (58,8% frente a 28,4%, $p < 0,001$). En el análisis multivariante, los factores significativamente asociados con ateromatosis incluyeron infección por VHC (OR = 14,37 [5,5-37,3]; $p < 0,001$), edad (OR = 1,12 [1,1-1,2]; $p < 0,001$), sexo masculino (OR = 4,32 [1,9-9,5]; $p < 0,001$) y el coeficiente triglicéridos/colesterol HDL (TG/HDL-indicador indirecto de insulinoresistencia) (OR = 1,34 [1,1-1,6]; $p = 0,007$). Los pacientes VHC con placas de ateroma presentaban mayor coeficiente TG/HDL, sin diferencias significativas en cuanto a la carga viral ni grado de fibrosis hepática con un perfil lipídico de «bajo riesgo».

Conclusiones: La infección VHC es factor de riesgo independiente de ateromatosis subclínica. La ecografía arterial sistémica en esta población mejora la evaluación del riesgo cardiovascular más allá de las alteraciones del perfil lipídico y del cálculo de riesgo por tablas SCORE.

© 2019 Publicado por Elsevier España, S.L.U.

Background

Chronic hepatitis C virus (HCV) infection is a global health problem, with a worldwide prevalence of approximately 71 million individuals with the infection and 399,000 deaths every year. In Spain, HCV affects almost 500,000 individuals, although this rate has changed in recent years since the use of new interferon-free therapies.^{1,2}

HCV infection is one of the main causes of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma and is associated with extrahepatic manifestations and significant metabolic disorders.^{3,4} Recent reports have indicated an increase in subclinical atheromatosis and a higher rate of cardiovascular events in patients with HCV.^{5,6} A number of studies have shown that chronic HCV infection is an independent risk factor for carotid atheromatosis, coronary artery

disease and stroke; however, the results of the various studies are inconclusive.^{7–11}

HCV infection increases the secretion of proinflammatory cytokine and alters the activity of the immune system. This sustained inflammatory condition can promote atherogenesis in patients with the infection.¹² Additionally, HCV and liver disease are known to cause lipid and lipoprotein modification, especially of apolipoprotein B, using them as hosts for the replication and dissemination of HCV. The virus circulates bound to low-density lipoproteins (LDL) and very low-density lipoproteins (VLDL) and interacts with LDL cell receptors, penetrating the artery wall.¹³ In vivo studies have demonstrated HCV RNA colonizing and reproducing in cholesterol-rich atheromatous plaques.^{14,15} This cardiovascular risk can be increased by other HCV-associated disorders such as hyperhomocysteinemia, hypoadiponectinemia and, especially, insulin

resistance. Despite the lack of consensus on particular aspects of the relationship between HCV infection and the formation of atheromatous plaques, cardiovascular disease is an emerging problem in patients infected by this virus.^{16–20} Therefore, although there are currently effective antiviral treatments for curing the viral infection, a better understanding is needed of how HCV infection affects cardiovascular risk. In this study, we investigated whether HCV is an independent risk factor for subclinical atheromatosis, whether there are differences in the lipid profile of patients with HCV infection, with or without atheromatous plaques, and its association with viral load and progression of liver disease as measured by the degree of fibrosis.

Patients and methods

Study design and patients

This observational and cross-sectional study included outpatients with chronic HCV infection (HCV⁺) and a control group of patients without infection (HCV⁻) followed-up in 2 university hospitals between March 2015 and June 2016. The HCV⁺ group consisted of patients with serologically confirmed (i.e., positive for HCV antibodies and detectable viral load) chronic HCV infection of any genotype and degree of hepatic fibrosis. The patients were recruited from the hepatology units of the university hospitals Arnau de Vilanova and Santa María (Lleida, Spain) and entered the study before starting treatment with direct-acting antivirals. The control group included HCV⁻ patients with moderate-low cardiovascular risk (Systematic Coronary Risk Evaluation [SCORE] index <5%, SCORE charts for Low-Risk European populations).²¹ The control patients were recruited from a cardiovascular risk unit where they underwent arterial ultrasonography to diagnose subclinical atheromatosis (Detection and Treatment of Atherothrombotic Diseases Unit [UDETMA] of University Hospital Arnau de Vilanova of Lleida). The exclusion criteria for both groups were as follows: (1) age <30 or >75 years; (2) decompensated cirrhosis; (3) presence of hepatocellular carcinoma or other tumors; (4) chronic non-HCV liver disease (due to alcohol, hepatitis B virus, autoimmune disease or iron deposit); (5) HIV infection; (6) inflammatory disease or acute or chronic infection; (7) previous history of cardiovascular events according to the International Classification of Diseases-10th edition-Clinical Modification, (ICD10-CM) [(a) cerebrovascular disease: transient ischemic attack and/or stable stroke; (b) ischemic heart disease: acute myocardial infarction, unstable angina pectoris, arrhythmias and/or congestive heart failure; (c) peripheral arterial disease of the legs or aortic aneurysm]; (8) chronic renal failure (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration equation <60 mL/min/1.73 m²); (9) diagnosis of diabetes mellitus; (10) dyslipidemia treated with hypolipidemic agents; and (11) history of arterial hypertension undergoing treatment.

All patients signed an informed consent form before entering the study, which was approved by the ethics committee of the 2 hospitals involved.

Clinical and laboratory data

Clinical data were collected in a standardized interview in the follow-up consultation visit. We used blood samples under fasting conditions to measure the following serum parameters: glucose, total cholesterol (TC), LDL and HDL cholesterol, triglycerides, creatinine and C-reactive protein (CRP). We calculated the following lipid coefficients: non-HDL cholesterol (total cholesterol – HDL cholesterol), TG/HDL cholesterol (indicator of insulin resistance) and TC/HDL cholesterol (atherogenic index), performing all measurements in the same laboratory. The anthropometric measurements (weight and height) for calculating the body mass index (BMI) and blood pressure were recorded in the UDETMA before performing the arterial ultrasonography. Systolic and diastolic blood pressure was measured on 3 occasions in the seated position and after 10 min of rest, using an automatic pressure monitor (OMRON HEM-705 CP[®]). We recorded the mean of the last 2 measurements. The patients were also classified according to their history of tobacco use as smokers, former smokers or nonsmokers. The cardiovascular risk was calculated using SCORE risk charts.²¹ In the patient group with chronic hepatitis, we analyzed the HCV RNA viral load using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), with a detection limit of 12 IU/mL. We performed transient elastography (Fibroscan[®] [FS], Echosens, Paris, France) to assess the degree of hepatic fibrosis and classify it as follows: <7.5 kPa s – no fibrosis (F0–1); 7.6–9.5 kPa s – moderate fibrosis (F2); 9.6–12.5 kPa s – significant fibrosis (F3); and >12.5 kPa s – hepatic cirrhosis (F4).

Assessment of subclinical arterial atheromatosis

We determined the presence of atheromatous plaques in carotid and femoral territories using a General Electronic ultrasound (model Vivid-I[®]) with a 12L-SR vascular probe following a previously described standardized method.²² All images were captured and read by a single team, consisting of previously certified practitioners. The Kappa coefficient for intraobserver reliability was set at 1. Atheromatous plaque is defined as a focal structure that protrudes into the vascular lumen or an intima-media thickness (IMT) >1.5 mm, according to the Mannheim consensus.²³ We analyzed 12 vascular territories to diagnose the presence of atheromatous plaques. We examined carotid arteries (common, bifurcation, internal and external) and femoral arteries (common and superficial) bilaterally, using a single axial and longitudinal plane, with mode-B and color Doppler ultrasound. We defined subclinical atheromatosis as the presence of 1 or more plaques in any of the studied territories. In the patients without atheromatous plaques, we measured the carotid IMT (CIMT) in the distal segment of the artery, with the final value equal to the mean of the carotid territory.

Statistical analysis

The categorical variables are listed as frequencies and percentages and were compared using Pearson's chi-

Table 1 Characteristics of the study patients grouped by hepatitis C virus infection.

	HCV positive (N = 102)	Controls (N = 102)	p
Male sex	50 (49)	53 (52)	NS
Age, years	53.2 (31–75)	56.2 (32–75)	NS
Smoking habit			NS
Nonsmoker	30 (29.4)	37 (36.3)	
Smoker/ex-smoker	72 (70.6)	65 (63.7)	
BMI, kg/m ²	26.4 (4.1)	27.8 (5.1)	.024
SBP, mmHg	124 (16.2)	135 (20.8)	<.001
DBP, mmHg	73.7 (10.9)	79.1 (11.2)	<.001
Blood glucose, g/dL	94.2 (13.9)	96.5 (13.1)	NS
Creatinine, g/dL	0.7 (0.2)	0.8 (0.2)	<.001
Total cholesterol, mg/dL	167.7 (34.6)	206.2 (36.1)	<.001
Non-HDL cholesterol, mg/dL	114.1 (35.5)	145.8 (35.3)	<.001
LDL cholesterol, mg/dL	93.7 (31.3)	121.6 (35.3)	<.001
HDL cholesterol, mg/dL	53.5 (13.7)	60.4 (15.8)	.002
Triglycerides, mg/dL	102.9 (53.3)	121.5 (87.5)	NS
TG/HDL	2.1 (1.4)	2.3 (2.2)	NS
TC/HDL	3.2 (0.8)	3.6 (0.9)	.011
CRP, mg/dL	1.4 (2.3)	3.4 (3.7)	<.001
SCORE	1 (1.6)	2.4 (3.7)	<.001
CIMT ^a	0.89 (1.09)	0.76 (0.14)	NS
Atheromatous plaque	60 (58.8)	29 (28.4)	<.001
Viral load	2.4 × 10 ⁶ (13.2 × 10 ⁶)		
Hepatic fibrosis			
F1	22 (21.6)		
F2	24 (23.5)		
F3	26 (25.5)		
F4	30 (29.4)		

Abbreviations: CIMT, carotid intima-media thickness; CRP, C-reactive protein; DBP, diastolic blood pressure; HCV, hepatitis C virus; HDL, high-density lipoprotein; IMT, intima-media thickness; LDL, low-density lipoprotein; NS, not significant; SBP, systolic blood pressure; TC, total cholesterol; TG, triglycerides.

Quantitative variable: mean (SD, range).

Qualitative variable: n (%).

Significance threshold: $p < .05$.

^a CIMT: In patients who do not present atheromatous plaques (CIMT >1.5 mm).

squared test. The quantitative variables are listed as median and interquartile range (IQR) or mean and standard deviation (SD), depending on their distribution. We compared the normally distributed variables with Student's *t*-test and compared the non-normally distributed variables with the nonparametric Mann-Whitney *U* test. The variables that showed significant differences between the patients with and without atheromatous plaques were included in a backward stepwise conditional multiple logistic regression to predict the presence of atheromatous plaques. We employed a receiver operating characteristic (ROC) analysis to establish an age limit and determine the presence of plaques according to the study population's age, transforming the quantitative variable into a dichotomous variable according to the obtained cutoff values.

We studied the association of the changes in lipid profile according to the degree of hepatic fibrosis using an analysis of variance (ANOVA) and the presence of a correlation between the viral load and lipid levels using Spearman's *R*. Statistical significance was established by a bilateral α value

<0.05, and all analyses were performed using SPSS software (IBM Statistics for Windows, version 20.0; IBM Corp., Armonk, NY).

Results

Study population characteristics

The study sample included 204 patients: 102 in the HCV* group and 102 in the control group. Table 1 lists the clinical and laboratory data for both populations.

The study groups presented no statistically significant differences in terms of sex, age or history of tobacco use. The control group presented significantly higher values in most of the classical cardiovascular risk factors, including BMI, systolic and diastolic blood pressure and serum lipid profile. There were no significant differences in terms of glucose and triglyceride levels, TG/HDL coefficient or the indicator of insulin resistance, although the levels were, in all cases, higher for the control patients (96.5 vs. 94.2 mg/dL, $p = .888$; 121.5 vs. 102.9 mg/dL, $p = .070$; and 2.3 vs. 2.1,

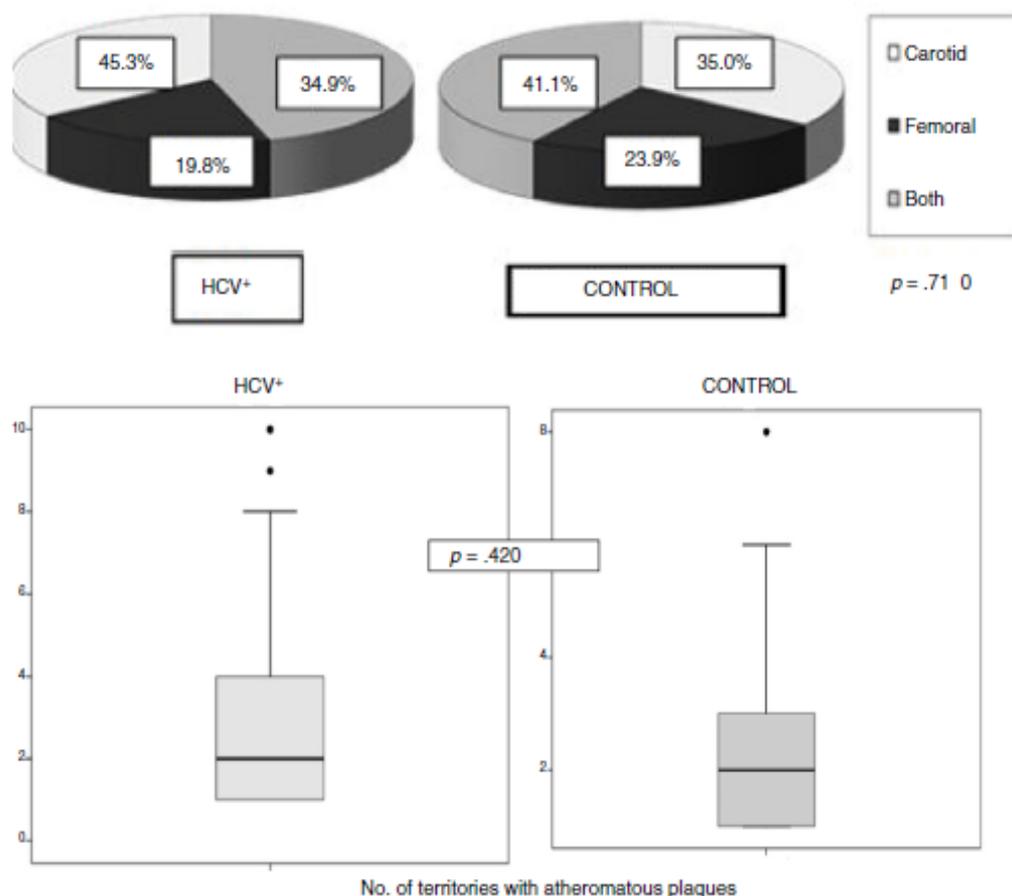


Figure 1 Distribution of atheromatous plaques depending on the affected territory and vascular load (number of atheromatous plaques) for each population.

$p = .449$). Additionally, the control patients presented significantly higher levels of serum creatinine and CRP and a higher cardiovascular risk index (SCORE), although the risk was low to moderate for both groups. Almost 55% of the patients with chronic HCV infection presented advanced liver disease (29.4% of whom had grade 4 cirrhosis or fibrosis measured by hepatic elastography). Some 67.2%, 6.7%, 9.7% and 16.4% were genotypes 1, 2, 3 and 4, respectively.

The percentage of patients with atheromatosis was significantly greater in the HCV+ group than in the control group (58.8 vs. 28.4%, $p < .001$), with no significant differences in the CIMT measured in the patients without atheromatosis (0.76 vs. 0.89 mm; $p = .18$), although the CIMT was greater in the patients with infection. In the control group, the plaques were distributed 35% in the carotid territory, 23.9% in the femoral territory and 41.1% in both territories, while the patients with HCV infection had a distribution of 45.3% in the carotid territory, 19.8% in the femoral territory and 34.9% in both vascular areas. The mean number of atheromatous plaques was 2.95 (1–10) in the patients with infection compared with 2.44 (1–8) in the patients without infection. There were no significant differences between the populations in terms of affected vascular territory ($p = .710$) or in the mean number of detected plaques ($p = .420$) (Fig. 1).

Table 2 analyzes the factors associated with the presence of atheromatous plaques in each of the study populations.

The presence of atheromatous plaques in both groups (with and without HCV infection) was associated in a statistically significant manner with the male sex, higher blood pressure readings, high triglyceride levels and a greater cardiovascular risk according to the SCORE charts. In terms of age, there was no association with the presence of atheromatous plaques in the patients with infection. In the control group, however, there was an association, such that the presence of plaques was associated with an older age (51.8 years in the control patients without atheromatosis vs. 67.3 years in the control patients with atheromatosis; $p < .001$). In terms of smoking, an association was detected in the patients with HCV ($p = .003$), with plaques more frequent in the smokers and ex-smokers (81.6%) but not in the control group ($p = .499$).

In terms of the lipid profile, the patients with HCV and plaques presented lower HDL cholesterol readings (57.6 vs. 50.9 mg/dL; $p = .023$) and higher triglyceride levels (89.3 vs. 112.6 mg/dL; $p = .029$), TG/HDL coefficient (1.7 vs. 2.3; $p = .026$) and TC/HDL coefficient (3 vs. 3.4; $p = .035$) than the patients with infection but no plaques. There was no significance for these lipid factors between the control patients with or without atheromatous plaques.

In terms of the viral factors in the patients with HCV infection, we found no association between the presence of plaques and the viral load quantified by RNA ($p = .936$),

Table 2 Factors associated with the presence of atheromatous plaques in the study populations.

	Patients with HCV			Control patients		
	Without plaques (N = 42)	With plaques (N = 60)	<i>p</i> ^a	Without plaques (N = 73)	With plaques (N = 29)	<i>p</i> ^a
Male sex	10 (23.8)	40 (66.6)	<.001	33 (45.2)	20 (68.9)	.03
Age, years	51.6 (31–74)	54.2 (34–75)	NS	51.8 (32–75)	67.3 (37–75)	<.001
Smoke/ex-smoker	23 (54.7)	49 (81.6)	.003	48 (65.7)	17 (58.6)	NS
BMI, kg/m ²	26 (3.7)	26.6 (4.3)	NS	27.8 (5.6)	27.9 (3.7)	NS
SBP, mmHg	119.2 (18.1)	127.4 (13.9)	.011	130.1 (20.3)	147.2 (16.6)	<.001
DBP, mmHg	72.9 (11.8)	74.2 (10.4)	NS	77.3 (11.5)	83.7 (8.7)	.003
Blood glucose, g/dL	90.6 (9.4)	96.7 (16.1)	.029	95.7 (13.8)	98.6 (11.1)	NS
Creatinine, g/dL	0.7 (0.1)	0.8 (0.2)	NS	0.8 (0.2)	0.9 (0.1)	NS
Total cholesterol, mg/dL	167 (32.9)	168.1 (36)	NS	206.2 (38.5)	206 (29.5)	NS
Non-HDL cholesterol, mg/dL	110.9 (31.1)	116.2 (33.5)	NS	144.3 (37.8)	149.5 (28.1)	NS
LDL cholesterol, mg/dL	91.4 (30.1)	95.3 (32.3)	NS	122.2 (33.2)	120 (25.7)	NS
HDL cholesterol, mg/dL	57.6 (13.1)	50.9 (13.6)	.023	61.9 (16.6)	56.5 (12.8)	NS
Triglycerides, mg/dL	89.3 (36.3)	112.6 (61.1)	.029	106.4 (54)	159 (134.2)	.047
TG/HDL	1.7 (0.8)	2.3 (1.6)	.026	1.9 (1.3)	3.2 (3.4)	NS
TC/HDL	3 (0.8)	3.4 (0.8)	.035	3.5 (0.9)	3.8 (0.9)	NS
CRP, mg/dL	1.2 (1.5)	1.6 (2.8)	NS	3.1 (3.1)	4.1 (4.8)	NS
SCORE	0.5 (1)	1.4 (1.8)	.007	1.2 (2.1)	5.3 (3.7)	<.001
Viral load	2.5 × 10 ⁶ (3.4 × 10 ⁶)	2.4 × 10 ⁶ (3.1 × 10 ⁶)	NS			
Hepatic fibrosis						
F1	14 (33.3)	8 (13.3)				
F2	5 (11.9)	19 (31.7)				
F3	13 (31)	13 (21.7)				
F4	10 (23.8)	20 (33.3)	.016			

Abbreviations: BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; CT, total cholesterol; DBP, diastolic blood pressure; HCV, hepatitis C virus; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; NS, not significant; SBP, systolic blood pressure; TG, triglycerides. Quantitative variable: mean (SD, range).

Qualitative variable: *n* (%).

Significance threshold: *p* < .05.

^a Chi-squared test for categorical variables and Student's *t*-test/Mann-Whitney *U* test for the quantitative variables.

but there were significant differences with the degree of hepatic fibrosis, with the presence of plaques occurring more frequently in the patients with advanced fibrosis (F4 without atheromatosis [23.8%] vs. F4 with atheromatosis [33.3%], *p* = .016).

We analyzed the age, according to the ROC analysis, and an age older than 54 years was the best cut-off for predicting the presence of atheromatous plaques (AUC, 0.682; standard error, 0.039; 95% CI 0.6–0.7; 67% sensitivity; 60% specificity). Below this cutoff (<54 years), the percentage of patients with atheromatous plaques was 57% in the HCV⁺ group and 4% in the control group (*p* < .001). In the patients 54 years of age or older, the rate of atheromatosis increased to 61% in the HCV⁺ group and to 50% in the control group, without significant differences in this age group between the populations (*p* = .252). In the age group younger than 54 years, the HCV⁺ patients had a much higher probability of atheromatosis than the control group (OR, 30; 95% CI 6.58–136.67; *p* < .001) (Fig. 2).

Factors associated with subclinical atheromatosis

Table 3 lists the clinical characteristics of the patients with and without subclinical atheromatosis. Chronic HCV

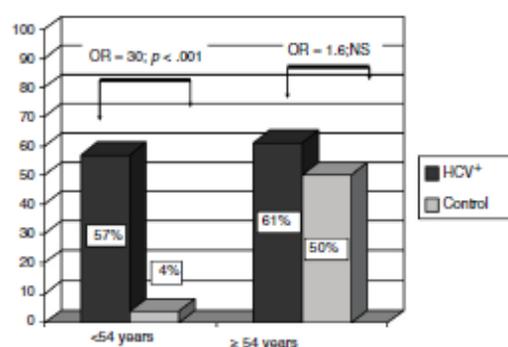


Figure 2 Presence of atheromatous plaques according to age group (younger or older than 54 years) and study population.

infection was significantly associated with the presence of subclinical atheromatosis, as were the classical cardiovascular risk factors such as male sex, advanced age, systolic blood pressure, high scores on SCORE, low serum HDL cholesterol levels and higher triglyceride levels. Chronic HCV infection was also associated with increased TG/HDL quotients. The presence of atheromatous plaques was not

Table 3 Study Patient Characteristics, Grouped by the Presence of Atheromatous Plaques Bivariate comparison and multivariate analysis (conditional logistic stepwise regression).

	Patients without atheromatous plaques (N = 115)	Patients with atheromatous plaques (N = 89)	p ^a	Multivariate analysis	
				OR (95% CI)	p
Male sex	43 (37.4)	60 (67.4)	<.001	4.32 (1.9–9.5)	<.001
Age, years	51.7 (31–75)	58.6 (34–75)	<.001	1.12 (1.1–1.2)	<.001
Chronic HCV infection	42 (36.5)	60 (67.4)	<.001	14.37 (5.5–37.3)	<.001
Smoking habit			NS		
Nonsmoker	44 (38.3)	23 (25.8)			
Smoker/ex-smoker	71 (61.7)	66 (74.2)			
BMI, kg/m ²	27.1 (5.1)	27 (4.1)	NS		
SBP, mmHg	126.1 (20.2)	133.9 (17.5)	.004		NS
DBP, mmHg	75.7 (11.8)	77.3 (10.8)	NS		
Blood glucose, g/dL	93.8 (12.6)	97.3 (14.6)	NS		
Creatinine, g/dL	0.8 (0.2)	0.8 (0.2)	NS		
Total cholesterol, mg/dL	191.9 (41.1)	180.5 (38.3)	NS		
Non-HDL cholesterol, mg/dL	133.5 (38.9)	128 (35.4)	NS		
LDL cholesterol, mg/dL	112.2 (35.2)	104.1 (32.3)	NS		
HDL cholesterol, mg/dL	60.5 (15.6)	52.9 (13.5)	<.001		NS
Triglycerides, mg/dL	100.1 (48.8)	127.9 (93.4)	.012		NS
TG/HDL	1.9 (1.2)	2.6 (2.4)	.007	1.34 (1.1–1.6)	.007
TC/HDL	3.3 (0.9)	3.5 (0.9)	NS		
CRP, mg/dL	2.5 (2.8)	2.5 (3.8)	NS		
SCORE	0.9 (1.8)	2.7 (3.2)	<.001		NS

Abbreviations: BMI, body mass index; CI, confidence interval; CRP, C-reactive protein; CT, total cholesterol; DBP, diastolic blood pressure; HCV, hepatitis C virus; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; NS, not significant; OR, odds ratio; SBP, systolic blood pressure; TG, triglycerides.

Quantitative variable: mean (SD, range).

Qualitative variable: n (%).

Significance threshold: $p < .05$.

^a Chi-squared test for categorical variables and Student's *t*-test/Mann-Whitney *U* test for the quantitative variables.

associated with BMI, glucose levels or CRP values. There was also no association with the lipid profile consisting of total cholesterol, LDL and non-HDL cholesterol nor with the atherogenic index (TC/HDL).

The multivariate analysis revealed a much higher probability of atheromatosis in the HCV⁺ patients than in the control group (OR, 14.37; 95% CI 5.5–37.5; $p < .001$) (Table 3). Other independent risk factors for subclinical atheromatosis included male sex, advanced age and an increased TG/HDL coefficient or indirect indicator of insulin resistance. Neither systolic blood pressure nor the lipid profile contributed to the predictive model for the presence of atheromatous plaques.

Description of the lipid profile according to the degree of hepatic fibrosis in the patients with HCV in terms of the presence of atheromatous plaques

We analyzed the lipid profile of the patients with HCV and with and without atheromatosis, taking into account the degree of hepatic fibrosis measured by elastography.

In the patients with HCV without atheromatosis, there were no significant differences in any of the classical lipid

profile values, the coefficients indicative of insulin resistance (TG/HDL) or the atherogenic factor (TC/HDL) (Fig. 3a and b).

In the patients with HCV and atheromatosis (Fig. 3c and d), there were significant differences in total cholesterol ($p = .018$), non-HDL cholesterol ($p = .002$) and LDL cholesterol levels ($p = .002$), as well as in the atherogenic index (TC/HDL) ($p = .001$), with an increasing trend as the hepatic fibrosis progressed and decreasing significantly in the presence of cirrhosis. There were no changes in HDL cholesterol or triglyceride levels, TG/HDL coefficient or the degree of fibrosis in the presence of atheromatous plaques.

When analyzing the correlation between the viral load and lipid profile, we detected only a slight association between HCV RNA and non-HDL cholesterol levels ($r = 0.219$; $p = .04$) and no association with any other analytical parameter.

Discussion

This observational study analyzed the presence of atheromatosis in patients with and without chronic HCV infection and found that the patients with infection had a greater

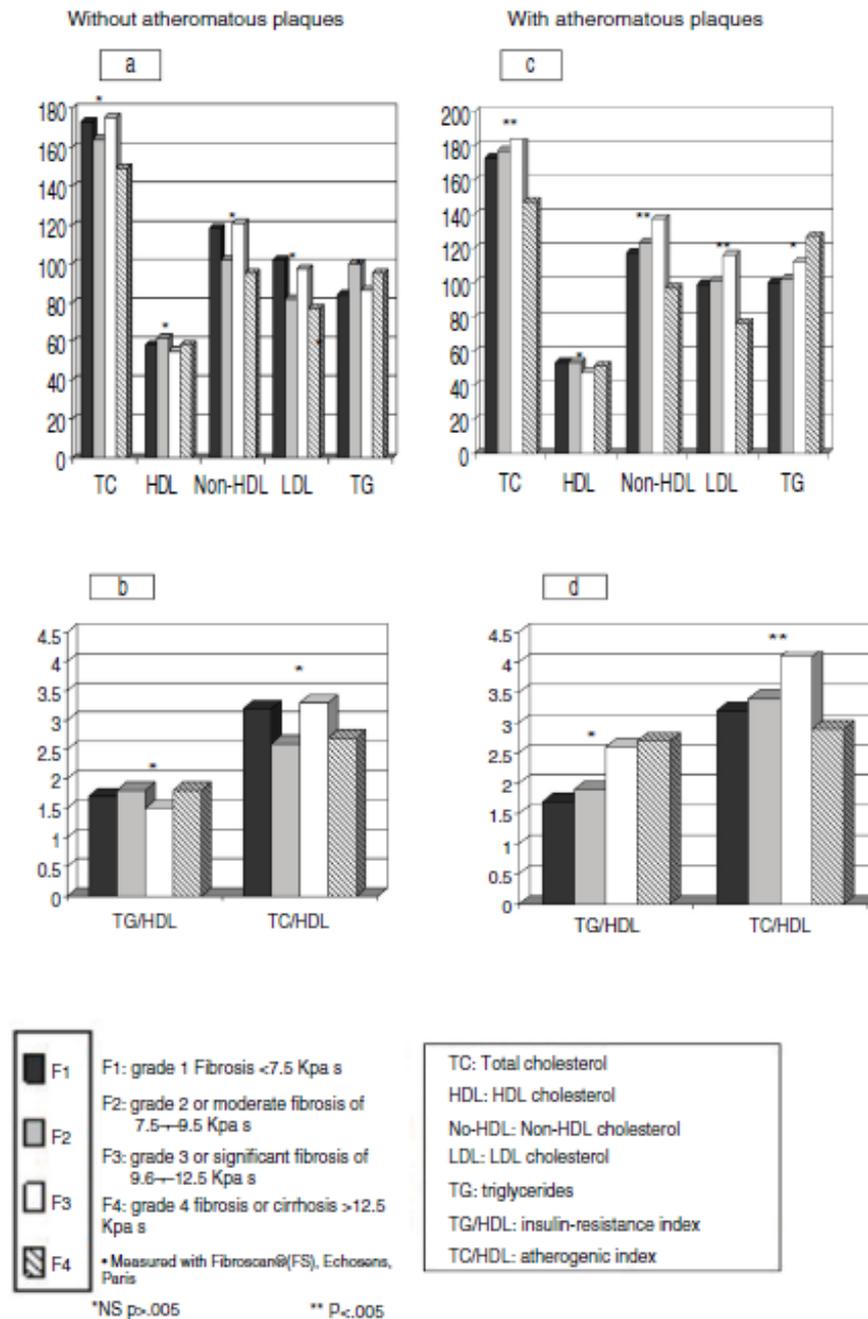


Figure 3 Modification of the lipid profile according to the degree of hepatic fibrosis in the patients with HCV and the presence or absence of atheromatous plaques.

presence of subclinical atheromatosis and at a younger age than the controls.

Our results agree with those recently published in 2 meta-analyses that reported a greater presence of atheromatosis in populations with HCV infection (between 38% and 65%).^{5,6} In these studies, the atheromatous plaques were identified by vascular Doppler ultrasonography, and the diagnosis was established with a CIMT value >1.3 mm.²⁰ In our study, we followed the Mannheim criteria for diagnosing atheromatosis, defining the plaque as an CIMT >1.5 mm. One of

the possible reasons for our higher rates was the expansion of the femoral study, which increased the probability of detecting atheromatosis. The presence of atheromatosis in the femoral territory in the absence of carotid plaques has been reported in the general population.²⁴ We also analyzed various viral genotypes that have not been evaluated in previously published studies,²⁰ although genotype 3 is known to produce more metabolic disorders than the other genotypes.^{25,26} Although the presence of plaques was greater in the patients with infection, these patients had a

low cardiovascular risk index according to the SCORE European Risk Charts. Several populational studies have shown an association between the presence of plaques in peripheral arteries and the incidence of cardiovascular events, even in patients without previous events (1.8-fold increased risk of coronary events and 4.1-fold increased risk of cardiovascular events).^{27,28} In line with these publications, the presence of atheromatous plaques in our population was not associated with classical cardiovascular risk factors such as BMI, blood glucose and dyslipidemia.

Our study involved the first Spanish patient cohort monoinfected with chronic HCV, although it has a number of limitations intrinsic to a cross-sectional design and a selection bias in the control patients, given that they belonged to a patient group from a cardiovascular risk office. To minimize this bias, we limited the selection criteria to patients with a low to moderate risk (<5% probability of experiencing cardiovascular events at 10 years), with no previous cardiovascular disease and who were not taking drugs for hypertension or dyslipidemia. We excluded patients with diabetes and chronic kidney disease to avoid confounding factors. A number of publications have indicated that HCV promotes the development of diabetes and chronic renal failure, which predisposes patients to the presence of atheromatous lesions.¹⁶ Another confounding factor could be the larger presence of ex-smokers and active smokers among those patients with HCV plaques, as could the differences between the degree of hepatic fibrosis in the patients with and without plaques. As shown by the multivariate analysis, however, neither tobacco nor fibrosis affected the development of atheromatous plaques. There was, however, a high association (OR, 14.37) of HCV per se.

Based on these results, we identified chronic HCV infection as an independent risk factor for atheromatosis, with no influence from other classical cardiovascular factors, which suggests a direct role of HCV in the development of atheromatous lesions. Recent studies have shown the presence of HCV RNA in carotid plaques^{14,15} and due to the proinflammatory environment that the virus induces.⁴⁻¹² In our study, CRP levels (a widely accepted marker of cardiovascular risk and systemic inflammation for the population²²) showed no significant differences between the two groups, although hepatic synthesis proteins such as CRP can be altered in patients with chronic liver disease. We also detected the presence of atheromatosis in the population with HCV, which develops at an earlier age than in the group without HCV infection. Below 54 years of age, there were significant differences in the presence of plaques in the patients with infection compared with the controls (Fig. 2). This finding suggests that the patients with HCV infection have accelerated atheromatosis or premature vascular aging, similar to that observed in other chronic inflammatory and autoimmune diseases.²⁹ In addition to age and HCV infection, the male sex and TG/HDL coefficient (indirect marker of insulin-resistance) were the only factors significantly associated with the presence of atheromatosis. This coefficient is a predictive indicator of cardiovascular disease, used as a marker of atherogenesis in the general population. Although there are few data, its predictive value in heart disease is high.³⁰ The coefficient is also a good marker of atherogenesis in the population with

infection, because it does not change significantly with the progression of the liver disease or with the viral load.

In this study, we analyzed the changes in lipid profile in the various stages of liver disease progression measured by elastography (Fig. 3) and detected that, in the patients with infection but without atheromatous plaques, there were no differences in terms of serum lipid levels and hepatic fibrosis. In the patients with HCV and atheromatosis, the most atherogenic particles (composed of LDL and VLDL), which are the main transporters of HCV in plasma, increased as the fibrosis progressed and decreased significantly once hepatic cirrhosis was established. These more atherogenic particles are weakly correlated with the viral load, without no association with the development of atheromatous plaques, which could be due to the fluctuation in the viremia time or to the fact that these values depend on the progression of the hepatic fibrosis, decreasing in stages of cirrhosis.

In summary, our results show that the patients with chronic HCV infection had a greater prevalence of subclinical atheromatosis than the population without infection, with an early age at onset (accelerated atheromatosis). The metabolic profile and cardiovascular risk assessment using classical charts are not good predictors, because most of these patients had low risk SCORES and a "low-risk" lipid profile (lower non-HDL cholesterol and LDL cholesterol readings). These results support the need for additional non-invasive cardiovascular tests for routine use, such as arterial ultrasonography, which could improve the risk stratification for this population.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank the entire UDETMA team for performing the arterial ultrasounds for detecting subclinical atheromatosis.

References

1. World Health Organization. Hepatitis C. n.d. Available from: <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/communicable-diseases/hepatitis> [accessed 2018].
2. Bruguera M, Forns X. Hepatitis C en España. *Med Clin (Barc)*. 2006;127:113-7.
3. Dai CY, Chuang WL, Ho CK, Hsieh MY, Huang JF, Lee LP, et al. Associations between hepatitis C viremia and low serum triglyceride and cholesterol levels: a community-based study. *J Hepatol*. 2008;49:9-16.
4. Zampino R, Marrone A, Restivo L, Guerrero B, Sellitto A, Rinaldi L, et al. Chronic HCV infection and inflammation: clinical impact on hepatic and extra-hepatic manifestations. *World J Hepatol*. 2013;5:528-40, doi:10.4254/wjh.v5.i10.528.
5. Huang H, Kang R, Zhao Z. Is hepatitis C associated with atherosclerotic burden? A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*. 2014;9:e106376, doi:10.1371/journal.pone.0106376.
6. Petta S, Maida M, Macaluso FS, Barbara M, Licata A, Craxi A, et al. Hepatitis C virus infection is associated with increased cardiovascular mortality: a meta-analysis of

- observational studies. *Gastroenterology*. 2016;150:145–55.e4, doi:10.1053/j.gastro.2015.09.007.
7. Adinolfi LE, Restivo L, Guerrero B, Sellitto A, Ciervo A, Iuliano N, et al. Chronic HCV infection is a risk factor of ischemic stroke. *Atherosclerosis*. 2013;231:22–6, doi:10.1016/j.atherosclerosis.2013.08.003.
 8. Petta S, Macaluso FS, Craxì A. Cardiovascular diseases and HCV infection: a simple association or more? *Gut*. 2014;63:369–75, doi:10.1136/gutjnl-2013-306102.
 9. Wong RJ, Kanwal F, Younossi ZM, Ahmed A. Hepatitis C virus infection and coronary artery disease risk: a systematic review of the literature. *Dig Dis Sci*. 2014;59:1586–93, doi:10.1007/s10620-014-3222-3.
 10. Mostafa A, Mohamed MK, Saeed M, Hasan A, Fontanet A, Godslund I, et al. Hepatitis C infection and clearance: impact on atherosclerosis and cardiometabolic risk factors. *Gut*. 2010;59:1135–40, doi:10.1136/gut.2009.202317.
 11. Bilora F, Campagnolo E, Rinaldi R, Rossato A, Arzenton M, Petrobelli F. Carotid and femoral atherosclerosis in chronic hepatitis C: a 5-year follow-up. *Angiology*. 2008;59:717–20, doi:10.1177/0003319707311536.
 12. Voulgaris T, Sevastianos VA. Atherosclerosis as extrahepatic manifestation of chronic infection with hepatitis C virus. *Hepat Res Treat*. 2016;2016:7629318, doi:10.1155/2016/7629318.
 13. Del Campo JA, Romero-Gomez M. Modulation of host lipid metabolism by hepatitis C virus: role of new therapies. *World J Gastroenterol*. 2015;21:10776–82.
 14. Ishizaka Y, Ishizaka N, Takahashi E, Unuma T, Tooda E, Hashimoto H, et al. Association between hepatitis C virus core protein and carotid atherosclerosis. *Circ J*. 2003;67:26–30, doi:10.1253/circj.67.26.
 15. Boddi M, Abbate R, Chellini B, Giusti B, Solazzo V, Soft F, et al. HCV infection facilitates asymptomatic carotid atherosclerosis: preliminary report of HCV RNA localization in human carotid plaques. *Dig Liver Dis*. 2007;39 Suppl. 1:555–60.
 16. Fukui M, Kitagawa Y, Nakamura N, Yoshikawa T. Hepatitis C virus and atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *JAMA*. 2003;289:1245–6.
 17. Adinolfi LE, Zampino R, Restivo L, Lonardo A, Guerrero B, Marrone A, et al. Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: clinical impact and mechanisms. *World J Gastroenterol*. 2014;20:3410, doi:10.3748/wjg.v20.i13.3410.
 18. Ishizaka N, Ishizaka Y, Yamkado M. Atherosclerosis as a possible extrahepatic manifestation of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Med Insights Cardiol*. 2014;8:1–5, doi:10.4137/CMC.S17069.
 19. Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Tooda E, Hashimoto H, Nagai R, et al. Association between hepatitis C virus seropositivity, carotid-artery plaque, and intima-media thickening. *Lancet*. 2002;359:133–5, doi:10.1016/S0140-6736(02)07339-7.
 20. Petta S, Torres D, Fazio G, Cammà C, Cabibi D, di Marco V, et al. Carotid atherosclerosis and chronic hepatitis C: a prospective study of risk associations. *Hepatology*. 2012;55:1317–23, doi:10.1002/hep.25508.
 21. Conroy R, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, de Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J*. 2003;24:987–1003.
 22. Junyent M, Martínez M, Borràs M, Coll B, Valdivielso JM, Vidal T, et al. Predicting cardiovascular disease morbidity and mortality in chronic kidney disease in Spain. The rationale and design of NEFRONA: a prospective, multicenter, observational cohort study. *BMC Nephrol*. 2010;11:14, doi:10.1186/1471-2369-11-14.
 23. Touboul P-J, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarencu P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004–2006). *Cerebrovasc Dis*. 2006;23:75–80.
 24. Fernández-Friera L, Peñalvo JL, Fernández-Ortiz A, Ibañez B, López-Melgar B, Laclaustra M, et al. Prevalence, vascular distribution, and multiterritorial extent of subclinical atherosclerosis in a middle-aged cohort: the PESA (Progression of Early Subclinical Atherosclerosis) Study. *Circulation*. 2015;131:2104–13.
 25. Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, Boyer N, Ripault MP, et al. Insulina resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2008;134:416–23.
 26. Abenavoli L, Masarone M, Peta V, Milic N, Kobylak N, Rouabhi S, et al. Insulin resistance and liver steatosis in chronic hepatitis C infection genotype 3. *World J Gastroenterol*. 2014;20:15233–40.
 27. Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, et al. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk In Communities) study. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1600–7.
 28. Baldassarre D, Hamsten A, Veglia F, de Faire U, Humphries SE, Smit AJ, et al. Measurements of carotid intima-media thickness and of interadventitia common carotid diameter improve prediction of cardiovascular events: results of the IMPROVE (Carotid Intima Media Thickness [IMT] and IMT-Progression as Predictors of Vascular Events in a High Risk European Population) study. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60:1489–99.
 29. Roman MJ, Shanker B-A, Davis A, Lockshin MD, Sammaritano L, Simantov R, et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2003;349:2399–406.
 30. Cordero A, Laclaustra M, Leon M, Grima A, Casasnovas J, Luengo E, et al. Prehypertension is associated with insulin resistance state and not with an initial renal function impairment. A Metabolic Syndrome in Active subject in Spain (MESYAS) Registry substudy. *Am J Hypertens*. 2006;19:189–96.



ORIGINAL

El tratamiento antiviral no mejora la ateromatosis subclínica en pacientes con hepatitis crónica por virus de la hepatitis C

Tamara Revuelto Artigas^{a,b,c,d,*}, Àngels Betriu Bars^{c,d},
Natividad Zaragoza Velasco^{b,c,d}, Xavier Gómez Arbones^{d,e},
Teresa Vidal Ballester^c, Carme Piñol Felis^{d,e} y Josep Maria Reñé Espinet^{b,d,e}

^a Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Santa María, Lleida, España

^b Servicio de Aparato Digestivo, Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida, España

^c Unidad de Detección y Tratamiento de Enfermedades Aterotrombóticas (UDETMA), Hospital Universitario Arnau de Vilanova (Grupo de Investigación Translacional vascular y renal, IBRLleida), Lleida, España

^d Instituto de Investigación Biomédica, Lleida, España

^e Universidad de Lleida (UdL), Lleida, España

Recibido el 30 de noviembre de 2018; aceptado el 19 de febrero de 2019

PALABRAS CLAVE

Virus de la hepatitis C;
Placa de ateroma;
Antivirales de acción directa

Resumen

Introducción: La infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) es un factor de riesgo para desarrollar placas de ateroma, aunque se desconoce el posible efecto al eliminar el virus. Nuestro objetivo fue analizar si tras 12 meses de la erradicación del VHC por antivirales de acción directa (AAD) mejoraba la ateromatosis subclínica y existía modificación en la composición de las placas.

Materiales y métodos: Estudio prospectivo que incluyó 85 pacientes con infección crónica por VHC en diferentes estadios de fibrosis, sometidos a AAD. Se excluyeron pacientes con antecedentes cardiovasculares, diabetes y enfermedad renal. Se realizó ecografía arterial (carótidas y femorales) para diagnosticar placa de ateroma (definida como grosor íntima-media $\geq 1,5$ mm) y se analizó su composición (porcentaje de lípidos, fibrosis y calcio con software HEMODYN4) al inicio del estudio y tras 12 meses de finalizar la terapia.

Resultados: Tras el seguimiento no se detectaron cambios en el grosor íntima-media (0,65 mm vs. 0,63 mm, $p=0,240$) ni en la presencia de placas (65,9% vs. 71,8%, $p=0,063$). Tampoco hubo modificación significativa en la composición de las mismas ni del territorio vascular afecto, observándose un aumento del perfil lipídico en sangre ($p < 0,001$) tras 12 meses del tratamiento. Estos resultados se confirmaron en subgrupos por gravedad de enfermedad hepática.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: tamararevuelto@gmail.com (T. Revuelto Artigas).

KEYWORDS

Hepatitis C virus;
Atheroma plaque;
Direct-acting
antiviral agents

Discusión: La erradicación del VHC por AAD no mejora las placas de ateroma ni varía su composición, independientemente de la fibrosis hepática. Se precisan más estudios prospectivos que evalúen el riesgo residual cardiovascular tras la erradicación viral.

© 2019 Publicado por Elsevier España, S.L.U.

Antiviral treatment does not improve subclinical atheromatosis in patients with chronic hepatitis caused by hepatitis C virus

Abstract

Introduction: Chronic infection with hepatitis C virus is a risk factor for developing atherosclerotic plaques, although the possible effect of virus clearance is unknown. Our aim was to determine whether or not subclinical atheromatosis improved and there was any modification in the composition of the plaques 12 months after eradication of hepatitis C virus by direct-acting antiviral agents.

Materials and methods: Prospective study that included 85 patients with chronic hepatitis C virus infection in different stages of fibrosis who were on direct-acting antiviral agents. Patients with a cardiovascular history, diabetes and kidney disease were excluded. An arterial ultrasound (carotid and femoral) was performed to diagnose atherosclerotic plaques (defined as intima-media thickness ≥ 1.5 mm) and the composition (percentage of lipids, fibrosis and calcium with HEMODYN4 software) was analysed at the beginning of the study and 12 months after stopping the therapy.

Results: After follow-up no changes were detected in the intima-media thickness (0.65 mm vs. 0.63 mm, $P = .240$) or in the presence of plaques (65.9% vs 71.8%, $P = .063$). There was also no significant change in their composition or affected vascular territory, with an increase in blood lipid profile ($P < .001$) after 12 months of treatment. These results were confirmed in subgroups by severity of liver disease.

Discussion: The eradication of hepatitis C virus by direct-acting antiviral agents does not improve the atherosclerotic plaques and nor does it vary their composition, regardless of liver fibrosis. More prospective studies are needed to evaluate residual cardiovascular risk after virus eradication.

© 2019 Published by Elsevier España, S.L.U.

Introducción

El virus de la hepatitis C (VHC) continúa siendo una enfermedad prevalente en el mundo, de 2,3% a 1,5% según la distribución geográfica. Los nuevos antivirales de acción directa (AAD) obtienen tasas de respuesta viral sostenida (RVS) del 95-99%¹. En España, desde la implantación del Plan Estratégico Nacional para el abordaje de la hepatitis C en 2015, alrededor de unos 100.000 pacientes han conseguido eliminar el virus².

La infección crónica por VHC no solo produce mayor riesgo de mortalidad y complicaciones por la afectación hepática, sino también por las manifestaciones extrahepáticas³. Múltiples estudios destacan que los pacientes infectados por VHC presentan mayor número de manifestaciones relacionadas con disfunción del sistema inmune y alteraciones metabólicas en comparación con la población sin infección⁴.

En los últimos años se ha publicado que la infección por VHC provoca mayor riesgo de arteriosclerosis carotídea, enfermedad arterial periférica, coronaria, eventos cerebrovasculares y mortalidad cardiovascular⁵⁻⁷. Estos datos se han contrastado en un reciente metaanálisis, que respalda una

posible asociación entre la infección por VHC y el riesgo de enfermedad cardiovascular; sin embargo, se requiere una mejor comprensión de esta asociación, dado la heterogeneidad de los estudios⁸.

Actualmente, las enfermedades cardiovasculares representan uno de los principales motivos de morbimortalidad, por lo que se precisa del estudio vascular ecográfico para conocer el riesgo cardiovascular en cada población. El grosor de la capa íntima-media (GIM) y la presencia de placas en las arterias carótidas y femorales son marcadores subclínicos de arteriosclerosis, y se consideran predictores independientes de eventos cardiovasculares⁹. Otro predictor es la vulnerabilidad de la placa¹⁰ medida por el área de la placa o el grado de estenosis, y la composición o mediana de los niveles de grises ecográfica de la placa. Está aceptado que placas oscuras y homogéneas suponen presencia de lípidos y que representan placas más vulnerables¹¹.

Los mecanismos aterogénicos del VHC no son del todo conocidos, pero parecen estar relacionados con el estado de inflamación crónica sistémica y el efecto patógeno del virus sobre los vasos^{12,13}. El estrés oxidativo que genera el VHC modifica las lipoproteínas de baja densidad, depositándolas más fácilmente en las paredes arteriales, disminuyendo los

niveles séricos de colesterol¹⁴, por lo que estos pacientes desarrollan arteromatosis sin presentar el patrón clásico de dislipidemia¹⁵.

Estos mecanismos, diferentes a los de la población general, podrían modificar la composición de las placas de ateroma en los pacientes infectados por VHC, aunque por el momento no existen estudios al respecto. Diferentes publicaciones en población general, defienden que las placas fibro-calcificadas son más estables, mientras que las placas lipídicas son más vulnerables, y provocan con mayor frecuencia eventos cardiovasculares^{9-11,16-20}. También se ha detectado que las placas lipídicas revierten más fácilmente con tratamiento hipolipidemiante intensivo, disminuyendo el core lipídico, que las placas fibro-calcificadas²¹.

El uso de fármacos AAD eficaces y seguros para la curación de VHC plantea la cuestión de si la erradicación del virus también puede mejorar las manifestaciones cardiovasculares. La mayoría de los datos disponibles son de pacientes tratados con terapias basadas en interferón (IFN), y sugieren que la respuesta viral sostenida reduce el riesgo cardiovascular²²⁻²⁵, aunque el diseño de estos estudios no permite discernir si este efecto se debe a la eliminación del virus o al propio uso del IFN, existiendo sesgos en estos resultados.

Con el fin de resolver esta cuestión realizamos este estudio, donde evaluamos el impacto tras 12 meses de obtención de RVS del VHC sobre las placas de ateroma, tanto en territorio vascular carotídeo como femoral en una cohorte de pacientes con hepatitis crónica C que se trataron con AAD, estratificando el efecto según la gravedad de la enfermedad hepática y los diferentes factores de riesgo cardiovascular. También analizamos la composición de las placas detectadas por escala de grises ecográfica, y valoramos si se produjo alguna modificación del porcentaje de lípidos, fibrosis y calcio tras la curación del virus.

Pacientes y métodos

Se trata de un estudio prospectivo realizado en 2 hospitales de Lleida (Hospital Universitario Arnau de Vilanova y Hospital Universitario de Santa María) en colaboración con la Unidad de Detección y Tratamiento de Enfermedades Aterotrombóticas (UDETMA) del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida durante el periodo de 2015 a 2018.

Inicialmente se incluyeron 185 pacientes con infección crónica por VHC que no tenían criterios de exclusión para el estudio expuestos en el párrafo inferior. Estos pacientes se trataron con antivirales de acción directa según los protocolos *European Association Study of Liver*²⁶, Asociación Española para el Estudio del Hígado²⁷ y la guía de tratamiento del VHC del Institut Català de Salut²⁸ vigentes durante el estudio (2015-2018). Tras el periodo de seguimiento (12 meses tras la curación del virus con el tratamiento) solo 85 pacientes (un 45% de la muestra inicial) se realizaron la segunda ecografía vascular. Aunque hubo pérdidas en el seguimiento, se mantuvieron similares las características de los pacientes en cuanto a factores de riesgo CV, genotipo viral y gravedad de la enfermedad hepática. Se confirmó la presencia de infección crónica por VHC con anticuerpos antiVHC y ARN del virus (ARN VHC:

reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa con límite de detección de 12 IU/ml) de cualquier genotipo y grado de fibrosis hepática. Las mediciones de ARN del VHC se repitieron después de 4 semanas de terapia, al final de la misma y a las 12 semanas de concluir el tratamiento. La RVS se definió como el ARN del VHC indetectable después de 12 semanas del final la terapia con AAD.

Los criterios de exclusión incluyeron: 1) edad < 30 o > 75 años; 2) cirrosis descompensada; 3) presencia de carcinoma hepatocelular u otros tumores; 4) enfermedad hepática crónica no VHC (por alcohol, virus de la hepatitis B, enfermedad autoinmune o por depósito de hierro); 5) infección por el VIH; 6) enfermedad inflamatoria o infecciosa aguda o crónica; 7) antecedentes de eventos cardiovasculares previos según la Clasificación Internacional de Enfermedades, 10.^a revisión (ICD10-CM): —a) enfermedad cerebrovascular: ataque isquémico transitorio y/o accidente cerebrovascular estable; b) enfermedad cardíaca isquémica: infarto agudo de miocardio, angina de pecho inestable, arritmias y/o insuficiencia cardíaca congestiva; y c) enfermedad arterial periférica de las extremidades inferiores o aneurisma aórtico—; 8) insuficiencia renal crónica (ecuación CKD-EPI < 60 ml/min/1,73 m²); 9) diagnóstico de diabetes mellitus; 10) pacientes con dislipidemia tratados con hipolipidiantes; y 11) antecedentes de hipertensión arterial en tratamiento.

El estudio fue evaluado y aprobado por el comité de ética de los hospitales participantes, y todos los pacientes firmaron el consentimiento informado del mismo.

Datos clínicos y analíticos

Los datos clínicos y analíticos de los pacientes se recogieron en la consulta de hepatología, antes y tras 12 meses de finalizar el tratamiento antiviral de acción directa.

Se utilizaron muestras de sangre en ayunas para medir los siguientes parámetros séricos: glucosa, colesterol total (CT), colesterol LDL y HDL, triglicéridos (TG), creatinina y transaminasas hepáticas (AST y ALT). Se calcularon los coeficientes lipídicos: colesterol no HDL (colesterol total- HDL colesterol), TG/HDL colesterol (indicador de resistencia a la insulina) y CT/HDL colesterol (índice aterogénico), realizando todas las determinaciones antes y después del tratamiento en el mismo laboratorio. Se detectó el ARN del VHC (RT-PCR: límite 12 IU/ml) y el genotipo del virus (INNO-liPA HVC II, Bayer[®]). A todos los pacientes se les realizó elastografía de transición (Fibroscan[®], Echosens, Paris, Francia) para valorar el grado de fibrosis hepática clasificándolo según lo establecido (menor de 7,5 KPas —no fibrosis [F0-1], de 7,6-9,5 KPas, fibrosis moderada [F2], de 9,6-12,5 KPas— fibrosis significativa [F3] y mayor de 12,5 KPas cirrosis hepática [F4]). Se determinaron los niveles de transaminasas antes y después del tratamiento para valorar la presencia de esteatosis hepática, con el *Hepatic Steatosis Index* ($HSI = 8 \times ALT/AST + IMC + 2$ [si diabetes mellitus] + 2 [si mujer] > 36).

Los datos antropométricos para el cálculo de índice de masa corporal (IMC) y diagnóstico de hipertensión se recogieron en la UDETMA antes y tras 12 semanas de terapia

y de realizar la ecografía-Doppler vascular. Se midió el peso (kilogramos) y la altura (centímetros), realizándose una clasificación de los paciente por IMC (peso normal: IMC = 18,5-24,9 kg/m²; sobrepeso: IMC = 25-29,9 y obesidad: IMC > 30). El diagnóstico de hipertensión arterial (presión arterial sistólica > 135 mmHg y/o presión arterial diastólica > 85 mmHg) se midió 3 veces con una diferencia de unos 30 minutos entre cada medición, con un esfigmomanómetro braquial. Se indagó en la historia de tabaquismo en todos los pacientes, clasificándolos como fumadores (cuantificando el número de cigarrillos consumidos al día), exfumadores o no fumadores, evaluando así factores de riesgo clásicos de enfermedad ateromatosa.

Evaluación de ateromatosis carotídea y femoral

Se definió ateromatosis subclínica como el aumento de GIM y la presencia de una o más placas de ateroma (GIM > 1,5 mm) en cualquiera de los territorios estudiados.

La ateromatosis subclínica fue analizada por 2 expertos técnicos de la UDETMA con un ecógrafo de *General Electric, modelo vivid-i con una sonda vascular 12L-RS*, siguiendo un protocolo estandarizado con un coeficiente interobservador Kappa de 1. Las imágenes fueron analizadas de forma ciega por un solo lector de la UDETMA²⁹. El estudio ecográfico se realizó en 2 ocasiones: en el momento de inclusión en el estudio (antes del tratamiento con AAD) y después de 12 meses tras alcanzar RVS.

La carga ateromatosa se evaluó en diferentes territorios vasculares: arterias carótideas (carótida común, bulbo y carótida interna de ambos lados: derecho e izquierdo) y de arterias femorales (común y superficial, también de ambos lados). Se analizó GIM y la presencia de placa (definida como la diferencia de la luz de la íntima y la adventicia de la pared arterial a partir de 1,5 mm [GIM > 1,5 mm]) en cada uno de estos 10 segmentos, mediante ecografía-Doppler color vascular modo b de alta resolución, según el consenso de Mannheim³⁰. El GIM se midió en la pared distal en todos los territorios vasculares mencionados, siempre que no hubiera presencia de placa de ateroma. El valor de GIM fue el valor medio de todos los valores. Tanto el aumento del GIM como la presencia de placa en arterias carótidas y femorales en pacientes asintomáticos son factores predictores independientes de enfermedad cardiovascular¹⁹. Otro marcador ecográfico de eventos cardiovasculares es la vulnerabilidad de la placa de ateroma, midiendo el área y la composición por escala de grises según su ecogenicidad¹⁶.

Las placas se midieron en todos los territorios explorados, siendo el área total de placa el sumatorio de todos los valores obtenidos (carótidas y femorales). El número de píxeles dentro del contorno de la placa se utilizó para estimar el tamaño en ese corte ecográfico (140 píxeles/cm).

En el estudio de la composición de la placa de ateroma se utilizó un software (HEMODYN 4M, Dinap SRL, Argentina) que permitió calcular el porcentaje de lípidos, tejido fibroso y calcio presente en las diferentes placas exploradas. Se basa en un análisis computarizado de escala de mediana de grises según la ecogenicidad, realizando un mapeo de los píxeles de la placa, obteniendo resultados más cuantitativos, objetivos y menos observador-dependientes¹⁶. Esta

caracterización se ha demostrado que tiene buena correlación con los componentes histológicos de la placa de ateroma^{17,18}.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo que incluyó frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas, comparadas entre ellas con la prueba de *Chi-cuadrado de Pearson*; medias y desviaciones estándar para los datos cuantitativos. Para evaluar la relación entre las placas de ateroma antes del tratamiento y después del tratamiento hicimos una regresión logística con los parámetros clínicos y bioquímicos en toda la cohorte de pacientes con infección por VHC. Para la modificación de placa de ateroma (GIM > 1,5 mm, variable dicotómica) antes y después de tratamiento antiviral se utilizó el test de McNeman. En la modificación de GIM (medida solo en los pacientes que no presentaban placa de ateroma GIM > 1,5 mm, cuantitativa) y de los diferentes parámetros analíticos se utilizó la «t» Student para datos apareados en las variables que siguen una distribución normal, y el test de Willcoxon en variables con distribución no normal. Se valoró de forma segmentada las modificaciones según los grados de fibrosis y los diferentes factores de riesgo cardiovascular. La significación estadística se fijó en un valor de $p < 0,05$. Todos los análisis se realizaron utilizando el software SPSS (versión 24).

Resultados

Características de los pacientes infectados con el virus de la hepatitis C antes del tratamiento con antivirales de acción directa

Las características de los 85 pacientes estudiados se resumen en la tabla 1. El 47% eran hombres y la media de edad de 55 años. Solo el 16,5% de los pacientes era mayor de 65 años. Al evaluar los factores de riesgo clásicos de enfermedad ateromatosa observamos que el 25,9% eran obesos (IMC > 30 kg/m²), 14,1% hipertensos, 3,5% presentaban dislipidemia. Ninguno de los pacientes tenía diabetes mellitus. Un 62,4% contaba hábito tabáquico. Un 57,6% de la muestra presentaba esteatosis hepática según la fórmula HSI. Los valores medios de presión arterial, glucosa, creatinina, perfil lipídico y el índice de insulina resistencia (medido con el coeficiente TG/HDL) estaban dentro del rango de la normalidad. La mayoría de los pacientes estaban infectados por genotipo 1. Un 57,5% de pacientes presentaba enfermedad hepática crónica avanzada (F3-F4), siendo el 34% de los mismos cirróticos.

Terapia antiviral

En el momento del reclutamiento el 61,2% de los pacientes era *naïve* y el 38,8% era no respondedor a biterapia (IFN pegilado y ribavirina). Todos ellos se trataron con AAD siguiendo las directrices de la guía de tratamiento del VHC según los criterios del Institut Català de Salut en el periodo 2015-2018: 51,6% con sofosbuvir/ledipasvir ± ribavirina durante 12-24 semanas, 17,6% con sofosbuvir-simeprevir ± ribavirina

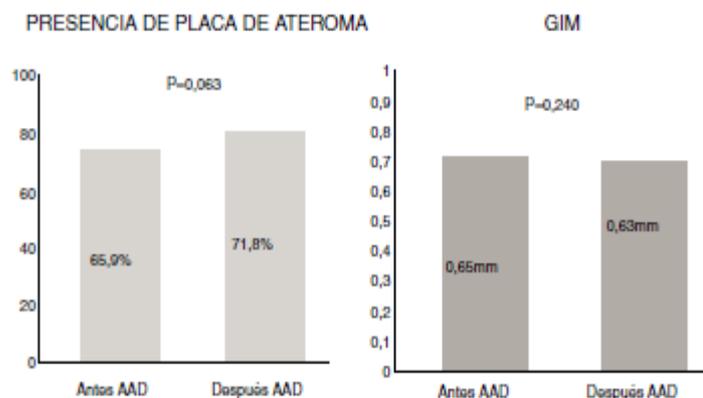


Figura 1 Características de las placas de ateroma detectadas en pacientes VHC antes y después de 12 meses de tratamiento con antivirales de acción directa (AAD). GIM: grosor íntima-media.

Tabla 2 Características de los pacientes VHC antes y después de 12 meses de tratamiento con antivirales de acción directa (AAD)

	Basal	Seguimiento	p
IMC (kg/m ²)	27,61 ± 4,43	27,85 ± 4,34	0,247
PAS (mmHg)	126,20 ± 17,57	123,8 ± 21,47	0,213
PAD (mmHg)	74,84 ± 10,77	74,53 ± 11,29	0,748
Glucemia (g/dl)	98,38 ± 16,25	98,13 ± 16,33	0,886
Creatinina (g/dl)	0,76 ± 0,17	0,77 ± 0,17	0,244
AST (UI/ml)	56,69 ± 41,30	25,18 ± 12,58	< 0,001
ALT (UI/ml)	57,42 ± 41,21	19,18 ± 14,97	< 0,001
Esteatosis hepática (HSI)	57,6 (49)	38,8 (33)	0,002
Fibrosis hepática (por Fibroscan®)			
F1	16 (18,9%)	34 (40%)	0,002
F2	20 (23,5%)	17 (20%)	
F3	20 (23,5%)	12 (14,1%)	
F4	29 (34,1%)	22 (25,9%)	
Colesterol total (mg/dl)	172,12 ± 34,41	199,65 ± 37,91	< 0,001
No HDL colesterol (mg/dl)	118,63 ± 34,86	146,25 ± 39,33	< 0,001
LDL colesterol (mg/dl)	95,10 ± 33,10	111,97 ± 32,59	< 0,001
HDL colesterol (mg/dl)	53,47 ± 13,85	53,41 ± 13,14	0,925
Triglicéridos (mg/dl)	112,70 ± 70,63	109,81 ± 66,52	0,734
Índice de insulinoresistencia (TG/HDL)	2,28 ± 1,83	2,23 ± 1,56	0,832
Índice aterogénico (CT/HDL)	2,23 ± 1,56	3,39 ± 0,99	< 0,001
GIM (mm)	0,65 ± 0,10	0,63 ± 0,09	0,240
Placa de ateroma	56 (65,9%)	61 (71,8%)	0,063
Área total de las placas de ateroma (mm ²)	0,57 ± 1,07	0,64 ± 1,21	0,281
Área de las placas en territorio carotideo	0,55 ± 0,89	0,57 ± 1,13	0,832
Área de las placas en territorio femoral	0,58 ± 0,53	0,68 ± 0,53	0,082
Número de placas detectadas	3,00 ± 2,25	3,36 ± 2,31	0,006

ALT: alanino-aminotransaminasa; AST: aspartato-aminotransaminasa; CT: colesterol total; GIM: grosor íntimo-media carotideo; HDL: lipoproteína de alta densidad; HSI: *Hepatic Steatosis Index*; IMC: índice de masa corporal; LDL: lipoproteína de baja densidad; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; TG: triglicéridos.

^aEn pacientes que no presentan placa de ateroma (basal = 29 pacientes/seguimiento = 24 pacientes).

Variable cuantitativa: media ± DE; variable cualitativa: n (%).

Umbral significativo: p < 0,05.

El tratamiento antiviral no mejora la ateromatosis subclínica en VHC

7

Tabla 3 Cambios del GIM y la presencia de placa de ateroma antes y tras 12 meses de tratamiento con AAD por subgrupos de acuerdo a los factores de riesgo cardiovascular

	Basal	Seguimiento	p
<i>Edad ≤ 65 años (n = 71)</i>			
GIM (mm) [†]	0,63 ± 0,10	0,61 ± 0,08	0,107
Placa	46 (64,8%)	51 (71,8%)	0,063
<i>Edad > 65 años (n = 14)</i>			
GIM (mm) [†]	0,71 ± 0,10	0,73 ± 0,07	0,674
Placa	10 (71,4%)	10 (71,4%)	1
<i>IMC ≤ 30 kg/m² (n = 63)</i>			
GIM (mm) [†]	0,64 ± 0,10	0,62 ± 0,09	0,697
Placa	39 (61,9%)	44 (69,8%)	0,063
<i>IMC > 30 kg/m² (n = 22)</i>			
GIM (mm) [†]	0,65 ± 0,10	0,65 ± 0,92	0,697
Placa	17 (77,3%)	17 (77,3%)	1
<i>No fumador (n = 32)</i>			
GIM (mm) [†]	0,67 ± 0,09	0,81 ± 0,35	0,103
Placa	16 (50%)	19 (59,4%)	0,25
<i>Fumador (n = 53)</i>			
GIM (mm) [†]	0,63 ± 0,12	0,61 ± 0,09	0,091
Placa	40 (75,5%)	42 (79,2%)	0,5
<i>No hipertensión arterial (n = 73)</i>			
GIM (mm) [†]	0,65 ± 0,11	0,65 ± 0,09	0,068
Placa	47 (64,4%)	51 (69,9%)	0,125
<i>Hipertensión arterial (n = 12)</i>			
GIM (mm) [†]	0,63 ± 0,01	0,68 ± 0,06	0,500
Placa	9 (75%)	10 (83,3%)	1
<i>No distipidemia (n = 82)</i>			
GIM (mm) [†]	0,66 ± 0,10	0,78 ± 0,34	0,034
Placa	53 (64,6%)	58 (70,7%)	0,063
<i>Distipidemia (n = 3)</i>			
GIM (mm) [†]			
Placa	3 (100%)	3 (100%)	
<i>No cirrosis (n = 56)</i>			
GIM (mm) [†]	0,65 ± 0,12	0,63 ± 0,09	0,213
Placa	35 (62,5%)	40 (71,4%)	0,063
<i>Cirrosis (n = 29)</i>			
GIM (mm) [†]	0,64 ± 0,08	0,63 ± 0,10	0,840
Placa	21 (72,4%)	21 (72,4%)	1

GIM: grosor intima-media carotídeo; IMC: índice de masa corporal.

[†]En pacientes que no presentan placa de ateroma (basal = 29 pacientes/seguimiento = 24 pacientes).

Variable cuantitativa: media ± DE; variable cualitativa: n (%); umbral significativo: p < 0,05.

Finalmente, evaluamos si existía modificación en la composición de las placas de ateroma medido por escala de grises ecográfica antes y tras 12 meses del tratamiento antiviral, sin identificar alteraciones significativas ni en el porcentaje de lípidos, fibrosis ni calcio de las placas del territorio carotídeo ni femoral ($p=0,305$; $p=0,988$). Se observó una tendencia a la disminución del porcentaje lipídico de las placas carotídeas (antes de AAD 54,1% vs. 49,9% después de 12 meses del tratamiento) aumentando el porcentaje de fibrosis y calcio (23,9% vs. 24,5% y 22,1% vs. 25,6%) mientras que en las placas del territorio femoral no existió variación en los porcentajes (fig. 3).

Discusión

En nuestro estudio no detectamos modificación del GIM ni de la presencia de placas de ateroma en ningún territorio vascular estudiado (carotídeo y femoral) tras 12 meses del tratamiento con antivirales de acción directa en pacientes con infección crónica por el VHC. Como muestra la figura 1, existe una leve tendencia a la mejoría del GIM y un aumento del 6% en la presencia de placas de ateroma, pero sin ser significativo ($p=0,063$). Estas diferencias no se observaron de forma global, ni al subdividir a los pacientes en grupos según los factores de riesgo cardiovascular y severidad de la enfermedad hepática (tabla 3).

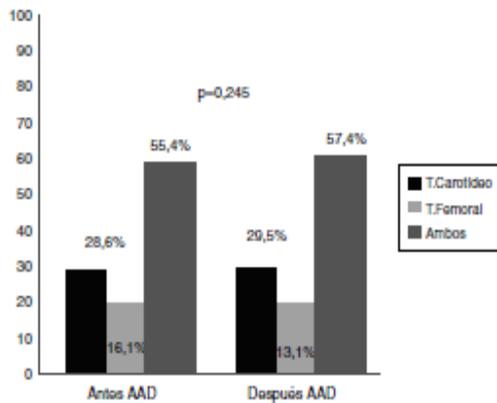


Figura 2 Localización de la placa de ateroma antes y después de 12 meses del tratamiento antiviral. AAD: antivirales de acción directa.

Estos resultados contrastan con estudios donde el aclaramiento virológico, ya sea espontáneo o en su mayoría obtenido con regímenes de tratamiento basados en IFN²²⁻²⁵, pueden mejorar los resultados cardiovasculares, aunque no está claro si el efecto positivo observado se debe a la eliminación del virus, o fue impulsado por el IFN o por un sesgo de selección, ya que son poblaciones muy seleccionadas.

Nuestros datos cuantifican la placa en el territorio carotídeo, y además en el territorio femoral, no habiéndose realizado previamente en otros trabajos. Aunque no se detectaron diferencias significativas, en la distribución por territorios de las placas tras el tratamiento, tal y como muestra la figura 2, se observa un leve aumento de placa en ambos territorios: carotídeo y femoral (de un 55,4% antes de tratamiento a un 57,4% tras el tratamiento, $p=0,245$). Esta ampliación del estudio ecográfico, tanto en vasos carotídeos como femorales, en estudios poblacionales aumenta la probabilidad de detectar ateromatosis²⁹.

En el presente trabajo detectamos que la erradicación del virus produce un aumento del colesterol total, colesterol LDL y colesterol no HDL (descritas como partículas más aterogénicas) tras los 12 meses del tratamiento antiviral. Estos datos apoyan lo publicado en pacientes tratados con IFN²¹ y explica, además, la capacidad que tiene el virus de interferir en el metabolismo lipídico¹¹⁻¹⁴. No se observan diferencias significativas ni de los niveles de glucosa ni del índice de insulinoresistencia medido por el coeficiente TG/HDL (tabla 2). Observamos una mejoría significativa en los niveles de transaminasas, en la esteatosis hepática medida por el *Hepatic Steatosis Index* y de la rigidez hepática medida por elastografía hepática, confirmando lo que se ha comentado en diferentes estudios, que la erradicación del virus no solo supone la curación de la infección, sino que además mejora la enfermedad hepática a corto y medio plazo²².

Nuestro trabajo involucra la única cohorte española de pacientes mono infectados con VHC crónica tras 12 meses de erradicación del virus con AAD. Cuenta con las limitaciones intrínsecas de un diseño longitudinal o de seguimiento, ya

que hubo pérdidas de pacientes que no acudieron a realizarse el control ecográfico tras los 12 meses de la terapia, por lo que el tamaño muestral fue pequeño (de 185 pacientes que iniciaron el estudio solo 85 lo concluyeron). La razón de estas pérdidas se debe a la distribución geográfica de nuestra provincia; los pacientes de áreas periféricas tenían dificultad para acudir al centro hospitalario por la distancia a los pueblos, ausentándose tras la curación del VHC. Además, presenta un sesgo de selección, ya que se excluyeron pacientes con diabetes mellitus en el momento del estudio para evitar factores confusionales que predispusieran al desarrollo de placas de ateroma. Los estudios previos demuestran un mayor efecto del control del metabolismo glucémico²⁴ en estos pacientes que nosotros por este motivo no hemos podido valorar.

Como fortaleza de nuestro trabajo destacar que es el primer trabajo donde se analiza la composición de las placas de ateroma medidas por escala de grises ecográfica. Identificamos que los pacientes infectados presentan placas con mayor porcentaje lipídico (placas carotídeas 54,6% y placas femorales 44,4%). Este hallazgo podría deberse a la influencia sobre el metabolismo lipídico que produce el VHC, ya que hay estudios que demuestran que el virus se transporta en sangre unido a las partículas LDL, modificándolas y favoreciendo su depósito sobre el endotelio vascular¹²⁻¹⁴. Como se representa en la figura 3 tampoco hubo diferencias significativas tras 12 meses de la erradicación del VHC con AAD. Pero observamos una tendencia de las placas carotídeas a disminuir el porcentaje de lípidos (54,55% antes del tratamiento frente a 50,96% después del tratamiento), aumentando el porcentaje de fibrosis y calcio, sin ser estadísticamente significativo, si bien en estudios poblacionales se ha observado que las placas menos lipídicas son más estables, provocando menos eventos cardiovasculares^{15,18}. Los trabajos publicados de pacientes VHC tratados con IFN²²⁻²⁵ observan menor mortalidad cardiovascular, lo cual podría deberse a que las placas están más organizadas y son menos vulnerables, y no por la desaparición de las placas de ateroma, aunque esto no se ha analizado en ninguna publicación por el momento.

En conclusión, contamos con pocos datos sobre el efecto que pueden tener los nuevos tratamientos antivirales sobre la presencia y la composición de la placa de ateroma. Según nuestros resultados este efecto parece ser muy leve, ya que tras 12 meses de la erradicación del VHC con AAD, no detectamos modificación del GM ni de la presencia de placa en territorio carotídeo y/o femoral, si bien se trata de una muestra pequeña y desconocemos si puede existir mejoría a más largo plazo. Estos datos podrían apoyar la necesidad del uso rutinario de pruebas cardiovasculares no invasivas, como la ecografía arterial, la cual mejoraría la estratificación del riesgo en esta población, aun tras la eliminación del virus. Además no existen datos sobre los tratamientos hipolipidemiantes en estos pacientes para facilitar la regresión de las placas, mejorando el pronóstico cardiovascular a largo plazo, por lo que sería necesario realizar más estudios prospectivos que evalúen el riesgo residual cardiovascular tras la erradicación del virus.

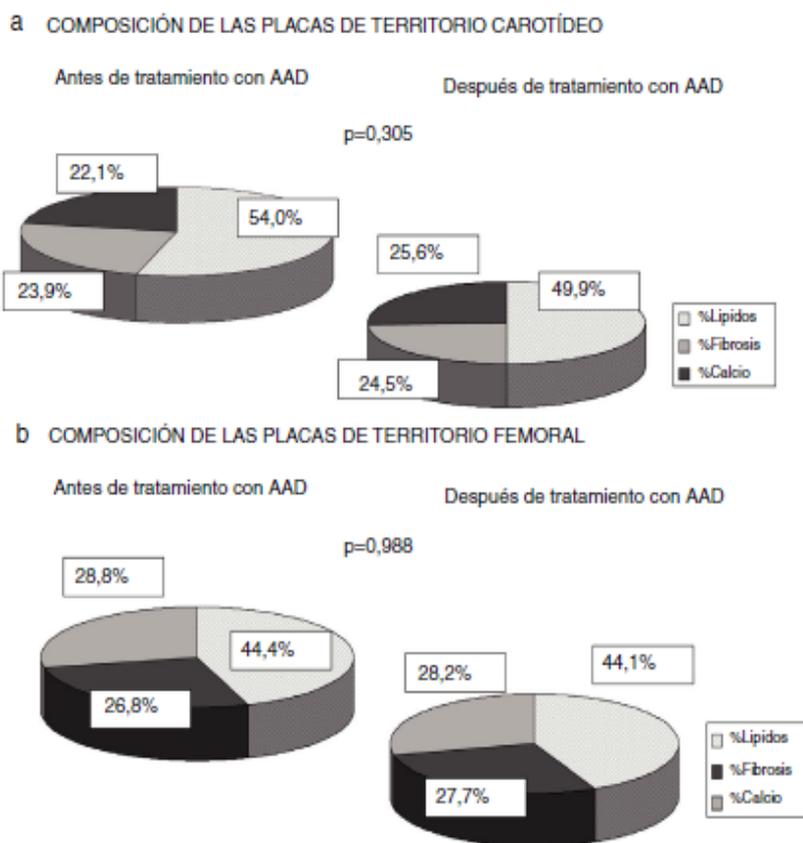


Figura 3 Composición de las placas de ateroma según el territorio vascular afecto antes y después de 12 meses del tratamiento antiviral. AAD: antivirales de acción directa.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses con respecto al contenido de este manuscrito.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a todo el equipo de UDEMA la realización de las ecografías arteriales para la detección de la ateromatosis subclínica.

Bibliografía

1. Polaris Observatory HCV Collaborators. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: A modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017;2: 161-76.
2. Guía de tratamiento de la infección por virus de la hepatitis C 2018 [Internet] [consultado 3 Jul 2018]. Disponible en: <http://aeeh.es/wp-content/uploads/2018/07/GUIA-DE-TRATAMIENTO-VHC-2018.pdf>.
3. Negro F, Forton D, Craxi A, Sulkowski MS, Feld JJ, Manns MP. Extrahepatic morbidity and mortality of chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 2015;149:1345-60.
4. Zampino R, Marrone A, Restivo L, Guerrero B, Sellitto A, Rinaldi L, et al. Chronic HCV infection inflammation: Clinical impact on hepatic extra-hepatic manifestations. *World J Hepatol.* 2013;5:528-40, 10.4254/wjh.v5.i10.528.
5. Huang H, Kang R, Zhao Z. Is hepatitis C associated with atherosclerotic burden? A systematic review and meta-analysis. *PLOS One.* 2014;9:e106376, 10.1371/journal.pone.0106376.
6. Wong RJ, Kanwal F, Younossi ZM, Ahmed A. Hepatitis C. Virus infection and coronary artery disease risk: A systematic review of the literature. *Dig Dis Sci.* 2014;59:1586-93, <http://dx.doi.org/10.1007/s10620-014-3222-3>.
7. Adinolfi LE, Restivo L, Guerrero B, Sellitto A, Ciervo A, Iuliano N, et al. Chronic HCV infection is a risk factor of ischemic stroke. *Atherosclerosis.* 2013;231:22-6, <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.08.003>.
8. Petta S, Maida M, Macaluso FS, Barbara M, Licata A, Craxi A, et al. Virus infection is associated with increased cardiovascular mortality: A meta-analysis of observational studies. *Gastroenterology.* 2016;150:145-55, <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.09.007>.
9. Hermann DM, Gronewold J, Lehmann N, Seidel UK, Möhlenkamp S, Weimar C, et al. Intima-media thickness predicts stroke risk factors, age and gender. *Atherosclerosis.* 2012;224: 84-9.
10. Helling WE, Peeters W, Moll FL, Pasterkamp G. From vulnerable plaque to vulnerable patient: the search for biomarkers of plaque destabilization. *Trends Cardiovasc Med.* 2007;17: 162-71.
11. Szajzel R. Ultrasonographic assessment of the morphological characteristics of the carotid plaque. *Swiss Med Wkly.* 2005;135:635-43.
12. Mehta JL, Saldeen TG, Rand K. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:1217-25.

13. Boddi M, Abbate R, Chellini B, Giusti B, Solazzo V, Soft F, et al. HCV infection facilitates asymptomatic carotid atherosclerosis: Preliminary report of HCV RNA localization in human carotid plaques. *Dig Liver Dis.* 2007;39 Suppl 1: S55-60.
14. Huang H, Sun F, Owen DM, Li W, Chen Y, Gale M, et al. Hepatitis C virus production by human hepatocytes dependent on assembly and secretion of very low-density lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:5848-53.
15. Del Campo JA, Romero-Gomez M. Modulation of host lipid metabolism by hepatitis C virus: Role of new therapies. *World J Gastroenterol.* 2015;21:10776-82.
16. Craiem D, Chironi G, Graf S, Denairé N, Armentano RL, Simon A. Placas de ateroma: descripción cuantitativa de la ecogenicidad por capas. *Rev Esp Cardiol.* 2009;62:984-91.
17. Wilhelm JE, Grønholdt ML, Wiebe B, Jespersen SK, Hansen LK, Sillesen H. Quantitative analysis of ultrasound B-mode images of carotid atherosclerotic plaque: Correlation with visual classification and histological examination. *IEEE Trans Med Imaging.* 1998;17:910-22.
18. Tegos TJ, Stavropoulos P, Sabetai MM, Khodabakhsh P, Sassano A, Nicolaidis AN. Determinants of carotid plaque instability: Echoicity versus heterogeneity. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2001;22:22-30.
19. Sillesen H, Muntendam P, Adourian A, Entrekin R, Garcia M, Falk E, et al. Carotid plaque burden as a measure of subclinical atherosclerosis: Comparison with other tests for subclinical arterial disease in the High Risk Plaque Biomechanical Study. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2012;5:681-9.
20. Geroulakos G, Ramaswami G, Nicolaidis A, James K, Labropoulos N, Belcaro G, et al. Characterization of symptomatic and asymptomatic carotid plaques using high-resolution real-time ultrasonography. *Br J Surg.* 1993;80: 7-1274.
21. Jang ES, Won JE, Jung JI, Lee SH, Kim JW, Jeong SH. The effect of antiviral therapy on serum cholesterol levels in chronic hepatitis C. *Gut Liver.* 2011;5:356-362.
22. Yao-Chun H, Hsiu J, Yen-Tsung H, His-Hao W, Ming-Shiang W, Jaw-Town L, et al. Association between antiviral treatment and extrahepatic outcomes in patients with hepatitis C virus infection. *Gut.* 2014;0:1-9.
23. Hsu CS, Kao JH, Chao YC, Lin HH, Fan YC, Huang CJ, et al. Interferon-based therapy reduces risk of stroke in chronic hepatitis C patients: A population-based cohort study in Taiwan. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38:415-23.
24. Hsu Y, Lin J, Ho H, Kao Y, Huang Y, Hsiao N, et al. Antiviral treatment for hepatitis C virus infection is associated with improved renal and cardiovascular outcomes in diabetic patients. *Hepatology.* 2014;59:1293-302.
25. Singer AW, Osinusi A, Brainard DM, Chokkalingam AP, Gilead Sciences, Foster City United States. Risk of cardiovascular and cerebrovascular events in hepatitis C patients following completion of direct-acting antiviral therapy: A retrospective cohort study. *J Hepatol.* 2017;66:595-332.
26. European Association for the Study of the Liver. Recomendaciones de la EASL para el tratamiento de la Hepatitis C: 2015. *J Hepatol.* 2015;63:199-236.
27. Guías AEEH/SEIMC de manejo de la Hepatitis C [Internet] [consultado Mar 2017]. Disponible en: www.aeeh.es www.seimc.org.
28. Tractament de l'hepatitis C crònica. CatSalut. Criterios de la administració en el tractament de la hepatitis C. [Internet]. [consultado Oct 2015]. Disponible en: <https://www.catsalut.gencat.cat>.
29. Fernández E, Martínez Castela A. Proyecto NEFRONA: banco de datos de libre utilización. *Nefrología.* 2011;31:5-8.
30. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). *Cerebrovasc Dis.* 2006;23:75-80.

Comunicaciones a congresos: Comunicación póster:

- XXVI Congrés de la Societat Catalana de Digestologia. Lleida (2017). T. Revuelto, À. Betriu, T. Vidal, N. Zaragoza, G. Torres, L. López, M. Miralbes, J. Buenestado, JM Reñé.

LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC: FACTOR DE RIESGO INDEPENDIENTE DE ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA.

- 42º Congreso Nacional de la Asociación Española para Estudio del Hígado (AEEH)

Madrid (2017). T. Revuelto, À. Betriu, T. Vidal, N. Zaragoza, G. Torres, L. López, M.

Miralbes, J. Buenestado, JM Reñé. LA INFECCIÓN CRÒNICA POR VHC: FACTOR DE

RIESGO INDEPENDIENTE DE ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA.

- LXXVII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD).

Valencia (2018). T. Revuelto, G. Torres, N. Zaragoza, M. Miralbes, J. Buenestado,

J.Garreta, À. Betriu, JM. Reñé. ATEROMATOSIS SUBCLINÍNICA Y HEPATITIS CRÓNICA C:

INFLUENCIA DEL GENOTIPO Y DEL PERFIL LIPÍDICO.

- 44º Congreso Nacional de la Asociación Española para Estudio del Hígado (AEEH)

Madrid (2019). T. Revuelto, HF. Serpa, G. Torres, N. Zaragoza, M. Miralbes, J.

Buenestado, À. Betriu, JM Reñé. MODIFICACIÓN DE LAS PLACAS DE ATEROMA TRAS LA

CURACIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C CON ANTIVIRALES DE ACCIÓN DIRECTA.

* Comunicación oral:

- XXI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica (SEIMC). Málaga (2017). T. Revuelto, À. Betriu, T. Vidal, N. Zaragoza, N. Abdulghani, T. Puig, M. Miralbes, J. Buenestado, JM Reñé. LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC: FACTOR DE RIESGO INDEPENDIENTE DE ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA CON PREDOMINIO DE PLACAS LIPÍDICAS.

- 31º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Aterosclerosis (SEA). Cádiz (2017). T. Revuelto, À. Betriu, T. Vidal, N. Zaragoza, M. Miralbes, J. Buenestado, JM Reñé. ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA ACELERADA EN PACIENTES CON INFECCIÓN CRÓNICA VHC.

- 31º Congreso Nacional de la Sociedad Española de Aterosclerosis (SEA). Cádiz (2017). T. Revuelto, À. Betriu, T. Vidal, N. Zaragoza, M. Miralbes, J. Buenestado, JM Reñé. LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC: FACTOR DE RIESGO INDEPENDIENTE DE ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA.

- LXXVI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Patología Digestiva (SEPD). Madrid (2017). T. Revuelto, À. Betriu, T. Vidal, N. Zaragoza, G. Torres, L. López, M. Miralbes, J. Buenestado, J M Reñé. LA INFECCIÓN CRÓNICA POR VHC: FACTOR DE RIESGO INDEPENDIENTE DE ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA.

- XXX Jornada Gastroenterològica de les comarques catalanas. Sant Boi de Llobregat (2018). G. Torres, I. Miguel, T. Revuelto, N. Zaragoza, M. Miralbes, J. Buenestado, J. Garreta, À. Betriu, JM. Reñé. ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA Y HEPATITIS CRÓNICA C: INFLUENCIA DEL GENOTIPO Y DEL PERFIL LIPÍDICO (premio a mejor comunicación oral).

- XXVIII Congrés de la Societat Catalana de Digestologia. Tarragona (2019). T. Revuelto, HF. Serpa, G. Torres, N. Zaragoza, M. Miralbes, J. Buenestado, J. Garreta, À. Betriu, JM Reñé. ATEROMATOSIS SUBCLINICA TRAS LA ERRADICACION DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C CON ANTIVIRAL DE ACCION DIRECTA.

