

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina



TESIS DOCTORAL

Resistencia a la insulina en pacientes coinfectados por el virus de la hepatitis C y el virus de la inmunodeficiencia humana: prevalencia, factores asociados e influencia en la respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Pablo Ryan Murúa

Directores

Juan Berenguer Berenguer
Luis Álvarez-Sala Walther

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina



**RESISTENCIA A LA INSULINA EN PACIENTES COINFECTADOS
POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C Y EL VIRUS DE LA
INMUNODEFICIENCIA HUMANA: PREVALENCIA, FACTORES
ASOCIADOS E INFLUENCIA EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO
CON INTERFERÓN Y RIBAVIRINA.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Pablo Ryan Murúa

DIRECTORES:

Juan Berenguer Berenguer

Luís Álvarez-Sala Walther

Madrid, 2014

Tesis Doctoral

RESISTENCIA A LA INSULINA EN PACIENTES COINFECTADOS POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C Y EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA: PREVALENCIA, FACTORES ASOCIADOS E INFLUENCIA EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INTERFERÓN Y RIBAVIRINA.

Esta Memoria ha sido presentada para optar al grado de Doctor en Medicina por:

Pablo Ryan Murúa

Directores de Tesis:

Dr. D. Juan Berenguer Berenguer.

Doctor en Medicina y Cirugía. Especialista en Microbiología. Consultor del Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” de Madrid

VºBº

Prof. Dr. D. Luís Álvarez-Sala Walther.

Doctor en Medicina y Cirugía. Especialista en Medicina Interna. Jefe de Sección del Servicio de Medicina Interna del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón” de Madrid.

Profesor titular del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

VºBº

El trabajo presentado en esta Tesis Doctoral ha sido realizado en la Unidad de Enfermedades Infecciosas/VIH (4100) del Hospital General Universitario “Gregorio Marañón”, bajo la dirección del Dr. Juan Berenguer y del Dr. Luís Álvarez-Sala.

Pablo Ryan, durante la realización de la tesis, fue financiado por un contrato con la fundación de investigación del hospital universitario Gregorio Marañón, a través de una beca “post-MIR”.

Esta tesis ha sido realizada gracias a la financiación concedida por el Fondo de Investigación Sanitaria Instituto de Salud Carlos III (FIS-ISC III) (Ref. PI052411; Ref. PI07/90201, Ref. UIPY1467/07; Ref. PI080928; Ref. ISCIII-RETIC RD06/006) y la Fundación para la Investigación y la Prevención del SIDA en España (FIPSE) (Ref. 36443/03; Ref. 36650/07; Ref. 36702/07).

A Laura, William y Alice.

A mi madre y a mi padre "in memoriam".

AGRADECIMIENTOS

Deseo mostrar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas sin las cuales, este trabajo no habría visto la luz:

En primer lugar, a Juan Berenguer, codirector de esta tesis. Para mí ha sido un gran honor haber realizado este trabajo bajo su dirección. Por facilitarme siempre los medios suficientes para llevar a cabo este trabajo y permitir que esta tesis doctoral se desarrollará en el marco de un proyecto de investigación de la Unidad de VIH del HGUGM. Quiero agradecerle su apoyo y confianza en mi trabajo. Siempre le estaré muy agradecido por todo lo que me ha enseñado en estos últimos años, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también el ámbito asistencial y mi formación como investigador.

A Luís Álvarez-Sala, codirector de esta tesis, por su disponibilidad y asesoramiento, aportando valiosas observaciones y correcciones que he procurado atender en la medida de lo posible. Gracias por su empeño en animarme a seguir adelante con la tesis en todo momento, por el apoyo que me ha ofrecido y por su incondicional amistad.

A Salvador Resino por utilizar todos los recursos a su alcance para el procesamiento y el análisis de las muestras biológicas utilizadas en este trabajo. Debo destacar, su disponibilidad y generosidad para compartir su amplia experiencia en investigación y transmitirme su inquietud por hacer cosas nuevas.

A Pilar Catalán por su atención y amabilidad durante mis visitas imprevistas al laboratorio y por facilitarme la localización y almacenaje de las muestras biológicas utilizadas en este estudio.

A José María Bellón, por la ayuda en el análisis estadístico y el asesoramiento metodológico en ambos objetivos de este trabajo

A Pilar Miralles, Belén Padilla, Jaime Cosín, Juan Carlos de Quirós, Matilde Sánchez Conde, Isabel Gutiérrez y Margarita Ramírez por todo lo que me enseñaron durante el periodo de la beca, por su ayuda desinteresada y por que sin ellos este trabajo no hubiese sido posible.

A Thomas O'Boyle y a Colin por su trabajo en la revisión y corrección del texto en inglés de los artículos publicados con los resultados de esta tesis. A Paco Blanco del Hospital Carlos III por introducirme en el mundo de la investigación en el VIH. A mis compañeros de Medicina Interna del Hospital de Vallecas (en especial a Jesús Troya, Sari Arponen, Manuel Méndez y Nuria Muñoz) por su compañerismo y hacer que el día a día sea mas llevadero. A Ana Carrero y Teresa Aldámiz por insistirme tanto para que acabase la tesis. A mi familia, por el cariño y el apoyo que siempre me han dado. A Mis hermanos Chema, Álvaro, Eduardo y David.

Por último, a los pacientes de la Unidad de Enfermedades Infecciosas y VIH (4100) del Hospital General Universitario Gregorio Marañón que se prestaron para la realización de este estudio.

Muchas gracias a todos

RESUMEN EN ESPAÑOL

Introducción: En los pacientes coinfectados por VIH/VHC se desconoce la prevalencia y el papel que juega la resistencia a la insulina (RI) en la fibrosis hepática o en la respuesta al tratamiento de la hepatitis C. El primer objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de la RI y los factores asociados a ésta en pacientes coinfectados por VIH/VHC. El segundo objetivo fue evaluar si la RI tenía algún efecto sobre la respuesta al tratamiento de la hepatitis C con interferón y ribavirina en este grupo de pacientes.

Métodos: Los pacientes se seleccionaron de la cohorte de pacientes coinfectados del Hospital General Universitario Gregorio Marañón. La RI se calculó mediante el modelo HOMA. Se consideró que existía RI cuando el índice HOMA era ≥ 3.8 . La fibrosis hepática se evaluó mediante biopsia hepática siguiendo los criterios METAVIR.

Resultados: Para el primer objetivo se incluyeron 201 pacientes, en los que la prevalencia de RI fue 26.8%. Mediante regresión logística multivariante, se observó que la RI se asoció de forma independiente con la fibrosis hepática avanzada (OR, 4.00; IC 95%, 1.20-12.40; $P = 0.01$) y el índice de masa corporal (IMC) (OR, 1.40; IC 95%, 1.10-1.80; $P = 0.006$). Para el segundo objetivo se analizaron 134 pacientes tratados con interferón y ribavirina. En el estudio multivariante, las variables que de forma independiente se asociaron con respuesta viral sostenida fueron; el genotipo 2/3 (OR, 6.7; IC 95%, 2.70-16.90; $P < 0.001$), la ausencia de RI (HOMA < 3.8) (OR, 3.30; IC 95%, 1.36-8.26; $P = 0.008$) y el nadir de linfocitos T CD4+ (OR, 1.00; IC 95%, 1.00-1.00; $P = 0.047$).

Conclusiones: La prevalencia de RI fue del 27% y los factores asociados a esta fueron la fibrosis hepática avanzada y el IMC. Los resultados de esta tesis sugieren que la presencia de RI se asocia con una peor respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina en pacientes coinfectados.

RESUMEN EN INGLÉS

INTRODUCTION

Insulin resistance (IR) is defined as a condition in which higher than normal insulin concentrations are needed to achieve normal metabolic responses, or in which normal insulin concentrations fail to elicit a normal metabolic response.

In recent years, different lines of evidence have found that IR is a common feature in patients with chronic hepatitis C, and is associated not only with host factors, but also with viral ones. The clinical relevance of IR in HCV infection arises from its ability to act as a major disease-modifier, contributing to the severity of liver damage, and to interfere with the response to antiviral therapy. In hepatitis C virus monoinfected patients, IR has been identified as a factor that promotes steatosis and fibrosis progression and as an independent predictor of the response to peginterferon plus ribavirin.

Unlike the results in HCV monoinfected patients, the association of IR with the severity of liver fibrosis and the response to treatment of hepatitis C in HIV/HCV coinfecting patients has not been clearly elucidated. The present study was divided into two objectives: 1) to determine the prevalence of IR, identify associated factors and evaluate the relationship between IR and liver fibrosis in HIV/HCV coinfecting patients, and 2) evaluate the effect of IR on sustained virologic response in HIV/HCV coinfecting patients treated with interferon plus ribavirin.

METHODS:

The study population comprised patients from the HIV outpatient clinic of the "Gregorio Marañón" Hospital in Madrid, Spain. We carried out a retrospective review of the clinical records of HIV/HCV-coinfecting patients who underwent liver biopsy before therapy with interferon and ribavirin between May 2000 and 2007 (first objective) and

who received interferon and ribavirin at our institution between July 2000 and March 2007 (second objective).

After an overnight fast and before liver biopsy or the initiation of interferon and ribavirin, a blood sample was taken for a complete blood count, liver panel, basic metabolic panel, and coagulation tests. Simultaneously, a serum sample was immediately stored and frozen at 70°C for further assays. The degree of IR was estimated for each patient using the homeostatic model assessment (HOMA) method described by Matthews et al. An IR score (HOMA-IR) was obtained using the following formula: fasting plasma glucose (mmol/l) times fasting serum insulin (mU/l) divided by 22.5. This validated model has become a widely used clinical and epidemiological tool. IR was considered altered when the HOMA-IR score was 3.8 or higher based on a prevalence study carried out in a nondiabetic population in Spain and following previous works with HIV/HCV-coinfected patients, although there are no standard cutoffs clearly defined for IR. In this study, fasting glucose was determined on a fresh serum sample taken the day the patient initiated therapy with interferon plus ribavirin. Fasting insulin was measured in a frozen serum sample taken that same day.

The following information was obtained from the medical record: age, gender, risk category, Centers for Diseases Control and Prevention clinical category, prior and current antiretroviral therapy, and nadir CD4+ T-cell count. Height and weight were determined at baseline, and body mass index (BMI).

Liver biopsy was carried out on an outpatient basis following the recommendations of the Patient Care Committee of the American Gastroenterological Association. Ultrasound was routinely used to determine the percutaneous biopsy site. All patients gave their written informed consent. Grading and staging of the liver biopsy followed the criteria of the METAVIR Cooperative Study Group and was evaluated by a pathologist who had no knowledge of the patient's clinical and laboratory data.

In the second objective patients were treated for 48 weeks with the combination of interferon plus ribavirin. An SVR was defined as an undetectable serum HCV RNA level 24 weeks after the end of treatment. A virologic failure was defined as the inability to achieve undetectable HCV RNA or a 2 log₁₀ decrease in HCV RNA from baseline at week 12 after initiation of therapy, failure to achieve an undetectable serum HCV RNA level at week 24 of therapy, or an HCV viral rebound during therapy in patients with prior undetectable viremia.

Multivariate logistic regression analysis was used to evaluate which factors were associated with IR, liver fibrosis and the achievement of SVR. All tests were 2 tailed, and P values, 0.05 were considered significant. The statistical analysis was performed using SPSS 15.0 software (SPSS Inc, Chicago, IL). For the analysis in the second objective, we excluded patients who prematurely interrupted HCV treatment due to adverse events, patients who abandoned the study, or patients who were lost to follow-up. This was an on treatment (OT) analysis. Comparisons between groups were made using the Mann–Whitney test or the t test for continuous variables and the x² test or Fisher exact test for categorical variables. For the OT analysis, we included patients who completed therapy or had a virologic failure.

RESULTS:

The first objective included 201 patients. The distribution of liver fibrosis in our cohort according to the METAVIR fibrosis stage score was 0 (8%) (no fibrosis), 1 (34%)(portal fibrosis), 2(26%) (periportal fibrosis), 3(20%) (bridging fibrosis), and 4 (11%) (cirrhosis). Liver steatosis was observed in liver biopsies from 108 (54%) patients. The median HOMA value was 2.47, and 54 (26.8%) patients were classified as having IR. When clinical and laboratory parameters for patients with and without IR were compared, no differences were found with respect to sex, age, HIV transmission category, Centers for Disease Control and Prevention clinical category, or HIV and HCV virological

parameters. However, patients with IR had a higher body mass index (BMI), lower nadir CD4+ T-cell counts, and higher liver fibrosis scores than those without IR. In a multivariate logistic regression analysis adjusted for age, alcohol abuse, nadir CD4 cell count, HCV viral load, HCV genotype, antiretroviral drugs, and liver steatosis, the variables independently associated with IR were advanced liver fibrosis (odds ratio, 4.0; 95% confidence interval, 1.2 to 12.4; $P = 0.01$) and BMI (odds ratio, 1.4; 95% confidence interval, 1.1 to 1.8; $P = 0.006$).

In the second objective, during the study period, 218 HIV/HCV-coinfected patients from our institution were treated for HCV infection with interferon and ribavirin. HOMA-IR values at baseline were available for 162 patients of whom 28 (17%) prematurely interrupted HCV treatment due to adverse events, abandonment, or loss to follow-up. The OT analysis involved 134 patients. Twenty-five (19%) patients received standard interferon, and 109 (81%) received either pegylated interferon alfa-2a or alfa-2b. The mean dose of ribavirin was 14.9 mg/kg.

HOMA-IR values at baseline were significantly higher among patients with no SVR [median (interquartile ratio), 3.3 (1.9–5.5)] than among those with an SVR [1.9 (1.4–3.3)], $P = 0.005$. We also found a significant trend toward a lower SVR as HOMA-IR values at baseline increased. The frequency of SVR was significantly higher for patients with genotypes 2/3 than for those with genotypes 1/4 and significantly higher for patients without IR than for patients with IR. In patients infected by HCV genotypes 2/3, the frequency of SVR was significantly lower for patients with IR than for patients without IR [odds ratio (OR), 0.08; 95% confidence interval (CI): 0.01–0.48; $P = 0.005$]. In patients infected by HCV genotypes 1/4, there was a trend toward a lower frequency of SVR for those with IR than for those without IR (OR, 0.4; 95%CI: 0.16–1.26; $P = 0.13$).

Three factors were independently and significantly associated with achieving an SVR: genotype 2/3 (OR, 6.7; 95% CI: 2.71–16.98; $P=0.001$), absence of IR (OR, 3.3; 95%

CI: 1.36–8.26; $P=0.008$), and nadir CD4+ T-cell count (OR, 1.002; 95% CI: 1.00–1.00; $P = 0.047$). When we adjusted for genotype, HCV RNA load, presence of advanced liver fibrosis, and treatment with pegylated interferon, we found that the absence of IR at baseline was significantly associated with the probability of virologic response at weeks 4, 12, 24, 48, and 72 of treatment.

CONCLUSIONS

In the first objective of this cross-sectional study carried out in 201 HIV/HCV coinfecting patients, the prevalence of IR measured by HOMA was 27%. The factors independently associated with IR were higher BMI and advanced liver fibrosis.

In the second objective, our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV-coinfecting patients treated with interferon and ribavirin. Consideration must be given to the inclusion of HOMA-IR in the routine baseline evaluation of HIV/HCV-coinfecting patients who are candidates for treatment with interferon and ribavirin. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy with interferon and ribavirin in HIV/HCV coinfecting patients.

ÍNDICE

1	JUSTIFICACIÓN	1
2	INTRODUCCION	4
2.1	Coinfección por VIH/VHC	5
2.1.1	Introducción	5
2.1.2	Epidemiología	5
2.1.3	Historia natural de la coinfección	6
2.1.4	Virología	7
2.1.5	Diagnóstico	8
2.1.6	Fibrosis hepática	9
2.1.6.1	Importancia de la determinación de la fibrosis hepática	9
2.1.6.2	Métodos para la valoración de la fibrosis hepática	10
2.1.6.2.1	Métodos invasivos	10
2.1.6.2.2	Métodos no invasivos	11
2.1.6.3	Histología	11
2.1.6.4	Factores que se asocian con la progresión de fibrosis hepática	12
2.1.6.4.1	Factores virales	12
2.1.6.4.2	Edad	13
2.1.6.4.3	Inmunodepresión	13
2.1.6.4.4	Alcohol	13
2.1.6.4.5	Esteatosis hepática	13
2.1.6.4.6	Resistencia la insulina	14
2.1.6.4.7	Tratamiento antirretroviral	14
2.1.6.4.8	Tratamiento de la hepatitis C	15
2.1.7	Tratamiento del VIH en pacientes coinfectados	15
2.2	Tratamiento de la hepatitis C en coinfectados por el VIH	15
2.2.1	Introducción	15
2.2.2.1	Fármacos y dosis	17
2.2.2.2	Duración y monitorización del tratamiento	18
2.2.4.1	Tratamiento según la cifra de linfocitos T CD4+	19
2.2.4.2	Tratamiento según estadio de hepatopatía	20
2.2.7	Resistencia a la insulina como predictora de respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina	23
2.3	Resistencia a la insulina	25
2.3.1	Definición actual	25
2.3.2	Fisiopatología	25
2.3.3	Técnicas de medida de la RI	27
2.3.4	Alteraciones asociadas con la RI	28
2.3.5	Resistencia a la insulina y obesidad	29
2.3.6	Resistencia a la insulina e infección por VHC	29
2.3.7	Resistencia a la insulina y TARV	30
3	HIPÓTESIS	32
4	OBJETIVOS	34
5	MATERIAL Y MÉTODOS	36
5.1	Diseño	37
5.2	Ámbito y población	37
5.3	Criterios de Inclusión	37
5.4	Criterios de exclusión	38
5.5	Variables	39
5.5.1	Variables basales	39
5.5.2	Variables de seguimiento	41
5.6	Biopsia hepática	42
5.7	Histología	44

5.8	Muestras de sangre	45
5.8.1	Suero	46
5.8.1.1	Procesamiento del suero	46
5.8.1.2	Almacenaje	46
5.8.1.3	Determinación de Insulina	46
5.9	Resistencia a la insulina	47
5.10	Virología	48
5.10.1	Determinación de anticuerpos frente al VIH	48
5.10.1.1	Determinación de la carga viral del ARN-VIH	48
5.10.1.2	Determinación de anticuerpos frente al VHC	49
5.10.1.3	Determinación de la carga viral del ARN-VHC	49
5.10.1.4	Determinación del genotipo del VHC	49
5.11	Tratamiento	49
5.12	Definiciones	50
5.13	Recogida de datos	51
5.14	Aspectos éticos	52
5.15	Técnicas estadísticas	53
6	RESULTADOS	55
6.1	Primer objetivo	56
6.1.1	Características de la infección por VIH en la población:	56
6.1.2	Características de la infección por VHC en la población:	57
6.1.3	Resultados analíticos	57
6.1.4	Resultados de la biopsia hepática:	58
6.1.5	Resistencia a la insulina	59
6.1.6	Análisis univariante de los factores asociados a RI	59
6.1.6.1	Esteatosis/actividad hepática y RI	60
6.1.6.2	Fibrosis hepática y RI	61
6.1.6.3	Tratamiento antirretroviral y resistencia insulínica	62
6.1.7	Análisis Multivariante	63
6.2	Segundo objetivo	64
6.2.1	Análisis univariante de los factores que se asocian con una RVS	67
6.2.2	Análisis multivariante	70
7	DISCUSIÓN	72
7.1	Resumen de resultados	73
7.2	Definición y diagnóstico de la resistencia a la insulina	73
7.2.1	Procesamiento de muestras	73
7.2.2	Número de muestras	74
7.2.3	Falta de estandarización de las pruebas que miden la insulina	74
7.2.4	Unidades de medida	74
7.2.5	Método HOMA	75
7.3	Prevalencia de RI en pacientes coinfectados	75
7.4	Resistencia a la insulina e índice de masa corporal	77
7.5	Resistencia a la insulina y esteatosis hepática	79
7.6	Resistencia a la insulina y fibrosis hepática	79
7.7	Resistencia a la insulina y tratamiento antirretroviral	83
7.8	Eficacia del tratamiento con interferon y ribavirina	83
7.9	Impacto de la resistencia a la insulina en la respuesta al tratamiento del VHC	84
7.10	Otros factores asociados con la respuesta viral sostenida	89
8	LIMITACIONES Y FORTALEZAS	90
9	CONCLUSIONES	93

10 ANEXOS	96
10.1 ANEXO 1: CATEGORÍAS Y ESTADIO DE LA INFECCIÓN POR VIH	97
10.2 ANEXO 2: ENFERMEDADES DEFINITORIAS DE SIDA.....	98
10.3 ANEXO 3: FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES.....	99
10.4 ANEXO 4: SEGURIDAD	100
10.5 ANEXO 5: ARTÍCULOS.....	101
10.6 ANEXO 6: COMUNICACIONES	110
11 BIBLIOGRAFÍA	114

ABREVIATURAS

▪ µg	Microgramos
▪ 3TC	Lamivudina
▪ ABC	Abacavir
▪ Ac	Anticuerpos
▪ ADA	American Diabetes Association
▪ ADVP	Adictos a Drogas por Vía Parenteral
▪ AN	Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleósidos
▪ Anti-VHC	Tratamiento para el VHC
▪ ARN	Acido Ribonucleico
▪ ATV	Atazanavir
▪ AZT	Zidovudina
▪ BID	Dos veces al día
▪ C-GSF	Factor de crecimiento de colonias de Granulocitos
▪ CD4+	Linfocitos T CD4+
▪ CD8+	Linfocitos T CD8+
▪ CDC	Centre for Disease Control and Prevention
▪ CPK	Creatina Fosfocinasa
▪ CVP	Carga Viral Plasmática
▪ D4T	Estavudina
▪ DDI	Didanosina
▪ DEA	Descompensación Edemoascítica
▪ DM	Diabetes Mellitus
▪ DRV	Darunavir
▪ EA	Efecto Adverso
▪ EH	Esteatosis Hepática
▪ EHT	Enfermedad hepática terminal
▪ EFV	Efavirenz
▪ EPO	Eritropoyetina
▪ ETR	Etravirina
▪ FA	Fosfatasa Alcalina
▪ fl	Fentolitros
▪ FOS	Fosamprenavir
▪ FTC	Emtricitabina
▪ g	Gramo
▪ G	Fuerza centrífuga ejercida
▪ GEN	Genotipo
▪ GGT	Gamma Glutamyl Transpeptidasa
▪ GOT	Aspartato aminotransferasa
▪ GPT	Alanino aminotrasferasa
▪ Hb	Hemoglobina
▪ HCC	Hepatocarcinoma
▪ HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad
▪ HGUGM	Hospital Universitario Gregorio Marañón
▪ HOMA	Homeostatic Model Assessment
▪ HTA	Hipertensión arterial
▪ IDV	Indinavir
▪ IMC	Índice de Masa Corporal
▪ INF	Interferón
▪ INR	Rango Internacional Normalizado
▪ IP	Inhibidor de la proteasa
▪ ITT	Intención de tratar
▪ kPa	kilo pascales
▪ L	Litro
▪ LDH	Lactato Deshidrogenasa
▪ LDL	Lipoproteínas de baja densidad
▪ Ln	Logaritmo neperiano
▪ LPV	Lopinavir
▪ MI	Mililitro

▪ ml	Mililitro
▪ mm ³	Milímetros cúbicos
▪ MRV	Maraviroc
▪ NFV	Nelfinavir
▪ NN	Inhibidor no análogo de los nucleósidos
▪ NVP	Nevirapina
▪ OT	“On-Treatment”
▪ PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa,
▪ PegIFN	Interferón Pegilado
▪ PMN	Polimorfonucleares
▪ QD	Una vez al día
▪ RAL	Raltegravir
▪ RBV	Ribavirina
▪ RI	Resistencia a la insulina
▪ RIQ	Rango intercuartílico
▪ RIT	Ritonavir
▪ RVP	Respuesta virológica Precoz
▪ RVR	Respuesta virológica Rápida
▪ RVS	Respuesta Viroológica Sostenida
▪ SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
▪ SQV	Saquinavir
▪ T-20	Enfuvirtida
▪ T4	Tiroxina total
▪ TARGA	Terapia antirretroviral de gran eficacia
▪ TARV	Tratamiento antirretroviral
▪ TBC	Tuberculosis
▪ TDF	Tenofovir
▪ TNF	Factor de necrosis tumoral
▪ TPV	Tipranavir
▪ TSH	Hormona tiroideo estimulante
▪ U	Unidades Internacionales
▪ VCM	Volumen Corpuscular Medio
▪ VHB	Virus de la hepatitis B
▪ VHC	Virus de la hepatitis C
▪ VIH	Virus de la inmunodeficiencia Humana Adquirida
▪ VIH/VHC	Pacientes coinfectados por VIH y VHC
▪ µl	Microlitro

1 JUSTIFICACIÓN

El hígado es un órgano clave en la homeostasis de los hidratos de carbono y se conoce desde hace tiempo que existe una asociación entre la hepatitis C y las alteraciones del metabolismo de la glucosa como la RI y la diabetes mellitus. Por otra parte, existen estudios que sugieren que la RI influye negativamente en la respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina. El mecanismo fisiopatológico de esta asociación está relacionado con los defectos de señalización intracelular producidos por la RI que alteran la actividad biológica del interferón. Es importante señalar que la gran mayoría de la información sobre las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado en la hepatitis C así como la influencia de la RI en la respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina se ha generado en población mono infectada por el VHC y que la información al respecto en pacientes coinfectados por VIH/VHC es muy escasa.

Es oportuno por lo tanto estudiar específicamente la RI en pacientes coinfectados por VIH/VHC, especialmente en aspectos tan básicos como su prevalencia y los factores que la favorecen. Además, es importante conocer si la RI puede comprometer la respuesta al tratamiento de la hepatitis C con interferón y ribavirina en este grupo de población. A nuestro juicio, la investigación de estos aspectos es relevante por diferentes razones entre las que destacan las siguientes: i) la coinfección por VHC es la comorbilidad más importante de los pacientes infectados por VIH en muchos lugares del mundo y ocupa uno de los primeros lugares en la lista de causas de muerte de estas personas, ii) en muchos lugares del mundo el interferón y la ribavirina a día de hoy juegan un importante papel en el tratamiento de la hepatitis C, iii) la respuesta al interferón y ribavirina es peor en pacientes coinfectados por VIH/VHC que en pacientes mono infectados por VHC y convendría conocer hasta que punto la RI puede contribuir a ello.

Toda información novedosa sobre los diferentes aspectos de RI y la coinfección por VIH/VHC contribuirán sin duda a conocer mejor las complejas interacciones entre el

VIH y el VHC y además tendrán aplicaciones prácticas para la clínica especialmente en aspectos tan importantes como el momento idóneo del inicio del tratamiento para la hepatitis en pacientes coinfectados por VIH/VHC.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 Coinfección por VIH/VHC.

2.1.1 Introducción

La introducción del tratamiento antirretroviral (TARV) y la mejoría de la profilaxis contra patógenos oportunistas ha conseguido cambiar la historia natural de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)¹, con un progresivo descenso de las infecciones oportunistas y el aumento de las enfermedades no relacionadas directamente con el VIH, como las hepatitis crónicas². La hepatopatía crónica por VHC es la comorbilidad más relevante que presentan los sujetos infectados por el VIH en España, por su frecuencia, por la progresión a enfermedad hepática terminal y porque incrementa el riesgo de hepatotoxicidad por antirretrovirales.

2.1.2 Epidemiología

La hepatitis C es la comorbilidad más prevalente en los pacientes infectados por el VIH en nuestro país³ debido a que ambos virus comparten vías de transmisión⁴. La prevalencia de coinfección por VIH/VHC en España es de las más altas de Europa debido a que durante muchos años el consumo de drogas por vía parenteral fue el principal mecanismo de transmisión del VIH en nuestro país^{5,6}.

En los primeros años del siglo XXI, la prevalencia de serología positiva para VHC en los pacientes infectados por VIH en España era del 61%, de los cuales el 96% tenían antecedentes de drogadicción por vía parenteral y el 88.8% tenían replicación activa del virus confirmada por PCR positiva⁷. Sin embargo, un estudio reciente de la Cohorte de la Red de Investigación en Sida (CoRIS) ha mostrado un descenso importante en la prevalencia de coinfección por VHC en España en los nuevos pacientes infectados por el VIH en España, como consecuencia de un drástico descenso en el consumo de drogas por vía parenteral como mecanismo de transmisión del VIH en nuestro país⁸.

Para estimar el efecto que estos cambios epidemiológicos han podido tener en la prevalencia global de VHC en los pacientes infectados por el VIH se estimó la prevalencia de infección por VHC en 1549 pacientes infectados por el VIH atendidos consecutivamente en mayo y junio del año 2010 en tres grandes hospitales de Madrid y compararon estos resultados con un estudio similar realizado por estos autores en el año 2002 con 1560 pacientes⁹. La prevalencia global de serología positiva para VHC descendió del 65% en 2002 (82% con PCR positiva para VHC) al 47% en 2010 (66% con PCR positiva para VHC) con lo que puede establecerse que al menos en Madrid capital la prevalencia de infección activa por VHC confirmada por PCR en pacientes infectados por el VIH es actualmente del 30%.

Los programas de reducción de daños en nuestro país con la dispensación de jeringuillas y metadona, la mejoría en la educación sanitaria, así como el tratamiento de los pacientes coinfectados, también han contribuido a reducir la incidencia y prevalencia de coinfección en nuestro país.

2.1.3 Historia natural de la coinfección

La infección aguda por el VHC generalmente pasa inadvertida, ya que suele ser asintomática. El número de sujetos que tras infectarse logran aclarar la infección es escaso y la mayoría de ellos permanecerán infectados a lo largo de toda su vida. La infección crónica por el VHC progresa muy lentamente, con pocos o ningún síntoma, marcando la progresión el aumento de la fibrosis hepática¹⁰. Entre un 15-20% de los pacientes desarrollarán cirrosis hepática tras 20-30 años de infección. Existe varios factores (edad, alcohol, coinfección...) que se asocian a una progresión hacia la cirrosis más rápida^{10,11}.

La infección por VIH se asocia con una progresión más rápida de la hepatopatía VHC¹²⁻¹⁶, incluido el desarrollo de cirrosis, descompensación hepática^{6,17-19}, carcinoma

hepatocelular²⁰ y muerte por causa hepática^{17,21-24}. En cuanto a los mecanismos que aceleran la enfermedad hepática en los pacientes infectados por el VIH, parece que se debe a la capacidad del virus de infectar las células estrelladas y promover la síntesis de colágeno. Además, la inmunodepresión producida por el VIH, hace que en estos pacientes la hepatitis C aguda se cronifique con mas frecuencia²⁵ y que las concentraciones de ARN-VHC sean mayores tanto en sangre como en el hígado²⁶⁻²⁹.

Afortunadamente, existen pruebas de que el TARV puede atenuar la enfermedad hepática al restablecer la función inmunológica y disminuir la activación e inflamación inmunológica³⁰⁻³²

Se han publicado datos contradictorios del impacto del VHC sobre la historia natural de la infección por VIH. El VHC produce una activación inmune persistente que facilita la transcripción del VIH e incrementando el riesgo de progresión a sida y muerte en estos pacientes^{33,34}. Recientemente, se ha demostrado que la erradicación del VHC en pacientes coinfectados, a parte de disminuir los eventos relacionados con la hepatopatía, se asocia con una reducción en la progresión del VIH³⁵.

2.1.4 Virología

El VHC (familia *Flaviviridae*, género *Hepacivirus*), presenta un ARN de cadena única y polaridad positiva constituido por 9.000-10.000 nucleótidos³⁶ y contiene una región de lectura abierta que abarca la casi totalidad del genoma y codifica una única poliproteína precursora de 3.010 aminoácidos³⁷. El virus exhibe un considerable grado de heterogeneidad genética, y esta se clasifica bajo dos grandes epígrafes: cuasiespecies y genotipos³⁸.

El término **cuasiespecies** se refiere a la variabilidad genética de la población vírica en un determinado individuo, producido por la incapacidad de la ARN polimerasa de reconocer y reparar las inserciones erróneas de nucleótidos³⁹. Esta variabilidad hace

posible una mayor adaptabilidad del virus al hospedador y probabilidad de establecer infecciones crónicas persistentes.

El término **genotipos** se refiere a la variabilidad genética de mayor magnitud observada en los genomas de diferentes aislados víricos a lo largo de todo el mundo. Hasta la fecha se han reconocido seis grandes genotipos o “*clades*” del VHC denominados del 1 al 6 y más de 70 subtipos que se identifican por letras (por ejemplo: 1a, 1b, 2c, 3c, etc.)⁴⁰⁻⁴². La caracterización genotípica del VHC tiene interés:

Epidemiológico: Algunos genotipos presentan una distribución geográfica característica⁴³. La mayoría de los pacientes coinfectados en España están infectados por el genotipo 1⁴⁴ aunque la distribución puede variar según la presencia de otros factores de riesgo⁴⁵.

Clínico: El genotipo se ha relacionado con el curso clínico de la infección por el VHC^{46,47} y es predictor de la respuesta al tratamiento. Los pacientes con genotipos 1, 4, 5 ó 6 tienen una peor respuesta al tratamiento antiviral con interferón y ribavirina que los infectados por genotipo 2 ó 3⁴⁸⁻⁵⁰.

2.1.5 Diagnóstico

Para el cribado se utilizan métodos serológicos (ELISA) junto con ensayos de inmunotransferencia con antígenos recombinantes (RIBA) que detectan anticuerpos frente a antígenos del VHC. Las técnicas de amplificación genética (PCR) se utilizan para confirmar, cuantificar la carga viral basal antes del tratamiento y monitorizar la respuesta a éste^{51,52}. Los pacientes con serología (Ac anti-VHC) positiva y ARN-VHC detectable durante más de 6 meses presentan una hepatitis C crónica. En los pacientes con serología positiva y ARN-VHC indetectable el virus se ha erradicado como consecuencia de una resolución espontánea o el tratamiento antiviral eficaz. La

detección de genotipos es de utilidad para planificar y predecir la respuesta al tratamiento antiviral^{53,54}.

2.1.6 Fibrosis hepática

En la hepatitis C, la fibrosis hepática se produce como consecuencia de un cambio de carácter reparador que aparece como respuesta a la actividad necroinflamatoria mantenida producida por el virus. Este cambio se caracteriza por la acumulación anormal de matriz extracelular (colágeno), lo que da lugar a la desorganización de la arquitectura normal y a la pérdida de su función. La fibrosis es un proceso dinámico y su progresión, puede llevar al desarrollo de cirrosis hepática y enfermedad hepática terminal, sin embargo, es necesario un grado de fibrosis hepática importante para desarrollar una enfermedad hepática clínicamente relevante.

2.1.6.1 Importancia de la determinación de la fibrosis hepática

La estadificación de la fibrosis resulta útil para valorar la historia natural y el tratamiento de la hepatitis C.

- El grado de fibrosis se correlaciona con la progresión y el pronóstico de la enfermedad hepática⁵⁵. Esto es de especial interés en coinfectados por VIH/VHC porque presentan un menor tiempo hasta el establecimiento de cirrosis y enfermedad hepática terminal. La existencia de cirrosis obliga a descartar varices esofágicas y carcinoma hepatocelular⁵⁶.
- La presencia de fibrosis avanzada es un criterio de priorización para iniciar tratamiento para la hepatitis C⁵⁷.
- El grado de fibrosis es un predictor y marcador de la respuesta al tratamiento antiviral⁵⁸.

- El conocimiento del grado de fibrosis, puede ayudar a seleccionar el tipo de TARV en coinfectados por VIH/VHC dada la hepatotoxicidad de ciertos fármacos antirretrovirales.

2.1.6.2 Métodos para la valoración de la fibrosis hepática

La biopsia hepática ha sido considerada hasta fechas recientes el “patrón de oro” para cuantificar el estadio de fibrosis hepática y ha sido recomendada extensamente para el manejo de la hepatitis C en pacientes coinfectados por VIH/VHC. Existen procedimientos no invasivos para estimar el grado de fibrosis, entre los que se encuentran la elastometría transitoria y los marcadores biológicos.

2.1.6.2.1 Métodos invasivos

La biopsia hepática es un procedimiento invasivo que consiste en obtener un pequeño fragmento de tejido hepático para realizar un estudio histopatológico que evalúa la gravedad de las lesiones hepáticas ocasionadas por el VHC (grado de actividad y estadio de fibrosis) y los procesos patológicos concomitantes⁵⁹⁻⁶¹.

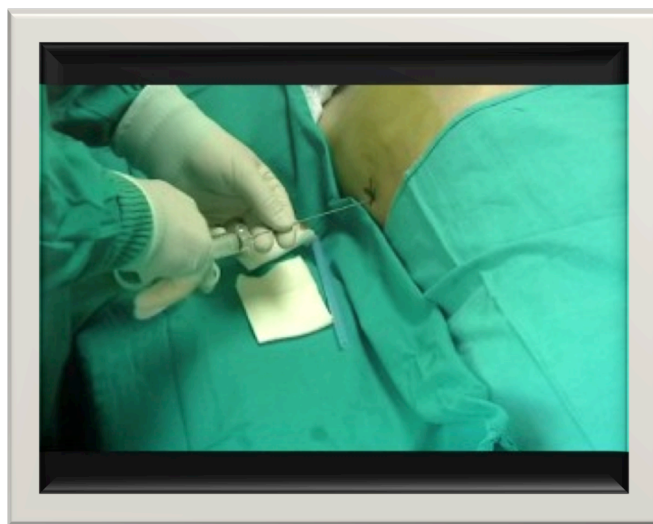


Figura 1: Realización de una biopsia hepática percutánea por el Dr. Berenguer en el hospital de día.

Entre las limitaciones de la biopsia se encuentran su naturaleza invasiva y sus posibles complicaciones, el tamaño inadecuado de la biopsia, la variabilidad de su lectura intra e inter observador, la fragmentación tisular, el elevado coste, y la baja aceptación que presenta en la mayoría de los pacientes⁶²⁻⁶⁵.

2.1.6.2.2 Métodos no invasivos

El papel de la biopsia esta siendo reevaluado debido a sus limitaciones y tendencia de un tratamiento cada vez más temprano y se están comenzando a utilizar otros métodos no invasivos para evaluar el estadio de fibrosis.

La **elastografía de transición** (FibroScan®), es una técnica no invasiva que mide la elasticidad hepática y sirve para determinar la fibrosis hepática. Es una técnica rápida y fiable que permite valorar a un número mayor de pacientes y ha sido validada frente a la escala de METAVIR de la biopsia hepática⁶⁶⁻⁶⁹. La elastografía tiene un elevado rendimiento para el diagnóstico de fibrosis hepática en pacientes coinfectados por VIH/VHC⁷⁰⁻⁷³, sin embargo, otros parámetros como la inflamación⁷⁴ y la esteatosis hepática⁷⁵ pueden afectar la interpretación de los resultados.

Los **biomarcadores séricos** son parámetros que tratan de establecer cuál es el estadio de fibrosis y de actividad inflamatoria equivalente a la información que suministra la biopsia. Se clasifican en indirectos, que reflejan alteraciones de la función hepática⁷⁶⁻⁸¹ y directos, que reflejan cambios en las macromoléculas de la matriz⁸²⁻⁸⁵.

2.1.6.3 Histología

Las lesiones histológicas producidas por el VHC abarcan un amplio espectro morfológico, que va desde cambios inflamatorios mínimos hasta cirrosis⁸⁶. Se han propuesto varios sistemas de clasificación histológica para estandarizar y evaluar con objetividad los hallazgos histológicos en pacientes con hepatitis C^{87,88}. Los más

conocidos son los índices de actividad histológica de Knodell y cols⁸⁹, el índice modificado por Ishak⁹⁰, la clasificación de Scheuer⁹¹ y el sistema METAVIR⁹².

El sistema de puntuación histológica METAVIR, es sencillo y evalúa tanto la actividad necroinflamatoria (grado) como la fibrosis hepática (estadio). Este sistema esta compuesto por dos letras y dos sistemas numéricos de codificación^{92,93} como se muestra en la siguiente tabla (Tabla 1).

Letra A; Actividad histológica	Letra F; Fibrosis
A0= Ausencia de actividad	F0= Ausencia de fibrosis
A1= Actividad leve	F1= Fibrosis portal sin tabiques
A2= Actividad moderada	F2= Fibrosis portal con pocos tabiques
A3= Actividad intensa	F3= Numerosos tabiques sin cirrosis
	F4= Cirrosis

Tabla 1: Clasificación Sistema METAVIR

La esteatosis hepática en forma de macroesteatosis o esteatosis microvesicular es común en los pacientes coinfectados por VIH/VHC y ésta se gradúa según el porcentaje de hepatocitos con vesículas de grasa visibles en la biopsia hepática.

2.1.6.4 Factores que se asocian con la progresión de fibrosis hepática.

2.1.6.4.1 Factores virales.

El VIH infecta las células estrelladas del hígado, activando su capacidad fibrogénica^{94,95} y contribuyendo a una progresión más acelerada de la fibrosis hepática⁹⁶⁻¹⁰⁰.

El grado de viremia y el genotipo del VHC podrían ser factores asociados a progresión de la fibrosis, sin embargo no se ha podido confirmar en estudios clínico-epidemiológicos realizados en coinfectados^{18,19,101}.

2.1.6.4.2 Edad

Los pacientes que adquieren la infección por el VHC a mayor edad presentan mayor progresión de la fibrosis hepática^{19,102-105}.

2.1.6.4.3 Inmunodepresión

Varios estudios han demostrado una correlación entre una menor cifra de linfocitos T CD4+ y una mayor progresión a fibrosis hepática^{18,19,99,102,105-109}.

2.1.6.4.4 Alcohol

El efecto que tiene el alcohol como promotor de fibrogénesis y como agente hepatotóxico es muy conocido. El consumo de alcohol también se ha identificado como factor de riesgo de progresión a fibrosis en pacientes coinfectados por VIH/VHC^{19,105,109,110}.

2.1.6.4.5 Esteatosis hepática

La esteatosis hepática es frecuente en los pacientes coinfectados por VIH/VHC y su etiología es multifactorial. En la actualidad, la esteatosis se asocia a los factores clásicos propios de la población general y a factores relacionados con el VHC y el TARV. Al igual que en los mono infectados¹¹¹⁻¹¹³, en coinfectados VIH/VHC se ha demostrado la asociación entre la esteatosis hepática y la progresión a fibrosis hepática^{106,114-118}.

2.1.6.4.6 Resistencia a la insulina

La documentación de alteraciones metabólicas en los pacientes con hepatopatías crónicas, ha favorecido la búsqueda de nuevos marcadores de fibrosis hepática relacionados con el metabolismo hidrocarbonado. El hígado es un órgano clave en la homeostasis de los hidratos de carbono como lo demuestran estudios de diabetes en cirróticos¹¹⁹. En la última década varios estudios en pacientes monoinfectados han encontrado una asociación directa entre la RI y la fibrosis hepática¹¹⁹⁻¹²⁸. En cambio, en pacientes coinfectados por VIH/VHC el único estudio que analizó este hecho no encontró una asociación entre los niveles de HOMA y el grado de fibrosis hepática cuantificada mediante biopsia hepática¹²⁹.

El mecanismo por el cual la RI promueve la progresión a la fibrosis no se conoce. En este sentido, aunque algunos autores han postulado que la asociación entre la RI y fibrosis hepática no sea necesariamente directa^{130,131}, las teorías más aceptadas son dos; una de ellas sostiene que el estado de hiperinsulinemia e hiperglucemia produce la activación de las células estrelladas del hígado, principales productoras de la matriz extracelular hepática^{132,133} y la otra que la esteatosis hepática presente en los pacientes con RI deriva en esteatohepatitis y finalmente en cirrosis^{134,135}.

2.1.6.4.7 Tratamiento antirretroviral

Estudios realizados en pacientes coinfectados por VIH/VHC demuestran que la exposición al TARV se asocia con una reducción en la progresión a fibrosis^{30,31,136-139} y por consiguiente a una mejoría en el pronóstico de la enfermedad hepática^{32,101,140}.

Entre los estudios que analizan el efecto de los diferentes antirretrovirales sobre la fibrosis, los resultados son muy dispares y existen limitaciones metodológicas^{136,138,141}.

2.1.6.4.8 Tratamiento de la hepatitis C.

Al igual que en los pacientes monoinfectados¹⁴², la respuesta virológica al interferón y la ribavirina se asocia a una menor progresión de la fibrosis hepática y una reducción de las complicaciones y la mortalidad relacionada con el hígado en pacientes coinfectados por VIH/VHC^{103,143-145}.

2.1.7 Tratamiento del VIH en pacientes coinfectados

En pacientes coinfectados, la buena situación inmunológica, el control de la replicación viral del VIH y recibir TARV se asocian con un mejor pronóstico global, menor velocidad de progresión de la enfermedad hepática y menor riesgo de complicaciones y muerte por causa hepática^{32,101,137}. Por ello, aun en ausencia de ensayos clínicos que valoren el impacto del TARV en la evolución de la fibrosis hepática en pacientes coinfectados por VIH/VHC, las evidencias anteriormente descritas respaldan el control precoz de la replicación del VIH y el mantenimiento de una buena situación inmunológica en estos pacientes.

2.2 Tratamiento de la hepatitis C en coinfectados por el VIH

2.2.1 Introducción

El tratamiento del VHC en los pacientes coinfectados por VIH/VHC, se considera una prioridad no sólo porque en estos pacientes la infección por VHC es más agresiva^{17,137} y favorece la aparición de hepatotoxicidad¹⁴⁶⁻¹⁵² sino porque la erradicación del VHC modifica la historia natural de ambas infecciones. En la cohorte GESIDA 3603 con cerca de 1.500 pacientes y tras una mediana de seguimiento de cerca de 4 años se observó que la erradicación del VHC en pacientes coinfectados no sólo se asociaba con una reducción significativa de las complicaciones hepáticas y de las muertes por hepatopatía¹⁴⁵, sino también con una reducción significativa de los nuevos eventos de

SIDA y de las muertes de causa no hepática, tales como las infecciones bacterianas, los tumores no relacionados con el SIDA y de las enfermedades cardiovasculares³⁵. Por todo ello, las guías recomiendan considerar el inicio de tratamiento en todo paciente con infección por VHC que esté coinfectado por el VIH. Los parámetros que se deberían valorar antes del inicio del tratamiento son aquellos relacionados con el propio VHC, los factores de la propia enfermedad hepática y las características del huésped.

Hasta el año 2011 el tratamiento de la hepatitis C se basaba en la combinación de interferón pegilado y ribavirina. Sin embargo, el desarrollo de nuevas moléculas de acción antiviral directa, ha revolucionado el tratamiento de la hepatitis C. En la actualidad existen 2 inhibidores de la proteasa (boceprevir y telaprevir) autorizados para el tratamiento en combinación con interferón y ribavirina en pacientes coinfectados con genotipo 1 y que permite un incremento en las tasas de RVS, con respecto a la biterapia. En un futuro cercano dispondremos de un elevado número moléculas de acción antiviral directa, que en la actualidad se encuentran en distintas fases de desarrollo clínico. Algunos de ellos ya han alcanzado fases avanzadas de desarrollo, tanto en combinación con interferón y/o ribavirina o como en terapias libres de interferón, con muy elevadas tasas de RVS.

2.2.2 Recomendaciones del tratamiento del VHC en pacientes coinfectados

Las recomendaciones para el tratamiento del VHC con interferón y ribavirina en pacientes con infección por VIH (fármacos, dosificación y duración) se han establecido basándose en varios ensayos clínicos¹⁵³⁻¹⁵⁸.

2.2.2.1 Fármacos y dosis

Hasta fechas recientes, el tratamiento estándar de la hepatitis C en coinfectados por VIH y VHC se basaba en la asociación de interferón pegilado alfa con ribavirina. Actualmente, en España, éste sigue siendo el tratamiento recomendado para el tratamiento de la hepatitis por genotipos 2, 3 y 4. En cambio en los pacientes con genotipo 1, el tratamiento recomendado es la utilización de un inhibidor de la proteasa del VHC de primera generación (telaprevir o boceprevir) asociado al interferón pegilado y la ribavirina.

El interferón tiene actividad antiviral, induciendo la expresión de múltiples genes estimulados por interferón, bloqueando la síntesis de proteínas virales, además de disminuir la estabilidad de ARN viral. En el tratamiento de la hepatitis C la dosis recomendada de interferón pegilado alfa-2a es de 180 µg por semana de forma subcutánea y la dosis del interferón pegilado alfa-2b debe ajustarse al peso siendo de 1,5 µg/kg/semana de forma subcutánea.

La ribavirina es un análogo de nucleósido que tiene un amplio espectro de actividad antiviral, aunque su mecanismo de acción no se conoce completamente. La ribavirina se administra por vía oral, según el peso corporal y repartiendo la dosis total diaria en dos tomas.

Boceprevir es un inhibidor de la proteasa NS3 del VHC, que se une, mediante un enlace covalente reversible, al sitio activo de la serín-proteasa NS3/A4 a través de un grupo funcional alfa-cetoamida para inhibir la replicación viral en las células huésped infectadas por el VHC. La dosis de boceprevir es de 800 mg (4 cápsulas) cada 8 horas administrados con comida.

Telaprevir es un inhibidor de la serín-proteasa NS3/4A del VHC, enzima esencial para la replicación del VHC. La dosis de telaprevir es de 750 mg (2 comprimidos) cada 8 horas, administrados con comida.

2.2.2.2 Duración y monitorización del tratamiento

La mayoría de las guías recomiendan el tratamiento durante 48 semanas en todos los pacientes coinfectados por VIH/VHC infectados por genotipos 2,3 y 4. En los pacientes en los que no se consiga la indetectabilidad o un descenso superior $2 \log_{10}$ del ARN-VHC en la semana 12 de tratamiento, éste se suspende dado el alto valor predictivo de fracaso terapéutico de esta regla de parada de la semana 12 y se evitan efectos adversos y costes innecesarios.

En los pacientes con genotipo 1 la introducción de los inhibidores de la proteasa en la práctica clínica ha supuesto una modificación de los parámetros de monitorización y las reglas de parada. La duración total del tratamiento basado en estos fármacos es de 48 semanas en pacientes coinfectados por VIH/VHC.

Telaprevir debe administrarse en combinación con interferón y ribavirina durante 12 semanas, seguidas de 36 semanas de tratamiento con biterapia hasta completar las 48 semanas totales de tratamiento. El tratamiento se suspenderá si el ARN-VHC es superior a 1.000 UI/ml en la semana 4 o 12, o si es detectable a la semana 24 de tratamiento.

Boceprevir debe administrarse después de un periodo de 4 semanas de “lead-in” junto con interferón y ribavirina. La triple terapia debe mantenerse durante 32 semanas más, seguidos de 12 semanas de biterapia hasta completar las 48 semanas totales de tratamiento, según controles de carga viral y situación clínica del paciente. El tratamiento se suspenderá si en la semana 12 la carga viral es superior a 100 UI/ml o a la semana 24 el RNA-VHC es detectable.

2.2.3 Objetivos del tratamiento del VHC

El objetivo del tratamiento antiviral en pacientes coinfectados es la erradicación del VHC para modificar la historia natural de la hepatopatía ya establecida. La infección

del VHC puede considerarse erradicada cuando se logra la respuesta virológica sostenida (RVS), definida como la indetectabilidad de ARN-VHC en el suero de un paciente 6 meses después de haber finalizado el tratamiento.

2.2.4 Selección de candidatos para el tratamiento del VHC

Hoy en día se acepta que, en ausencia de contraindicaciones (Tabla2), todos los pacientes coinfectados por VIH/VHC deben ser considerados como potenciales candidatos para el tratamiento del VHC, debido a su alto riesgo de progresión a cirrosis, peor pronóstico y mayor riesgo de hepatotoxicidad.

Alergia a la ribavirina o el interferón.
Enfermedad hepática descompensada.
Ingesta de alcohol o consumo activo de drogas.
Trastorno psiquiátrico grave.
Enfermedad oportunista activa.
Hipertiroidismo no controlado
Enfermedad autoinmune.
Embarazo o previsión próxima de embarazo.
Co-morbilidad grave
Receptor de trasplante.

Tabla 2: Contraindicaciones para iniciar tratamiento del VHC en coinfectados.

En los pacientes coinfectados por VIH/VHC la situación inmunológica y el grado de hepatopatía son dos aspectos importantes a tener en cuenta antes de comenzar un tratamiento.

2.2.4.1 Tratamiento según la cifra de linfocitos T CD4+

Hasta hace poco la mayoría de las recomendaciones desaconsejaban el tratamiento con interferón en pacientes con linfocitos T CD4+ <200 células/mm³¹⁵⁹⁻¹⁶². Sin embargo, y a pesar de que la seguridad del tratamiento en pacientes muy inmunodeprimidos no se ha podido evaluar en los ensayos clínicos, dados los

potenciales beneficios, se ha sugerido que el tratamiento es eficaz y seguro en esta población^{158,163-165}.

2.2.4.2 Tratamiento según estadio de hepatopatía

El estadio de fibrosis en pacientes con genotipos desfavorables se ha utilizado para determinar la prioridad de iniciar tratamiento. No obstante, la mayor agresividad de la enfermedad y la mejoría del pronóstico con la curación en coinfectados por VIH/VHC, indican que el tratamiento deba realizarse tan pronto como sea posible y de forma independiente del grado de fibrosis hepática, siendo los cirróticos compensados los que más se pueden beneficiar de una RVS¹⁶⁶.

2.2.5 Eficacia del tratamiento con interferón pegilado y ribavirina en los pacientes coinfectados.

En el periodo de realización del presente estudio el tratamiento estándar para la hepatitis C en la población general se era el interferón pegilado y la ribavirina. Con esta pauta, se lograba una RVS aproximadamente del 50%-60% en los pacientes con genotipo 1 y entre el 80%-90% en los que tienen genotipos 2 ó 3^{167,168}. La respuesta al tratamiento en coinfectados por VIH/VHC es todavía inferior a la obtenida en monoinfectados con el interferón pegilado y la ribavirina. Los estudios más importantes que han evaluado la eficacia y la seguridad del tratamiento en pacientes coinfectados por VIH/VHC son los siguientes; APRICOT¹⁵⁸, RIBAVIC¹⁵⁴, ACTG A5071¹⁵⁵, ICOS¹⁵³, BARCELONA¹⁵⁶ y PRESCO¹⁵⁷. Estos estudios demuestran la superioridad del interferón pegilado sobre el estándar, la superioridad del tratamiento combinado sobre la monoterapia y que el genotipo es el predictor más importante de respuesta al tratamiento en coinfectados. En una revisión reciente¹⁶⁹, se analizó la eficacia por intención de tratar de los estudios publicados hasta la fecha, según el cual, la RVS

global se situaba entre un 17% y 53% (44-81% en genotipo 2/3 y 19-47% en genotipo 1). Estos resultados tan dispares, se deben en parte a las diferentes características basales (grado de fibrosis, ARN-VHC al inicio, representación del genotipo...), dosis de RBV y tasas de abandonos (pej. 25% en APRICOT frente a 59% en el estudio ICOS) de los diferentes ensayos.

No se han encontrado diferencias entre los dos interferones (2a frente a 2b) en cuanto a eficacia o seguridad en pacientes coinfectados por VIH/VHC^{145,156}. La utilización de ribavirina a dosis de 1000-1200 mg/día es segura y esta relacionada con una mayor respuesta viral que con dosis más bajas^{157,170}.

2.2.6 Factores predictores de respuesta al tratamiento con interferón pegilado y ribavirina

La predicción de la RVS a la biterapia con interferón y ribavirina ofrece numerosas ventajas, ya que ayuda a seleccionar a los pacientes y a individualizar los regímenes de tratamiento, lo que permite reducir costes y optimizar resultados. Existen varios factores predictores de respuesta al tratamiento en pacientes coinfectados por VIH/VHC, entre los que se encuentran factores virales, cambios en la carga viral durante el tratamiento, factores relacionados con el tratamiento y los factores relacionados con el paciente.

Los factores virales son los mejores predictores de respuesta y entre ellos se encuentran el genotipo y el ARN-VHC al inicio del tratamiento. Así, los pacientes con genotipos 1 y 4 tienen una menor tasa de respuesta que aquellos con genotipos 2 y 3 y las cargas virales del VHC más bajas se asocian con una mayor tasa de respuesta en los pacientes coinfectados por VIH/VHC^{154-156,158}. Una vez que se ha iniciado el tratamiento existen factores cinéticos que pueden predecir la RVS como son la respuesta viral rápida y respuesta viral precoz (reducción de $>2 \text{ Log}_{10}$ de la carga viral basal o el aclaramiento de ésta a las 12 semanas de tratamiento). La respuesta viral

rápida tiene un alto valor predictivo positivo, mientras que el valor predictivo negativo es más elevado con la respuesta viral precoz, por lo que es el factor utilizado como regla de parada y para clasificar a los pacientes de respondedores o no respondedores en la práctica clínica habitual.

Con respecto a los factores relacionados con el tratamiento de la hepatitis C se ha demostrado que las dosis óptimas de ribavirina y el grado de adherencia predicen la RVS en pacientes coinfectados VIH/VHC^{157,170}.

En relación con los factores relacionados con el TARV, la utilización de ciertos ITAN como la zidovudina, la estavudina o la didanosina se han relacionado con una peor RVS como consecuencia de sus efectos adversos¹⁷¹⁻¹⁷⁵. Algunos autores, sugirieron que el abacavir podría interactuar con la ribavirina y comprometer la eficacia del tratamiento en coinfectados por VIH/VHC¹⁷⁵⁻¹⁷⁷. Sin embargo, esto no se ha podido demostrar en estudios más rigurosos^{171,178}. Aunque no se ha demostrado una clara asociación entre la situación inmunoviológica y la respuesta al tratamiento del VHC, existen publicaciones que relacionan la RVS con los linfocitos T CD4+ basales¹⁷⁵, la carga viral del VIH basal¹⁵⁵, el nadir de linfocitos T CD4+¹⁷⁹ y la categoría clínica del CDC¹⁴⁵.

En la última década, de los datos obtenidos de ensayos clínicos y cohortes de pacientes coinfectados por VIH/VHC se ha documentado la existencia de un número importante de factores relacionados con el huésped capaces de predecir la respuesta viral. Recientemente se ha descubierto que ciertos polimorfismos de un solo nucleótido (rs 12979860) del gen de la interleuquina 28B (IL28B) son buenos predictores de la respuesta al tratamiento del VHC, tanto en pacientes mono infectados¹⁸⁰⁻¹⁸³ como en coinfectados por VIH/VHC^{104,184,185}. Los pacientes con genotipo CC tienen una mayor RVS y aclaran con mayor facilidad el virus que los pacientes con CT y TT.

Aunque de menor relevancia que los previos, se han encontrado otros factores relacionados con el huésped entre los que se encuentran, el grupo étnico, la edad, el IMC, la resistencia a la insulina, la proteína 10 inducible por el IFN gamma, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la fibrosis hepática, que han demostrado predecir la respuesta viral en pacientes coinfectados VIH/VHC^{49,154,186-194}.

Para poder optimizar el tratamiento y así mejorar el pronóstico de los pacientes coinfectados por VIH/VHC, es importante identificar nuevos factores modificables relacionados con el individuo o con el tratamiento de la hepatitis C. En general, los factores que predicen la respuesta al tratamiento se tienen en cuenta para la creación de las recomendaciones de tratamiento y permiten individualizar el tratamiento de cada paciente.

2.2.7 Resistencia a la insulina como predictora de respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina.

La mayoría de los pacientes en los que se considera que es difícil tratar su hepatitis C (cirróticos, obesos, coinfectados por VIH y Afro-Americanos), tienen la RI como un denominador común^{195,196}. La presencia de RI medida mediante HOMA en pacientes con hepatitis C, se ha asociado a una peor respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina. El primer trabajo en analizar esta asociación fue publicado por Romero et al.¹⁹⁷. En este estudio, se alcanzó una RVS en el 61%, 40% y 20% dependiendo del HOMA, <2, entre 2-4 y > 4 respectivamente. Como se muestra en el siguiente gráfico (Gráfico 1), los valores HOMA no se modificaron durante el seguimiento de los pacientes no respondedores (línea roja), mientras que descendían de forma progresiva (línea azul) en aquellos que alcanzaron una RVS. Además, en los pacientes que recaían después de una RVS, los niveles de HOMA volvían a los valores basales (línea verde).

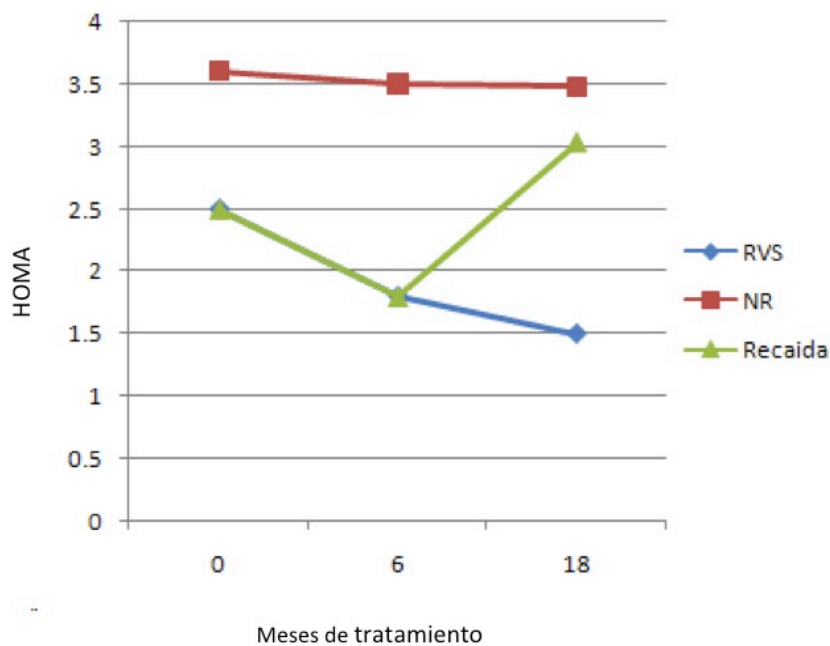


Grafico 1: Modificado del artículo original de Romero et al. Evolución de los valores de HOMA según la respuesta al tratamiento; respondedores (RVS), no respondedores (NR) y recaídas.

No se sabe si las alteraciones metabólicas propias de la infección por el VHC han de ser consideradas como factores pronósticos de respuesta antiviral o si juegan un papel en el pronóstico terapéutico a través de un mecanismo que interfiere con la actividad de interferón. La hipótesis de “las interacciones entre la cascada de señalización de la insulina y el interferón” es la que más se baraja últimamente.

Merchant et al¹⁹⁰. no encontraron una relación entre la RI y la RVS en 155 pacientes coinfectados por el VIH y VHC. Los autores concluyen por lo tanto que la RI no es un predictor relevante de RVS en los pacientes coinfectados por VIH/VHC y que en esta población hay otros factores que influyen en esta asociación.

2.3 Resistencia a la insulina

El término de resistencia a la insulina (RI) se comenzó a utilizar unos años después de la introducción del tratamiento con insulina en 1922, para describir aquellos pacientes que requerían dosis más altas de insulina para controlar la hiperglucemia¹⁹⁸. La mayoría de estos pacientes desarrollaban RI secundaria a anticuerpos frente a la insulina, que en esos años era impura y procedía de animales¹⁹⁹. Con la aparición de la insulina humana recombinante, este fenómeno prácticamente desapareció, cambiando el espectro etiológico y clínico de la RI. Actualmente, la RI en lugar de ser una complicación rara del tratamiento, es reconocida como un componente fundamental de varios trastornos como son el síndrome metabólico, la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2, acromegalia, enfermedad coronaria o el síndrome de ovario poliquístico entre otras.

2.3.1 Definición actual

La resistencia insulínica se caracteriza por una respuesta biológica insuficiente a la acción de la insulina exógena y/o endógena²⁰⁰ en diferentes tejidos del organismo, sobretodo el hígado, músculo y tejido adiposo²⁰¹.

2.3.2 Fisiopatología

La insulina es la principal hormona anabólica y anticatabólica del organismo y es el regulador más importante de la homeostasis de la glucosa. Se encarga de mantener un equilibrio preciso entre la producción de glucosa en el hígado y la captación y utilización periférica de esta sustancia.

La insulina es producida por las células β de los islotes pancreáticos de Langerhans, siendo la glucosa el principal regulador de su síntesis y secreción. Una vez en el torrente sanguíneo, la insulina se une a su receptor en los lugares de acción (hígado,

músculo y tejido adiposo), provocando un reclutamiento de moléculas de señalización intracelular (IRS 1-2) y una cascada de reacciones de fosforilación y desfosforilación, que en último término provocan los efectos metabólicos y mitógenos de la insulina. El espectro de acción de la insulina es amplio pero su principal función es reducir los niveles de glucemia al bloquear la liberación hepática (inhibición de la gluconeogénesis) y aumentar la captación en músculo y adipocito (translocación de los transportadores de glucosa o GLUT4).

La RI puede desarrollarse por alguna anomalía en la cascada de señalización de insulina, aunque lo habitual es que se produzca por otros factores que de alguna forma son capaces de interferir o modificar alguna de las moléculas implicadas en esta vía. Cada vez existen más pruebas de como diversos procesos como la obesidad, la inflamación o el estrés oxidativo tienen un papel más importante en la patogénesis de la resistencia a la insulina.

El espectro clínico que acompaña a la RI es muy variado y viene dado por cómo actúa la insulina en diferentes tejidos diana.

- **Músculo:** La insulina promueve la introducción de glucosa en el músculo esquelético mediante la estimulación de GLUT4. La RI ocasiona un descenso en la captación de glucosa por el músculo.
- **Tejido adiposo:** la insulina disminuye la actividad de determinadas lipasas disminuyendo en la producción de ácidos grasos libres: efecto antilipolítico. La RI, dará lugar a un aumento de ácidos grasos libres.
- **Hígado:** la insulina, de forma fisiológica, inhibe la expresión de enzimas gluconeogénicas. La RI aumenta la síntesis hepática de glucosa.

2.3.3 Técnicas de medida de la RI

Los métodos para estimar la RI son múltiples y éstos deben ser utilizados según el tipo de estudio y los medios disponibles.

Clamp (pinzamiento) hiperinsulinémico euglucémico: Es el método de referencia y considerada el “patrón de oro” para la cuantificación de la sensibilidad a la insulina *in vivo*²⁰². Esta técnica se basa en la administración de insulina después de ayuno nocturno y la administración de dextrosa al 20% para mantener la glucosa en nivel normales. Después de varias horas de constante perfusión de insulina, se alcanzan condiciones de equilibrio general, para insulina plasmática, glucosa en sangre, y tasa de infusión de dextrosa. Suponiendo que el estado de hiperinsulinemia es suficiente para suprimir totalmente la producción hepática de glucosa, y puesto que no hay ningún cambio neto en las concentraciones de glucosa en sangre bajo estas condiciones, la tasa de infusión de glucosa debe ser igual a la tasa de utilización de glucosa. De esta forma se puede calcular la sensibilidad a la insulina, mediante una fórmula matemática.

La complejidad y precio de este método impiden utilizarla como prueba diagnóstica en la práctica clínica y estudios epidemiológicos, por lo que en la actualidad se utiliza con fines de investigación.

El Índice o método HOMA (*homeostasis model assessment*): se basa en modelos matemáticos y aportan una medida semicuantitativa de la sensibilidad a la insulina²⁰³. Asume que existe un equilibrio entre el hígado y la célula pancreática, es decir, la concentración de glucosa la define la producción hepática que está inhibida por la insulina, mientras que la insulinemia es el reflejo de la respuesta de la célula β a la concentración de glucosa. Por tanto, la RI vendría dada por una respuesta disminuida de la producción hepática de glucosa al efecto inhibitorio de la insulina. La sensibilidad a la insulina se estima a partir de la glucemia e insulinemia basal según la siguiente

formula: $\text{Insulina basal } (\mu\text{U/ml}) \times \text{Glucemia basal (mg/dl)} \times 0.055 / 22.5$. Es un método que ha sido validado y tiene una correlación razonable con el clamp, es útil en pacientes con diabetes y estados de insulinoresistencia asociados a otras enfermedades, pero no es aplicable en pacientes con función pancreática muy alterada²⁰³⁻²⁰⁵. Es un método útil para comparar poblaciones o grupos, si bien presenta limitaciones por su variabilidad en estudios individuales y no estar definidos los rangos de normalidad de la prueba. Posteriormente se introdujeron variaciones del modelo, así en 1998 se dio a conocer el HOMA2²⁰⁶, para su cálculo se puede utilizar el software público ofrecido por los autores originales en el siguiente enlace: <http://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator>

Otras técnicas: Insulinemia en ayunas, Método QUICKI (*quantitative insulin sensitivity check index*), Modelo mínimo de Bergman, resonancia magnética espectroscópica con C13 o la tomografía de emisión de protones (PET).

2.3.4 Alteraciones asociadas con la RI

La RI se ha constituido como una entidad de creciente interés epidemiológico, clínico y terapéutico, debido a su relación con enfermedades con etiologías y manifestaciones de diferentes tipos y a su asociación con las principales afecciones cardiovasculares.

Las enfermedades cardiovasculares son un importante problema de salud en nuestro país, al ser una de las principales causas de morbimortalidad. La obesidad, la hipertensión arterial y la diabetes son considerados factores de riesgo cardiovascular, que a menudo se presentan asociados en un mismo individuo. Desde hace tiempo se ha especulado con la posibilidad de que tenga una relación causal con la enfermedad vascular. La RI ha sido propuesta como nexo de unión entre los distintos factores de riesgo. Se comenzó a acuñar el término de síndrome X o síndrome metabólico para

describir la asociación entre el riesgo cardiovascular y la RI. Parece clara la relación entre RI y disfunción microvascular como manifestación precoz de aterosclerosis.

La prevalencia del síndrome metabólico en pacientes infectados por el VIH es variable dependiendo de los criterios diagnósticos empleados (10-35%). Hay estudios que muestran un aumento en la prevalencia en los pacientes que inician TARV²⁰⁷⁻²¹⁴.

2.3.5 Resistencia a la insulina y obesidad

La obesidad es un problema cada vez más frecuente en nuestro país. Su importancia radica, sobretodo, en su asociación con la morbimortalidad cardiovascular ya que se asocia frecuentemente con la coexistencia de otros factores de riesgo cardiovascular, síndrome metabólico y RI.

En la actualidad el tejido adiposo, ya no se considera un almacén, sino un órgano endocrino que libera ácidos grasos libres, hormonas y citoquinas proinflamatorias²¹⁵. La liberación de citoquinas inflamatorias como el TNF-alfa, la leptina o los ácidos grasos libres producidos en el tejido adiposo, tienen un papel regulador en la homeostasis de la glucemia y están implicados en la etiología de la RI inducida por la obesidad²¹⁶⁻²¹⁹.

2.3.6 Resistencia a la insulina e infección por VHC

Inicialmente, la asociación entre la diabetes mellitus y la hepatitis C crónica se atribuía a la enfermedad hepática avanzada²²⁰⁻²²². Sin embargo, más recientemente se ha comprobado que esta asociación es independiente del grado de fibrosis¹¹⁹ y que la RI juega un papel importante, aunque no es el único mecanismo implicado. En este sentido, la concomitancia de la RI y la infección por el VHC es más frecuente de lo que se esperaría por mera casualidad²²³⁻²²⁵ y es independiente de la obesidad visceral, la esteatosis o del genotipo²²⁶.

Aunque no se ha encontrado relación directa entre la RI y la la carga viral o el genotipo del VHC, la erradicación del VHC mediante tratamiento antiviral mejora la sensibilidad a la insulina²²⁷. El mecanismo por el cual la infección por el VHC conlleva a RI no se conoce con exactitud, aunque se postulan que puedan estar implicadas varias alteraciones fisiopatológicas.

La infección por el VHC, produce una respuesta inflamatoria que se traduce en una sobreproducción de citoquinas proinflamatorias y profibrogénicas como el TNF- α ^{228,229} que favorece la hiperinsulinemia y el desarrollo de RI. La citoquina TNF- α interacciona con la señalización de la insulina al reducir la auto-fosforilación del receptor de insulina y los transportadores GLUT-4 en las células musculares²³⁰⁻²³².

2.3.7 Resistencia a la insulina y TARV

La incidencia de diabetes mellitus en los pacientes infectados por el VIH cuadruplica la de aquellos que no están infectados²³³ y la RI esta presente en casi la mitad de los pacientes tratados con inhibidores de la proteasa²³⁴. Los fármacos antirretrovirales pueden contribuir directamente o indirectamente al desarrollo de RI en los pacientes con infección por el VIH.

Se han publicado estudios in-vitro, en animales y voluntarios sanos intentando comprender la contribución de los IP en la aparición de RI en aquellos pacientes infectados por el VIH y en TARV. Los primeros estudios que establecieron que ciertos IP (Indinavir, ritonavir y amprenavir) eran capaces de inducir rápidamente RI se realizaron en cultivos de adipocitos e identificaron al trasportador de la glucosa (GLUT4) como una diana directa del indinavir²³⁵. Los IP producen alteraciones en la señalización intracelular de la insulina, principalmente por la degradación de IRS-1 y AKT, un hallazgo que se encontrado con la exposición crónica a fármacos y que produce un déficit en la captación de glucosa por las células secundaria a una

inactivación de GLUT4²³⁵⁻²⁴¹. Otro de los mecanismos propuestos es el efecto de los IP sobre la lipotoxicidad como se ha demostrado mas recientemente^{237,242-245}. Sin embargo, con los IP mas recientes (LOP, FOS, ATV ó DRV) no se ha podido demostrar un asociación entre estos y la RI²⁴⁶⁻²⁵¹.

El tratamiento con análogos de la timidina constituye un factor de riesgo para el desarrollo de RI y diabetes mellitus²⁵²⁻²⁵⁵, pero como pasa con los IP esta asociación es mas propia de los fármacos mas antiguos.

El TARV más reciente es cada vez menos toxico y los nuevos fármacos (IP mas recientes, los NN o los inhibidores de la integrasa) prácticamente no producen alteraciones metabólicas o han demostrado un efecto beneficioso sobre la sensibilidad a la insulina²⁵⁶.

3 HIPÓTESIS

1. La frecuencia de resistencia a la insulina (RI) en los pacientes VIH/VHC es superior a la de la población general.
2. Los factores que se asocian con RI en los pacientes coinfectados por VIH/VHC incluyen los de la población general y también determinados fármacos antirretrovirales y el propio daño hepático.
3. La RI empeora la respuesta al tratamiento de la hepatitis C en los pacientes coinfectados por VIH/VHC.

4 OBJETIVOS

1. Determinar la prevalencia de resistencia a la insulina (RI) e identificar los factores asociados a la misma en pacientes coinfectados por VIH/VHC.
2. Investigar si la RI influye en la respuesta al tratamiento de la hepatitis C con interferón y ribavirina en pacientes coinfectados por el VIH/VHC.

5 MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Diseño

Estudio unicéntrico realizado de manera retrospectiva en una cohorte prospectiva de pacientes coinfectados por el VIH y el VHC.

5.2 Ámbito y población

El estudio se realizó en la unidad de Enfermedades Infecciosas/VIH del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM). Esta unidad consta de una planta de hospitalización, un hospital de día y dos consultas externas en donde se sigue regularmente a unos 1000 pacientes coinfectados por VIH/VHC. Durante la realización del estudio, el HGUGM era el hospital de referencia del área sanitaria 1 de Madrid, cuya población adscrita era de 728.486 habitantes. Este área agrupaba 4 distritos: Arganda, Moratalaz, Retiro y Vallecas, y ocupaba una extensión de 1.142 km² (datos del año 2006). En el distrito de Vallecas existen varios asentamientos marginales alrededor de los núcleos habitados en los que el tráfico y el consumo de drogas por vía parenteral son elevados.

5.3 Criterios de Inclusión

Para el primer objetivo (determinar la prevalencia de RI en pacientes coinfectados e investigar qué factores se asocian con esta condición en este grupo de población) se incluyeron aquellos pacientes coinfectados a los que se les realizó una biopsia hepática como parte de la valoración previa al tratamiento con interferón y ribavirina entre el 1 de enero de 2000 y el 31 de diciembre de 2008.

Para el segundo objetivo (valorar si la RI tiene algún efecto sobre la respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina en pacientes coinfectados), se incluyeron aquellos pacientes que recibieron tratamiento con interferón y ribavirina entre el 1 de

julio de 2000¹ y el 31 de marzo de 2007 de los que se disponía de una muestra de suero almacenada el día del inicio del tratamiento.

Durante los años del estudio, en la unidad de enfermedades infecciosas/VIHC del HGUGM la infección por VIH se confirmaba por serología mediante pruebas de ELISA y Western-Blot y la infección por VHC mediante la detección de ARN-VHC sérico por prueba de PCR (ver sección de virología).

Los criterios para comenzar tratamiento anti-VHC en pacientes coinfectados por VIH/VHC en nuestra unidad durante dicho años, fueron los siguientes:

1. Cifra de linfocitos T CD4+ superior a 200 células/mm³.
2. Ausencia de enfermedades oportunistas definitorias de sida en actividad (Anexo 2).
3. Estar en TARV de forma estable (Anexo 3 y Definiciones en 5.12) o ausencia de TARV.

5.4 Criterios de exclusión

Los criterios de exclusión para comenzar tratamiento anti-VHC fueron los siguientes:

1. Descompensación hepática previa.
2. Consumo actual de drogas.

Para este estudio se excluyeron además los siguientes pacientes:

1. Aquellos con diagnóstico previo de diabetes mellitus y/o en tratamiento activo con fármacos sensibilizadores de insulina²⁵⁷.
2. Aquellos que recibieron tratamiento con interferón y ribavirina con anterioridad.

¹¹ Fecha en que se inició el primer tratamiento con interferón y ribavirina en un paciente coinfectado en nuestra unidad

5.5 Variables

5.5.1 Variables basales

Información obtenida el día de la biopsia hepática o al inicio del tratamiento

A. Variables sociodemográficas:

- 1 Número de historia (*número*).
- 2 Médico responsable (*médico que sigue al paciente*).
- 3 Fecha de nacimiento (*dd/mm/aaaa*).
- 4 Sexo (*masculino/femenino*).
- 5 Consumo de > 50 gramos de alcohol al día (*si/no*) (Definiciones en 5.12).
- 6 Antecedentes de utilización de drogas por vía parenteral (*si/no*).
- 7 Tratamiento con metadona (*dosis de metadona en mg/día*).
- 8 Peso (*kg*).
- 9 Talla (*cm*).

B. Variables relacionadas con la infección por VIH:

- 1 Año de diagnóstico del VIH (*aaaa*).
- 2 Mecanismo de transmisión de la infección por VIH (*ADVP, homo/bisexual, heterosexual, otros*).
- 3 Estadio clínico de la infección por VIH (Anexo 1).
- 4 Enfermedades definitorias de SIDA (Anexo 2).
- 5 Nadir de linfocitos T CD4+ (*células/mm³*).

- 6 Valor absoluto y porcentaje de los linfocitos T CD4+ y CD8+ basales (células/mm³ y %).
- 7 Carga viral del VIH basal (copias/ml).
- 8 TARV (si/no).
- 9 Fecha de inicio del TARV (dd/mm/aaaa).
- 10 Régimen de TARV (Anexo 3).
- 11 Mala adherencia al TARV (si/no) (Definiciones en 5.12).

C. Variables relacionadas con la infección por el VHC:

- 1 Año de infección del VHC (aaaa) (Definiciones en 5.12).
- 2 Genotipo del VHC (1,2,3 ó 4).
- 3 Carga viral del VHC basal (U/ml).
- 4 Coinfección por VHB (HBsAg positivo).
- 5 Eventos clínicos relacionados con hepatopatía VHC (varices esofágicas, descompensación edemo-ascítica, encefalopatía hepática, hepatocarcinoma, hipertensión portal, otros).

D. Variables relacionadas con la biopsia hepática:

- 1 Fecha de realización de la biopsia hepática (dd/mm/aaaa).
- 2 Grado de actividad histológica según METAVIR² (A0-A3).
- 3² Estadio de fibrosis hepática según METAVIR² (F0-F4).

² Ver apartado específico en Metodología

- 4 Presencia de esteatosis hepática³ (*si/no*).

E. Variables biológicas

- 1 Hemograma: leucocitos ($\times 10^3/mm^3$), hemoglobina (*g/dl*), hematocrito (%), V.C.M (*fl*) y plaquetas ($\times 10^3/mm^3$).
- 2 Coagulación: Actividad de protrombina (%), INR, y fibrinógeno (*mg/dl*).
- 3 Bioquímica: glucosa (*mg/dl*), creatinina (*mg/dl*), urea (*mg/dl*), sodio (*mEq/l*), potasio (*mEq/l*), proteínas totales (*g/dl*), albúmina (*g/dl*), bilirrubina total (*mg/dl*), CPK (*U/l*), LDH (*U/l*), FA (*U/l*), GPT (*U/l*) y GOT (*U/l*) y GGT (*U/l*).
- 4 Hormonas tiroideas: TSH ($\mu U/ml$) y T4 ($\mu g/dl$).
- 5 Perfil lipídico: triglicéridos, colesterol, LDL y HDL (*mg/dl*).
- 6 Insulina basal ($\mu U/ml$).

5.5.2 Variables de seguimiento

Sólo aplicables al segundo objetivo.

A. Variables relacionadas con el tratamiento del VHC

- 1 Fecha de inicio del tratamiento con interferón y ribavirina (*dd/mm/aaaa*).
- 2 Tipo de interferón utilizado (*interferón estándar, peg-interferón alfa-2^a ó peg-interferón alfa-2b*).
- 3 Dosis de interferón ($\mu g/kg/semana$).
- 4 Dosis de ribavirina (*mg/día*).

³ Ver apartado específico en Metodología

- 5 Cambios en el tratamiento (*fecha, nueva dosis, y motivo del cambio*).
- 6 Reacciones adversas al tratamiento (*descripción del evento*).
- 7 Mala adherencia al tratamiento (*si/no*), (Definiciones en 5.12).
- 8 Fecha de fin del tratamiento (*dd/mm/aaaa*).
- 9 Motivo de la suspensión (*final de tratamiento, fallo virológico, efectos adversos o abandono*).
- 10 Fecha de fin de seguimiento (*dd/mm/aaaa*).

B. Variables biológicas obtenidas durante el seguimiento (meses 1, 3, 6, 12 y 18)

- 1 Carga viral de VIH (*copias/ml*).
- 2 Carga viral de VHC (*U/ml*).
- 3 Marcadores linfocitarios: linfocitos T CD4+ y CD8+ (*absolutos y %*).
- 4 Hemograma: leucocitos ($\times 10^3/mm^3$), hemoglobina (*g/dl*), hematocrito (*%*), VCM (*fL*) y plaquetas ($\times 10^3/mm^3$).
- 5 Bioquímica: bilirrubina total (*mg/dl*), CPK (*U/l*), LDH (*U/l*), FA (*U/l*), GPT (*U/l*) y GOT (*U/l*) y GGT (*U/l*).

5.6 Biopsia hepática

A todos los pacientes se les explicó de forma individualizada el motivo de realizar la biopsia, el procedimiento y sus posibles complicaciones. Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado. Antes del procedimiento se reevaluaron los datos clínicos del paciente, se realizó un estudio analítico con coagulación y se localizó el punto más seguro para la punción mediante ecografía.

Las biopsias por vía percutánea se realizaron en el hospital de día por dos especialistas cualificados para ello (Dra. Pilar Miralles y Dr. Juan Berenguer) y siguiendo el protocolo de la unidad (siguiente tabla) y las recomendaciones del comité del cuidado al paciente de la Asociación Americana de Gastroenterología²⁵⁸. Las biopsias por vía transyugular se realizaron en el Servicio de Aparato Digestivo del HGUGM.

Protocolo de una biopsia hepática en el hospital de día del HGUGM

- 1 Ayunas durante 12 horas previas.
- 2 Ingreso en Hospital de día con la presencia de acompañante.
- 3 Revisión de la historia clínica.
- 4 Obtención del consentimiento informado.
- 5 Cuestionario estructurado para la recogida de variables.
- 6 Anamnesis y exploración física (constantes vitales, talla, peso...).
- 7 Canalización de una vía venosa periférica con extracción de una muestra de sangre para la realización de un hemograma, coagulación y bioquímica y otra muestra para su posterior procesamiento y almacenaje (medición de insulina).
- 8 Realización de ecografía para localizar punto de punción.
- 9 Realización de biopsia hepática.
- 10 Envío de muestra de tejido hepático al laboratorio de Anatomía Patológica.
- 11 Reposo en decúbito lateral derecho durante una hora.
- 12 Vigilancia en el hospital de día por la posible aparición de complicaciones.
- 13 Alta a las seis horas del procedimiento con informe.

5.7 Histología

Todas las biopsias fueron revisadas por un anatomopatólogo (Dr. Emilio Álvarez) que desconocía los datos clínicos o analíticos del paciente. El tejido hepático remitido al Servicio de Anatomía Patológica se fijó en formalina tamponada, se incluyó en parafina y se seccionó de forma seriada. Los cortes de tejido, después de ser desparafinados se tiñeron con: hematoxilina-eosina, impregnación argéntica para reticulina, tricrómico de Mason, PAS-diastrasa y Perls para pigmento férrico.

La valoración histológica de las biopsias hepáticas se llevó a cabo siguiendo los criterios de METAVIR⁹³ que evalúa tanto la actividad necro-inflamatoria (grado), como la fibrosis (estadio). La esteatosis hepática se graduó según el porcentaje de hepatocitos con vesículas de grasa visibles. El punto de corte de la esteatosis hepática clínicamente significativa se estableció en $\geq 10\%$.

Criterios para la valoración histológica

- 1) Grados de actividad necroinflamatoria
 - A0= Ausencia de actividad
 - A1= Actividad leve
 - A2= Actividad moderada
 - A3= Actividad intensa

- 2) Estadios de fibrosis hepática
 - F0= Ausencia de fibrosis
 - F1= Fibrosis portal sin tabiques
 - F2= Fibrosis periportal con pocos tabiques
 - F3= Fibrosis en puentes (porto-portales y/o porto-centrales)
 - F4= Cirrosis establecida

- 3) Esteatosis hepática
 - Ausencia= 0%
 - Leve <10%
 - Leve-Moderada=10-30%
 - Grave >30%

5.8 Muestras de sangre

Todas las muestras de sangre se obtuvieron después de un ayuno de 12 horas. Todos los pacientes dieron su consentimiento para guardar una muestra de sangre para su posterior estudio.

- Para el primer objetivo la muestra de sangre se obtuvo el mismo día de la biopsia hepática (Figura 2).
- Para el segundo objetivo las muestras de sangre se obtuvieron el día de inicio del tratamiento con interferón y ribavirina y las semanas 12, 24 y 48 de haber comenzado el tratamiento, y la semana 24 después de su finalización (Figura 2).

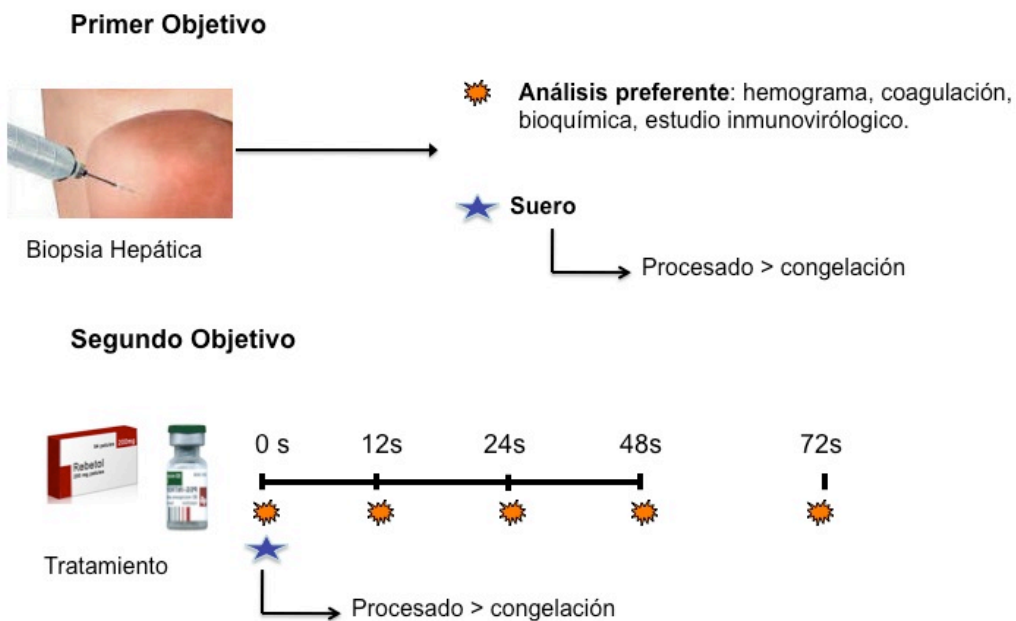


Figura 2: Diferentes momentos de la obtención de las muestras de sangre. El suero (estrella azul) se extrae, procesa y almacena el día de la biopsia hepática y al inicio del tratamiento con interferón y ribavirina.

5.8.1 Suero

La insulina se midió a partir de un muestra de suero almacenada y obtenida el día de la biopsia hepática (primer objetivo) o el día de inicio del tratamiento con interferón y ribavirina (segundo objetivo).

5.8.1.1 Procesamiento del suero

Las muestras de sangre se extrajeron por venopunción de la región cubital del brazo utilizando un tubo de vidrio seco con anticoagulante EDTA (Vacutainer®). Todas las muestras fueron procesadas inmediatamente después de la extracción. Para la obtención del suero, las muestras de sangre se centrifugaron durante 5 minutos a 2000 G. Las muestras con datos de hemólisis o lipemia se rechazaron. Después de la centrifugación, se pipetearon alícuotas (0.5 ml) en microtubos etiquetados con un código del paciente. Las alícuotas obtenidas se congelaban inmediatamente a -18°C en un congelador situado en la misma sala en la que se realizaba la centrifugación y en menos de 24 horas, se trasladaban a unos congeladores del Servicio de Microbiología para su conservación a -70° C.

5.8.1.2 Almacenaje.

Las alícuotas de suero se almacenaron en una cámara congeladora a (-70°C) situada en el Servicio de Microbiología del HGUGM. Todas las alícuotas depositadas en las cámaras congeladoras fueron codificadas con un número, para así identificar al paciente mediante número de historia clínica.

5.8.1.3 Determinación de Insulina.

Para la medición de la insulina, se descongelaron todas las muestras de suero de los pacientes incluidos en el estudio. La insulina se midió de una sola vez en todas las muestras utilizando el kit de Multiplex (LINCoplex®; LINCO Research, St. Charles,

Missouri, Estados Unidos). El inmunoensayo Multiplex se midió mediante el analizador Luminex 100 ® (Luminex Corporation, Austin, Texas, Estados Unidos) según las especificaciones del fabricante. Como el resto de pruebas disponibles, el método utilizado por nosotros “Linco Human Insulin ELISA Kit (cat # EZHI-14K)” estaba calibrado utilizando la preparación de referencia internacional publicada por la OMS (IRP66/304)²⁵⁹. Para realizar la conversión a unidades internacionales (pmol/l) se multiplicó el resultado obtenido un factor de conversión (según el fabricante 6).

5.9 Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina se calculó para cada paciente utilizando el modelo HOMA (the homeostatic model assessment) descrito por Matthews²⁰³. El índice HOMA se calculó mediante la siguiente fórmula: *glucosa plasmática en ayunas (mmol/l) multiplicado por la insulina plasmática en ayunas (μU/l) dividido entre 22.5*.

La insulina (μU/ml) se midió a partir del suero almacenado (ver más arriba) y la glucosa (mg/dl) se midió a partir de la muestra de sangre enviada al laboratorio del HGUGM el mismo día de su extracción. Tal y como se mencionó con anterioridad, tanto la insulina como la glucosa en sangre se obtuvieron de muestras obtenidas simultáneamente. Para convertir las concentraciones de glucosa de mg/dl a mmol/l, se dividió el valor en mg/dl entre dieciocho.

Consideraciones para poder aplicar el modelo HOMA en nuestro estudio

- El paciente en el momento de la extracción de sangre debía de haber cumplido a menos 12 horas de ayuno.
- El paciente no podía estar en tratamiento con insulina o antidiabéticos orales.

- Se descartaron niveles extremos de glucemia e insulina y únicamente se incluyeron en el análisis aquellos valores comprendidos entre 3.0 y 25.0 mmol/l para la glucemia y entre 20 y 400 pmol/l para la insulina.
- Se descartaron las muestras hemolizadas, debido a que la insulina se degrada con las enzimas liberadas por las células rojas.
- Dado que en la actualidad no existen rangos de referencia para las estimaciones realizadas con el método HOMA, en nuestro trabajo definimos un punto de corte de 3,8 basándonos en un estudio español de prevalencia realizado en pacientes no diabéticos²⁶⁰. En este estudio la definición de RI se basó en el percentil 90 de la distribución del índice HOMA en población sin datos personales ni familiares de enfermedades relacionadas con la RI. El percentil 90 en este grupo de pacientes fue de 3.8, cifra cercana a las descritas por otros autores en poblaciones con características parecidas^{261,262}.

5.10 Virología

5.10.1 Determinación de anticuerpos frente al VIH

La infección por el VIH se documentó en todos los pacientes mediante la técnica ELISA “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay” y la técnica de Western Blot.

5.10.1.1 Determinación de la carga viral del ARN-VIH

Los valores de ARN viral del VIH en el plasma de los pacientes se cuantificaron usando un método comercial (Amplicor-HIV Monitor ® Test, Roche Diagnostic System), aprobado por la Federal Drug Administration (FDA) en mayo de 1996 para monitorización de la carga viral del VIH.

5.10.1.2 Determinación de anticuerpos frente al VHC

La infección del VHC se documentó mediante la detección de anticuerpos dirigidos frente a diferentes antígenos estructurales y no estructurales del VHC (ELISA de tercera generación; EIA-3)

5.10.1.3 Determinación de la carga viral del ARN-VHC

La determinación del ARN-VHC se realizó mediante un analizador Cobas Amplicor ® (Cobas Amplicor HCV Monitor Test, Branchburg, New Jersey, Estados Unidos) y los resultados se presentados en U/ml.

5.10.1.4 Determinación del genotipo del VHC.

La genotipificación del VHC se realizó mediante una técnica de hibridación inversa. Una vez obtenido el amplificado de la región 5'UTR, éste se desnaturaliza, y se enfrenta a una tira de nitrocelulosa que contiene sondas que permiten la hibridación del producto de amplificación (INNO-LiPA ® HCV II, Innogenetics, Gante, Bélgica), dichas sondas son específicas de genotipo/subtipo. El producto de la hibridación se somete posteriormente a un revelado de tipo inmunoenzimático. Todo el proceso queda automatizado, y finalmente se interpreta la tira comparándola con un patrón que proporciona la casa comercial.

5.11 Tratamiento

Los pacientes recibieron tratamiento con la combinación de interferón y ribavirina durante 48 semanas.

Se utilizaron tres tipos de interferón:

- Interferón alfa-2b (Intron-A ®, Schering-Plough S.A., Alcobendas, Madrid) a dosis de 3 millones (M) de unidades internacionales (UI) por vía subcutáneas 3 veces por semana.
- Interferón pegilado alfa-2^a (Pegasys ®, Roche Farma S.A., Madrid) a dosis de 180 µg por semana por vía subcutánea.
- Interferón pegilado alfa-2b (Peg-Intron ®, Schering-Plough S.A., Alcobendas, Madrid) a dosis de 1.5 µg/kg por semana por vía subcutánea.

Los diferentes tipos de interferón se combinaron con ribavirina (Rebetol ®, Schering-Plough, Alcobendas, Madrid) vía oral a dosis de 800-1200 mg al día según el peso corporal del paciente y repartiendo la dosis total diaria en dos tomas.

5.12 Definiciones

- **Consumo de más de 50 gramos (g) de alcohol al día.** Para el cálculo de los g de alcohol/día se utilizó la graduación de la bebida (% de alcohol con respecto al volumen total) y la cantidad consumida. Mediante la fórmula: graduación (%) x cantidad (ml) x 0.8 (densidad del alcohol). Por ejemplo, si un paciente consume un litro de vino de 13° al día, el cálculo será el siguiente: $(0.13 \times 1000) \times 0.8 = 104 \text{ g/día}$
- **Duración de la infección por el VHC:** en pacientes ADVP se consideró como año de infección por el VHC el primer año en que se compartieron jeringuillas para el consumo de drogas. En el resto de los pacientes se consideró que el año de infección por VHC era desconocido.

- **Respuesta virológica sostenida (RVS):** cuando la detección de ARN-VHC por métodos cuantitativos es negativa en la semana 24 después de haber suspendido el tratamiento con interferón y ribavirina.
- **Respuesta virológica rápida (RVR):** cuando la detección de ARN-VHC por métodos cuantitativos es negativa un mes después de comenzar tratamiento con interferón y ribavirina.
- **Respuesta virológica precoz (RVP):** cuando el ARN-VHC medido por métodos cuantitativos es negativo a la semana 12 (RVP completa) o disminuye al menos $2 \log_{10}$ con respecto al valor basal (RVP incompleta).
- **Fracaso virológico con interferón y ribavirina:** cuando no existe una RVP o se detecta ARN-VHC en la semana 24 o después.
- **TARV estable:** Pacientes en TARV con ARN del VIH < 50 copias/ml durante más de 6 meses.
- **Nadir de linfocitos T CD4+:** Cifra más baja de linfocitos T CD4+ de los pacientes a lo largo de su historial médico.
- **Mala adherencia al TARV:** Se consideraba que existía mala adherencia al TARV cuando: no consumía parte o todos los fármacos prescritos, lo hacía a diferentes dosis o intervalos de lo indicado, o no guardaba el interferón en el frigorífico

5.13 Recogida de datos.

La recogida de datos se realizó por el doctorando durante el periodo de contrato de la beca Post-MIR de la fundación biomédica del HGUGM. Los datos se recogieron de las historias clínicas (a través del archivo del hospital), mediante la aplicación informática ACyH ® (utilizada para el seguimiento de pacientes en la unidad de VIH) y/o a través del Syscam ® (aplicación informática del hospital).

Se crearon dos bases de datos, una en formato Excel ® para recoger la información de los pacientes que se sometieron a una biopsia hepática en el primer objetivo y otra en formato Access ® para recoger las variables de todos los pacientes que recibieron tratamiento en el segundo objetivo (Figura 3).

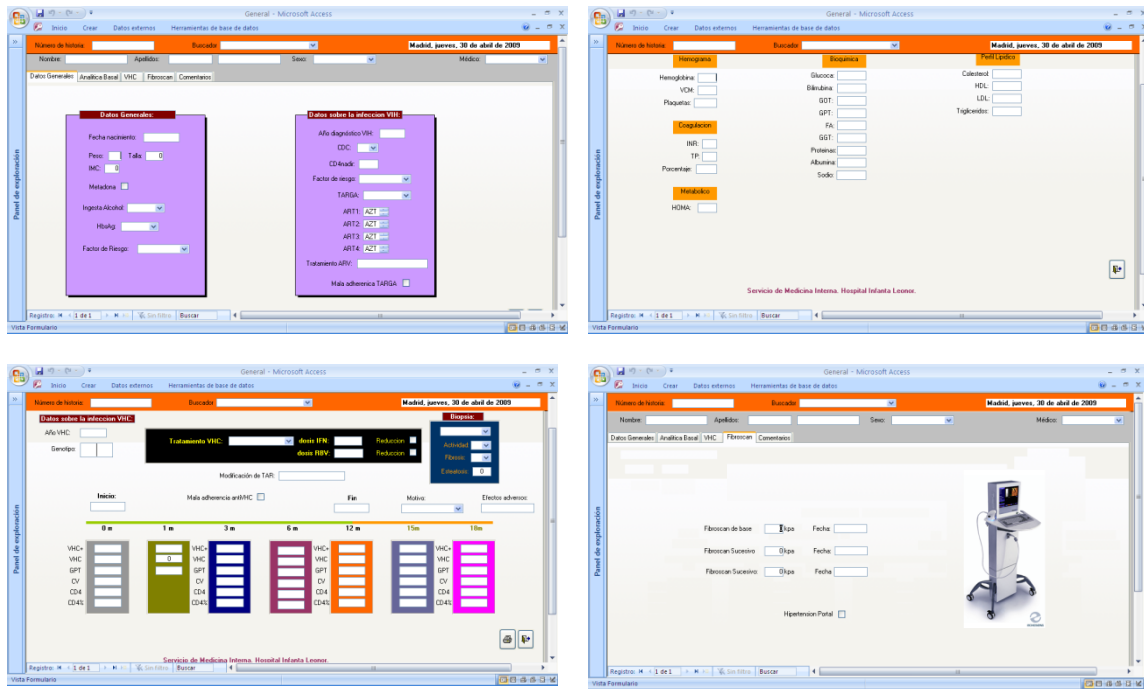


Figura 3: Base de recogida de datos del segundo objetivo.

5.14 Aspectos éticos

Siguiendo lo establecido en la Ley Orgánica 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos de los pacientes fueron tratados con la más rigurosa confidencialidad y no se les ha identificado de modo personalizado en ningún informe final ni en la eventual publicación de los resultados.

5.15 Técnicas estadísticas.

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS ® (Statistical Package for Social Sciences) versión 16.1 para Windows ®. Además se contó con la ayuda del estadístico de la Fundación Biomédica del HGUGM (José María Bellón).

Se realizó un estudio descriptivo con las características basales de los pacientes que se sometieron a una biopsia hepática y aquellos que iniciaron tratamiento con interferón y ribavirina. Se calcularon los porcentajes para la descripción de variables cualitativas, y las cuantitativas se describieron mediante medianas con rango intercuartílico (RIQ). Para la comparación de variables entre los pacientes se utilizaron el test de la t-Student o el test de la U de Mann Whitney para datos cuantitativos, y el test de la Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher para datos cualitativos.

En el primer objetivo se calculó la prevalencia de RI y su intervalo de confianza al 95%. Se estudió la asociación entre la presencia de RI y el resto de variables mediante la *odds ratio* (OR) con los intervalos de confianza al 95% (IC 95%). Para controlar las posibles variables de confusión y valorar interacciones se procedió a un análisis estratificado seguido de uno de regresión logística múltiple utilizando estimadores robustos de los intervalos de confianza.

Para el segundo objetivo, se realizó un análisis por “intención de tratar” (ITT, del inglés “*intention to treat*”) y otro por “tratamiento” (OT, del inglés “*On treatment*”).

- En el análisis ITT se incluyeron todos los pacientes que iniciaron interferón y ribavirina y disponían de valores basales de glucemia e insulina (162 pacientes).
- En el análisis OT se excluyeron aquellos pacientes que abandonaron el tratamiento de forma prematura, debido a efectos adversos de la medicación, abandonos y pérdida de seguimiento (134 pacientes).

Se estudió la asociación entre la RVS y el resto de variables (clínicas, biológicas, histológicas y terapéuticas) mediante la OR con los IC 95%. Para efectuar comparaciones se efectuó un análisis de regresión calculando Riesgos Relativos (RR) y sus IC 95% ajustando por las variables de confusión y valorando las posibles interacciones utilizando estimadores robustos de los intervalos de confianza.

6 RESULTADOS

6.1 Primer objetivo

Para el primer objetivo de la tesis (conocer la prevalencia de resistencia a la insulina en pacientes coinfectados e investigar los factores asociados), se analizaron 201 pacientes coinfectados por el VIH y el VHC a los que se les realizó una biopsia hepática para valorar la necesidad del tratamiento anti-VHC. Las características basales de éstos pacientes se muestran en la siguiente tabla (Tabla 3).

Características	Total (n=201)
Sexo masculino, n (%)	152 (76%)
Edad (años), mediana (RIQ)	39 (37-43)
IMC(kg/m ²), mediana (RIQ)	22 (21-24)
HBsAg positivo, n (%)	2 (<1%)
ADVP, n (%)	180 (90%)
Ingesta de alcohol >50g/d, n (%)	28 (14%)
Categoría C de CDC, n (%)	62 (31%)
Nadir CD4+ (células/mm ³), mediana (RIQ)	210 (101-324)
Linfocitos T CD4+ (células/mm ³), mediana (RIQ)	490 (370-663)
ARN-VIH<50 (copias/ml), n (%)	156 (78%)
ARN-VHC >500.000 (U/ml), n (%)	125 (62%)
Duración de la infección por VHC (años), mediana (RIQ)	21 (18-24)

Tabla 3: Características de la población estudiada. **Nota:** Las variables categóricas se expresan en números absolutos (%) y las variables continuas en mediana (RIQ). **Abreviaturas:** RIQ, rango intercuartil (percentiles 25-percentil 75); IMC, índice de masa corporal; ADVP, adictos a drogas por vía parenteral; CDC, Centre for Disease Control and Prevention; VIH, virus de la inmunodeficiencia humana; VHC, virus de la hepatitis C; CVP, carga viral plasmática.

6.1.1 Características de la infección por VIH en la población:

El 90% de los pacientes adquirió la infección del VIH por la utilización de drogas inyectadas. Casi un tercio de los pacientes (31%) cumplía criterios de SIDA. El día de la biopsia hepática, 191 (95%) pacientes tomaban TARV (23% en tratamiento con un

IP y el 55% con un NN como tercer fármaco). La mediana (RIQ) de años con TARV hasta la biopsia fue de 4,2 (2,9-5,3). En el momento de la biopsia, la mediana de linfocitos T CD4+ fue de 490 células/mm³, y 156 (78%) pacientes presentaban una carga viral de VIH indetectable (<50 copias/ml).

6.1.2 Características de la infección por VHC en la población:

La mediana (RIQ) de años que los pacientes habían estado infectados por el VHC fue de 21(18-24). Se dispuso de información acerca del genotipo en 198 pacientes; 122 (61%) estaban infectados por VHC genotipo 1, ninguno (0%) por genotipo 2, 45 (23%) por genotipo 3 y 31 (16%) por genotipo 4 (Gráfico 2). El 62 % de los pacientes presentaba una concentración de ARN-VHC (>500.000 U/ml) antes de realizarse la biopsia hepática.

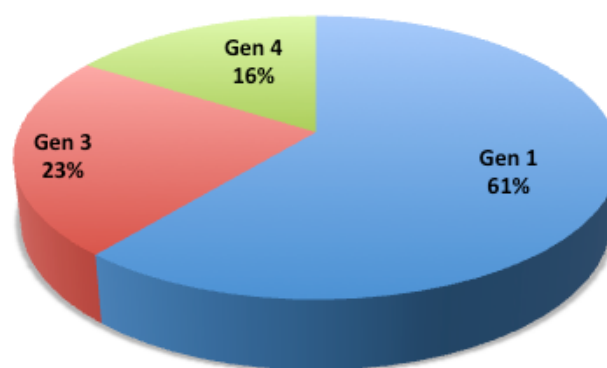


Gráfico 2: Distribución de los genotipos VHC

6.1.3 Resultados analíticos

Antes de la realización de la biopsia se obtuvieron una serie de parámetros bioquímicos necesarios para descartar una coagulopatía y valorar la función hepática (Tabla 4).

Parámetro analítico	Mediana (RIQ)	Parámetro analítico	Mediana (RIQ)
Glucosa (mg/dl)	83 (76-94)	GOT (U/l)	52 (33-77)
Albúmina (g/dl)	4,3 (4,1-4,6)	GPT (U/l)	60 (44-96)
Plaquetas ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	190 (147-233)	GGT (U/l)	118 (76-210)
Colesterol (mg/dl)	170 (143-205)	FA (U/l)	94 (73-131)
Fibrinógeno (mg/dl)	257 (228-301)	INR	1(1-1)

Tabla 4 . Parámetros hepáticos obtenidos el día de la biopsia. Ver en abreviaturas.

6.1.4 Resultados de la biopsia hepática:

La distribución de la fibrosis hepática según la clasificación del grupo METAVIR⁹³, fue la siguiente (Gráfico 3):

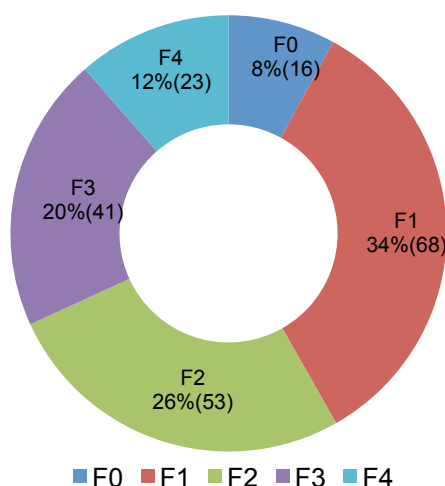


Gráfico 3 : Distribución de los estadios de fibrosis hepática en la población.

De los pacientes estudiados, el 32% (64) presentaban fibrosis avanzada (F3-F4), el 15% (31) presentaba actividad histológica moderada-intensa (A2-A3) y un 54% (108) esteatosis hepática (>10% de los hepatocitos con vesículas de grasa visibles).

6.1.5 Resistencia a la insulina

La mediana (RIQ) del índice HOMA fue de 2,47 (1,7-3,9) y según el punto de corte de 3,8 (descrito en métodos), se consideró que 54 (27%) pacientes presentaban RI (Gráfico 4).

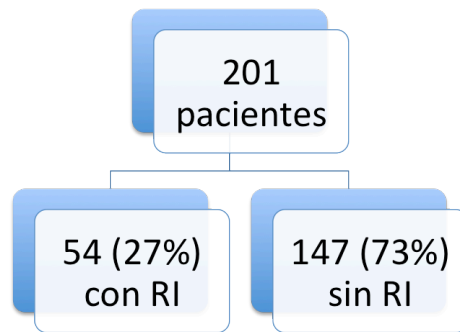


Gráfico 4: Porcentaje de pacientes con RI (HOMA \geq 3,8)

6.1.6 Análisis univariante de los factores asociados a RI.

Cuando se compararon los parámetros clínicos y biológicos de los pacientes con y sin RI, no se encontraron diferencias significativas en cuanto a: edad, sexo, categoría de transmisión ni los parámetros virológicos del VIH o del VHC. Sin embargo, los pacientes que presentaban RI tenían un mayor índice de masa corporal (IMC), un menor nadir de linfocitos T CD4+ y un estadio más avanzado de fibrosis hepática, que los pacientes sin RI (Tabla 5).

Características (n=201)	Sin RI (n=147)	Con RI (n=54)	Valor de p
Demográficas			
Sexo masculino, n (%)	110 (75)	42 (79)	0.666
Edad (años), mediana (RIQ)	40 (38-44)	40 (38-45)	0.188
IMC(kg/m ²)	22 (21-24)	22 (21-26)	0.037
ADVP	129 (88)	51 (94)	0.169
Ingesta de alcohol >50g/d	23 (16)	5 (9)	0.264
Inmunoviroológicas			
Categoría C de CDC	40 (27)	22 (40)	0.168
Nadir CD4+ (células/mm ³)	200 (100-306)	158 (60-260)	0.045
CD4+ (células/mm ³)	500 (352-630)	454 (379-658)	0.565
CVP de VIH<50 (copias/ml)	111 (75)	45 (83)	0.238
CVP de VHC >500.000 (U/ml)	93 (77)	32 (73)	0.584
Infección VHC (años)	22 (18-25)	22 (19-25)	0.934
Genotipo VHC (n=198)			
1	89 (61)	33 (63)	0.75
3	32 (22)	13 (25)	0.649
4	25 (17)	6 (11)	0.34
Histología hepática			
Fibrosis (F3-F4)	37 (25)	27 (50)	0.001
Esteatosis	75 (54)	33 (63)	0.238
Actividad (A2-A3)	19(13)	12 (23)	0.09

Tabla 5: Características basales de los pacientes dependiendo de la presencia de RI. **Nota:** Las variables categóricas se expresan en números absolutos y (%), las variables continuas en mediana y (percentil 25-percentil 75).

6.1.6.1 Esteatosis/actividad hepática y RI

Al comparar los pacientes con y sin RI, no se encontraron diferencias significativas con respecto a la presencia de esteatosis hepática o el grado de actividad hepática. Sin embargo, al estratificar los pacientes según el genotipo del VHC se encontraron diferencias. Así, en los pacientes con genotipo 1/4, la RI se asociaba a la presencia de esteatosis hepática (OR, 3,9; IC del 95%, 1,12-13,8; p=0,032).

6.1.6.2 Fibrosis hepática y RI

Se evaluó la asociación entre la fibrosis hepática diagnosticada mediante biopsia hepática y la RI. De los 201 pacientes estudiados, 64 (32%) presentaban fibrosis avanzada (F3-F4). Se observó que existía una relación directa entre el índice HOMA y el estadio de fibrosis hepática (Gráfico 5).

Presentaban fibrosis hepática avanzada (F3-F4) 27 de 54 (50%) pacientes con RI frente a 37 de 147 (25%) pacientes sin RI, $P=0.001$).

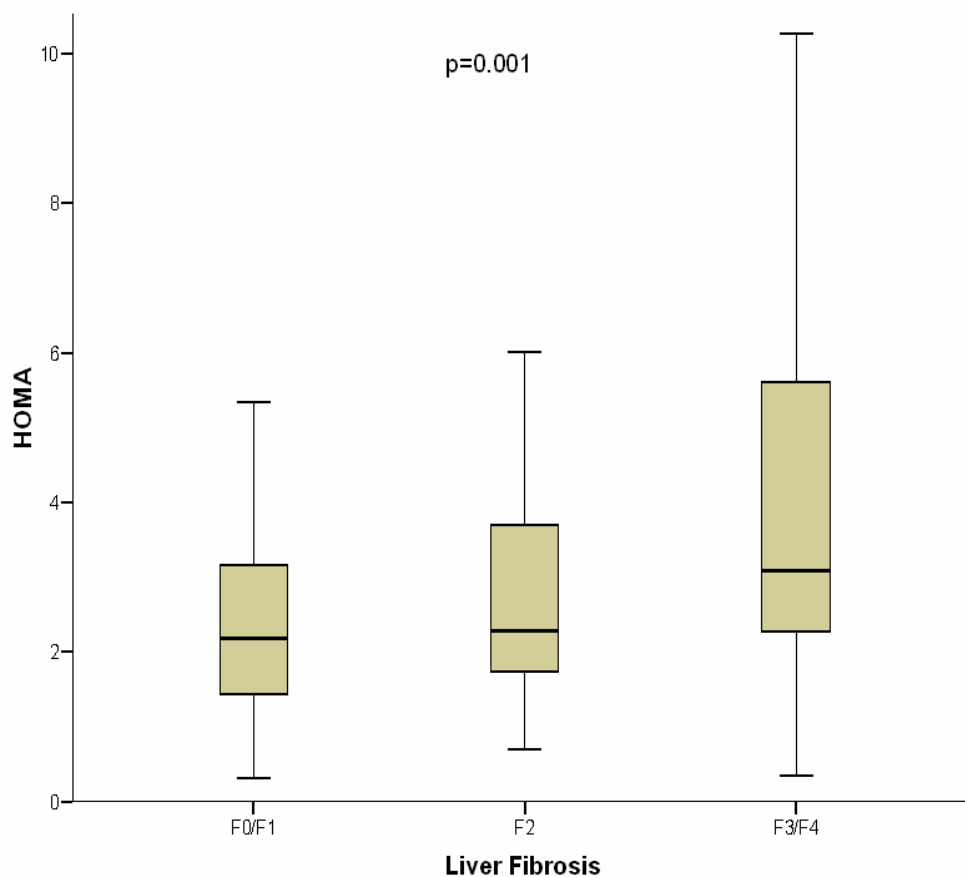


Gráfico 5: Diagrama de cajas que muestran valores del índice HOMA en relación con el grado de fibrosis hepática (METAVIR).

6.1.6.3 Tratamiento antirretroviral y resistencia insulínica

No se observó una asociación significativa entre la RI y las diferentes familias de fármacos (IP, NN o AN), ni tampoco con el tiempo acumulado de exposición a los mismos. Sin embargo, sí se observó una asociación entre RI y uso de algunos antirretrovirales analizados de forma individual. Así, existía una asociación entre el uso de saquinavir (SQV) con RI (OR, 5.8; IC del 95%, 1-32, $P=0.04$) y entre el uso de nevirapina (NVP), y ausencia de RI (OR, 0.41; IC del 95% 0.1-0.9, $P=0.04$) (Tabla 6).

TARV (191)	Sin RI (n=139)	Con RI (n=52)	Valor de P
TARV (años)	4.59±2,8	4.45±2,1	0.760
AN			
AZT	58 (79)	15 (20)	0.103
D4T	55 (68)	26 (32)	0.194
DDI	39 (80)	10 (20)	0.214
3TC	97 (71)	40 (29)	0.329
ABC	30 (77)	9 (23)	0.514
TDF	15 (71)	6 (29)	0.886
NN			
EFV	39 (65)	21 (35)	0.102
NVP	39 (85)	7 (15)	0.036
IP			
LPV*	11 (79)	3 (21)	0.765
SQV*	2 (33)	4 (67)	0.048
INV*	9 (100)	0 (0)	0.117
NFV*	8 (61)	5 (38)	0.346

Tabla 6: Tratamiento antirretroviral el día de la biopsia hepática y su relación con la presencia de RI. **Nota:** Las variables categóricas se expresan en números absolutos (%) y las variables continuas en media ± desviación estandar. * Analizado con el test exacto de Fisher.

6.1.7 Análisis Multivariante

En el análisis de regresión logística ajustado por edad, consumo de alcohol, nadir de linfocitos T CD4+, carga viral del VHC, genotipo del VHC, esteatosis hepática y fármacos antirretrovirales, las variables que de forma significativa se asociaban con la RI fueron la fibrosis hepática avanzada (OR, 4; IC del 95%, 1.2-12.4; $P=0.01$) y el índice de masa corporal (OR, 1,4; IC del 95%, 1,1-1,8; $P=0.006$).

6.2 Segundo objetivo

Para el segundo objetivo de la tesis (valorar si la resistencia a la insulina tiene algún efecto sobre la respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina en coinfectados) se valoraron inicialmente los 218 pacientes coinfectados que fueron tratados con interferón y ribavirina durante el periodo de estudio. De ellos 162 disponían del valor del índice HOMA basal (glucemia e insulina en ayunas obtenidos de forma simultánea el día del inicio del tratamiento) y de estos, 28 (17%), interrumpieron prematuramente el tratamiento por efectos adversos, abandono y/o pérdidas de seguimiento (Figura).

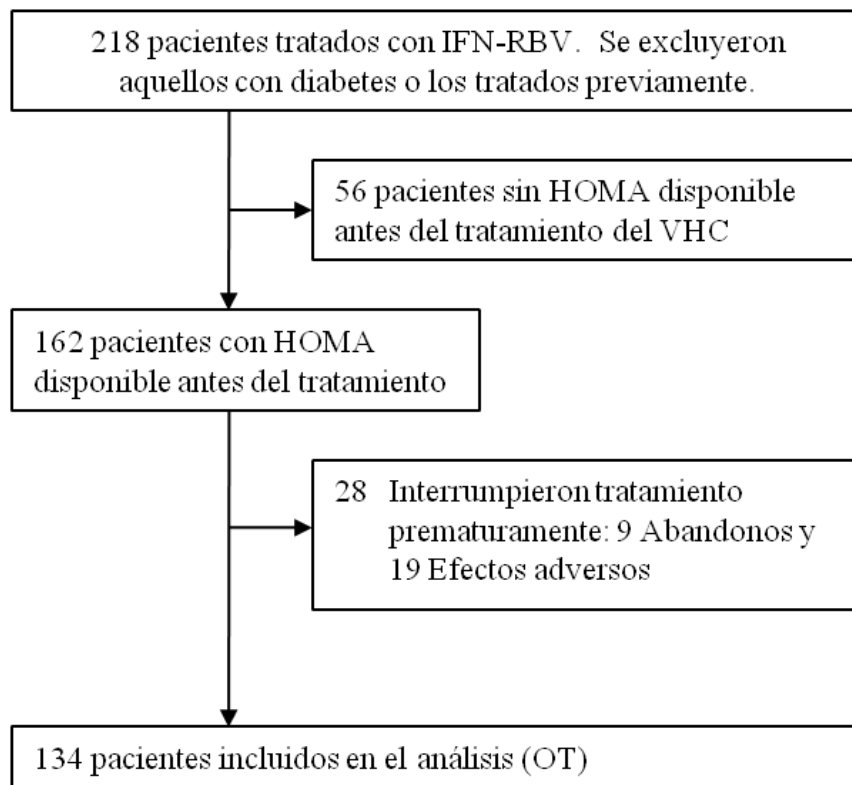


Gráfico 6 Gráfico de flujo de los pacientes incluidos en el análisis. **Abreviaturas:** OT, análisis “on-treatment”.

Por tanto, en el análisis ITT (“intention to treat”) se incluyeron los 162 pacientes con HOMA disponible antes del tratamiento y en el análisis OT (“on treatment”) a 134 pacientes; tras la exclusión de 28 pacientes que interrumpieron el tratamiento prematuramente por abandono voluntario o por efectos adversos. En la siguiente tabla se muestran las características de los pacientes incluidos en el estudio.

Características	Pacientes (n=162)	Interrupción (I) (n=28)	Análisis OT (n=134)	P (I-OT)
Sexo masculino	123 (76%)	20 (71%)	103 (77%)	0.47
Edad, (años)	40 (37-44)	41 (35-45)	40 (37-43)	0.94
IMC (kg/m ²)	23 (21-24)	21 (20-25)	23 (21-24)	0.76
HOMA	2.6 (1.6-5)	3.2 (1.2-5.7)	2,5 (1,6-4,7)	0.61
ADVP	141 (87%)	23 (82%)	118 (88%)	0.3
Ingesta de alcohol >50g/d	19/153 (12%)	6 (21%)	14/125 (11%)	0.29
CD4+ (cél./mm ³)	461 (360-669)	450 (360-648)	460 (359-681)	0.56
Categoría C de los CDC	40 (25%)	7 (25%)	33 (25%)	0.77
Nadir de CD4+ (cél./mm ³)	208 (109-343)	174 (89-300)	211 (112-357)	0.39
ARN del VIH (copias/mL) ^b	1.7 (1.7-2.2)	1.7 (1.7-2.5)	1.7 (1.7-2.1)	0.92
ARN del VIH <50 copias/mL	115 (71%)	18 (72%)	96 (72%)	0.76
Con TARV	138 (85%)	25 (89%)	113 (84%)	0.54
Utilización de IP	32 (20%)	6 (21%)	27/133 (20%)	0.73
ARN VHC (U/mL) ^b	5.7 (5.6-5.9)	5.7 (5.6-5.9)	5.7 (5.6-5.9)	0.56
ARN VHC >500.000 U/mL	54 (33%)	8 (29%)	45 (33%)	0.89
Genotipo 1/4	103/155 (66%)	16 (57%)	85/127 (67%)	0.69
Genotipo 2/3	52/155 (33%)	12 (43%)	42/127 (33%)	0.69
Fibrosis avanzada	54/138 (39%)	13/23 (56%)	42/116 (36%)	0.16
Esteatosis hepática	75/121 (62%)	8/19 (42%)	68/102 (67%)	0.007
Utilización Peg-interferón	129 (80%)	20 (71%)	109 (81%)	0.19
AST (U/L)	84 (55-127)	84 (57-112)	85 (53-134)	0.7

Tabla 7: Se muestran las diferencias en las características basales de los pacientes incluidos en el análisis final (OT) y los pacientes que interrumpieron el tratamiento de forma prematura (I) ^a. **NOTAS:** ^a Las variables categóricas se expresan en números absolutos (%) y las variables continuas como mediana (RIQ).^b Se midió en logaritmo de base 10.

Con respecto a las características basales, la única diferencia significativa entre los 134 pacientes incluidos en el análisis OT y los 28 excluidos (por interrupción prematura del tratamiento) fue la presencia de esteatosis hepática. La prevalencia de esteatosis hepática fue del 42% en los pacientes que interrumpieron el tratamiento de forma prematura y del 67% de aquellos incluidos en el análisis OT ($P=0.007$). En el resto de variables no observamos diferencias significativas entre la población ITT y la población OT.

Para ver si existían diferencias según el genotipo del VHC (disponible en 127 pacientes), se categorizó a los pacientes que alcanzaron una RVS dependiendo del genotipo. La proporción de pacientes con esteatosis hepática fue significativamente mayor entre los que tenían un genotipo 2/3 que los que presentaban genotipo 1/4 (29 [85%] de 65 pacientes frente a 38 [58%] de 34 pacientes; $P=0.007$). En el resto de variables, no existían diferencias estadísticamente significativas.

De los pacientes incluidos en el análisis OT, 25 (19%) recibieron interferón estándar y 109 (81%) recibieron interferón pegilado (alfa-2a o alfa-2b). La dosis media de ribavirina fue de 14.9 mg/kg/día.

6.2.1 Análisis univariante de los factores que se asocian con una RVS.

En el análisis por ITT, 69 de 162 (43%) pacientes alcanzaron una RVS. En el análisis univariante, las variables basales que se asociaron de forma significativa con una RVS fueron: índice HOMA (OR, 0.8; IC del 95%, 0.8-0.9; $P=0,02$), la RI (OR, 0.3; IC del 95%, 0.1-0.7; $P=0.005$), el nadir de linfocitos T CD4+ (OR, 1.003; IC del 95%, 1.001-1.005; $P=0.006$) y el genotipo 2/3 (OR, 4.5; IC del 95%, 2.2-9.3; $P<0.001$).

En el análisis OT, 67 de 134 (50%) pacientes consiguieron alcanzar una RVS. La RVS fue del 38% para los genotipos 1 y 4 y del 79% para los genotipos 2 y 3 (Gráfico 7). En el análisis univariante, las variables basales que se asociaron de forma significativa con la RVS fueron las mismas que las encontradas en el análisis ITT: genotipo, nadir de linfocitos T CD4+, índice HOMA y RI (Tabla 8).

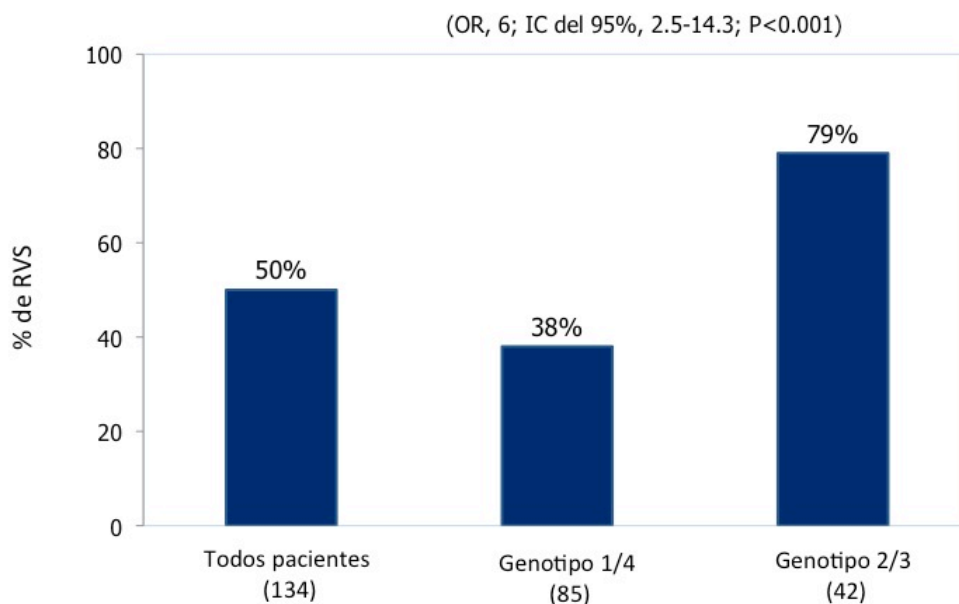


Gráfico 7 : Gráfico que muestra el porcentaje de RVS (análisis OT) dependiendo el genotipo del VHC

	RVS (n=67)	sin RVS (n=67)	valor de p
Sexo masculino	52 (78%)	51 (76%)	0.83
Edad, (años)	41 (36-45)	43 (39-46)	0.57
IMC (kg/m ²)	23 (21-25)	21 (21-24)	0.75
HOMA	1.9 (1.4-3.3)	3.3 (1.9-5.5)	0.005
RI	13 (19%)	28 (42%)	0.005
ADVP	59 (88%)	59 (88%)	0.80
Ingesta de alcohol >50g/d	6/63 (9%)	8/62 (13%)	0.55
CD4+ (cel./mm ³)	464 (365-627)	404 (326-675)	0.23
Categoría C de los CDC	16 (24%)	17 (25%)	0.80
Nadir de CD4+ (cel./mm ³)	228 (137-391)	163 (41-204)	0.005
ARN del VIH, (copias/ml) ^b	1.7 (1.7-1.8)	1.7 (1.7-1.9)	0.51
ARN del VIH <50 copias/ml	50 (75%)	46 (69%)	0.36
Con TARV	56 (84%)	57 (85%)	0.81
Utilización de IP	12 (18%)	15 (22%)	0.54
ARN VHC, (U/m) ^b	5,8 (5,6-6,2)	5,8 (5,6-6,5)	0.94
ARN VHC >500,000 IU/ml	23 (34%)	22 (33%)	0.85
Genotipo 1/4	32/65 (49%)	53/62 (85%)	0.000
Genotipo 2/3	33/65 (51%)	9/62 (14%)	0.000
Fibrosis avanzada	20/59 (34%)	22/57 (38%)	0.59
Esteatosis hepática	35/53 (66%)	33/49 (67%)	0.88
Utilización Peginterferón	56 (84%)	53 (79%)	0.58
AST (U/l)	83 (56-125)	85 (45-119)	0.66

Tabla 8. Características basales de los pacientes según la RVS (población OT). **NOTAS:**^a Las variables categóricas se expresan en números absolutos (%) y las variables continuas como mediana (RIQ).^b Se midió en logaritmo de base 10.

Los valores del índice HOMA fueron significativamente mayores en los pacientes sin RVS (mediana [RIQ], 3.3 [1.9-5.5]) que en aquellos pacientes con RVS (1.9 [1.4-3.3]), $P=0.005$. Igualmente, la prevalencia de RI (HOMA \geq 3.8) antes de comenzar el tratamiento anti-VHC fue significativamente superior en aquellos pacientes que no lograron una RVS frente a los que sí la lograron (42% frente a 19% respectivamente; $P=0.005$). Además, se observó una tendencia significativa hacia una menor RVS a

medida que aumentaban los valores del índice HOMA antes del tratamiento (Gráfico 8).

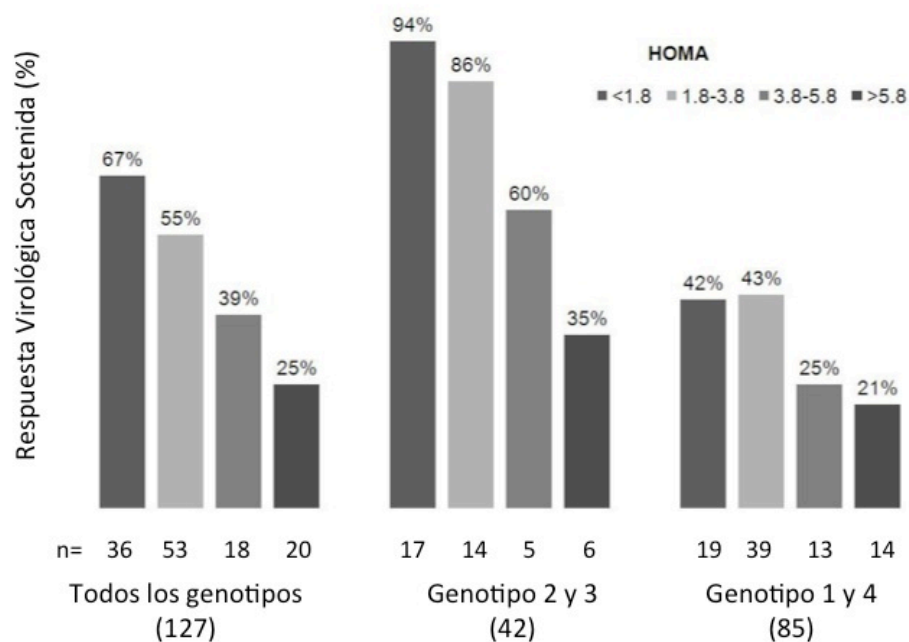


Gráfico 8 . Respuesta virológica sostenida (RVS) según el HOMA (127 pacientes) * por asociación lineal ($p=0.003$) y según genotipo; análisis OT

También se determinó la frecuencia de la RVS según el genotipo y la presencia de RI (Gráfico 8). Pudimos observar que en los pacientes infectados por VHC genotipo 2/3, la frecuencia de RVS fue significativamente menor en los pacientes con RI que en aquellos sin RI (OR, 0.08; IC del 95%, 0.01-0.48; $P=0.005$). En los pacientes infectados por VHC genotipo 1/4 existía una tendencia hacia una menor frecuencia de RVS en los pacientes con RI en comparación con aquellos que carecían de RI. (OR, 0.4; IC del 95%, 0.16-1.26; $P=0.99$)(Tabla 9).

	Todos los pacientes	Pacientes con Gen 1-4	Pacientes con Gen 2-3
Todos los pacientes	67/134 (50.0%)	32/85 (37.6%)	33/42 (78.6%)
Pacientes sin RI	54/93 (58.1%) ^a	25/58 (43.1%) ^b	28/31 (90.3%) ^c
Pacientes con RI	13/41 (31.7%) ^a	7/27 (25.9%) ^b	5/11 (45.5%) ^c

Tabla 9 . RVS al tratamiento con interferón y ribavirina según genotipo de VHC y la presencia o ausencia de RI. Resultados de los 134 pacientes incluidos en el análisis “on-treatment”. El genotipo del VHC no estaba disponible en 7 pacientes. ^a $P=0.005$, ^b $P=0.099$, ^c $P=0.005$ (Test de Fisher)

6.2.2 Análisis multivariante

Al realizar un análisis de regresión logística, se encontraron tres factores que de forma independiente y significativa se asociaban con la RVS en la población OT; el genotipo 2/3 (OR, 6.7; IC del 95%, 2.71-16.98; $P<0.001$), la ausencia de RI (OR, 3.3; IC del 95%, 1.36-8.26; $P=0.008$), y el nadir de linfocitos T CD4+ (OR, 1.002; 95% CI, 1.00-1.00; $P=0.047$).

Estas tres variables (genotipo, ausencia de RI y nadir de linfocitos T CD4+) se mantuvieron asociadas de manera independiente con RVS en un segundo modelo de regresión logística, ajustado por: edad, sexo, índice de masa corporal, ARN-VHC, tratamiento con interferón pegilado, tratamiento concomitante con IP, presencia de esteatosis hepática y/o fibrosis hepática avanzada..

Finalmente, pudimos demostrar que, tras ajustar por genotipo del VHC, ARN-VHC, fibrosis hepática avanzada y tratamiento con interferón pegilado, la ausencia de RI fue un factor asociado con respuesta al tratamiento en diferentes momentos: respuesta viral rápida (semana 4), respuesta viral temprana completa (semana 12), respuesta en la semana 24, respuesta al fin del tratamiento (semana 48) y RVS (semana 72).

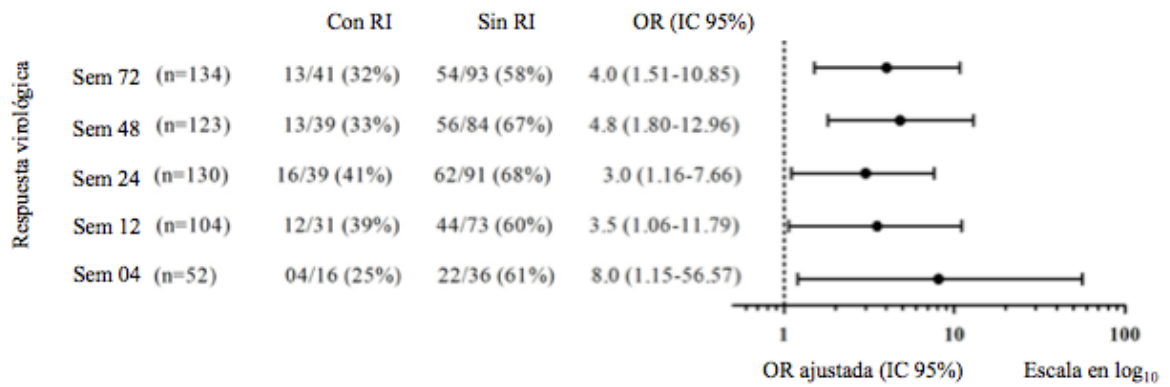


Gráfico 10. Asociación entre la RI basal y la respuesta virológica según los meses de tratamiento. Las Odds Ratio (OR) se ajustaron a genotipo del VHC, ARN-VHC, presencia de fibrosis hepática avanzada y tratamiento con interferón pegilado.

7 DISCUSIÓN

7.1 Resumen de resultados

En el presente estudio, hemos encontrado que la resistencia a la insulina (RI) estimada mediante el modelo HOMA está presente en aproximadamente un cuarto de los pacientes coinfectados de nuestro centro. En esta población, la RI (HOMA>3,8) se asocia de forma significativa con un mayor índice de masa corporal (IMC), un mayor grado de fibrosis hepática cuantificada mediante biopsia hepática. Además, nuestros resultados sugieren que la presencia de RI se asocia con una peor respuesta al tratamiento anti-VHC con interferón y ribavirina.

7.2 Definición y diagnóstico de la resistencia a la insulina

El cálculo del índice HOMA, ha demostrado ser una herramienta clínica y epidemiológica robusta para calcular la RI y hasta la fecha se ha utilizado en numerosos estudios^{203,263}. Sin embargo existen varias cuestiones relacionadas con el cálculo de la RI que no han sido clarificadas y que probablemente no se han tenido en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos. Estas cuestiones son; el procesamiento de muestras, el número de muestras, la técnica utilizada para la medición de insulina, su estandarización, la conversión de unidades y los modelos para el cálculo de la RI y por último los puntos de corte para la definición de RI. A continuación se detallan las mas importantes y las que han podido tener implicaciones en nuestro trabajo;

7.2.1 Procesamiento de muestras

En nuestro estudio, el índice HOMA se calculó utilizando dos muestras de sangre obtenidas simultáneamente el día de la biopsia hepática y al inicio del tratamiento. La muestra para la medición de la glucemia, se procesó por el circuito normal del laboratorio del hospital, mientras que la muestra para la medición de insulina, se almacenó y se congeló para su posterior utilización. De las muestras almacenadas

únicamente se midió la insulina, ya que la glucosa y el péptido C se degradan con la congelación. Un mal procesamiento de la muestra podría derivar en la degradación de la insulina. En nuestro trabajo las muestras se procesaron inmediatamente después de su extracción y se descartaron todas aquellas en las que existían datos de hemólisis, sin embargo el hecho de tener que almacenar la muestra, suponía un aumento de riesgo de procesamiento inadecuado.

7.2.2 Número de muestras

Debido a que la secreción de la insulina es pulsátil, utilizar tres muestras obtenidas a intervalos de 5 minutos es teóricamente mejor que una sola muestra para estimar el HOMA²⁰³. En nuestro trabajo hemos estimado el valor de HOMA con una única medición de insulina. La razón de hacerlo así es que, el estudio se planteó de forma retrospectiva y únicamente se procesó la muestra de suero disponible.

7.2.3 Falta de estandarización de las pruebas que miden la insulina

Todos los modelos que se utilizan para estimar la RI utilizan en sus fórmulas la insulinemia. Actualmente existen distintos tipos de técnicas para la medición de insulinemia con aplicación diferentes metodologías, procedimientos de calibración o factores de conversión, haciendo que los valores de insulina puedan variar entre los distintos laboratorios y métodos utilizados²⁶⁴. Esto deriva en que los métodos para la medición de la insulina no están adecuadamente estandarizados pudiendo limitar las comparaciones entre diferentes estudios y resultados²⁶⁵⁻²⁶⁸.

7.2.4 Unidades de medida

Se recomienda que la concentración de insulina plasmática se exprese en unidades del sistema internacional en vez de las convencionales. Sin embargo, no todos los métodos para la medición de la insulinemia utilizan los mismos factores de conversión.

Este hecho contribuye aún más a incrementar el grado de heterogeneidad entre las diferentes pruebas para la medición de insulina^{269,270}.

7.2.5 Método HOMA

Para la medición del HOMA en nuestro trabajo se utilizó la fórmula de Matthews²⁰³, por ser un método sencillo, aplicable a estudios con muchos pacientes y haber sido validada con otros métodos reconocidos para la medición de la RI. Sin embargo, y aunque hay estudios que han validado el HOMA con la prueba considerada patrón de oro, el clamp euglucémico-hiperglucémico es una prueba dinámica, compleja y produce estrés, mientras que el HOMA es un modelo de predicción estático. Una de las limitaciones más importantes con la que se encuentran los estudios que utilizan el HOMA y por tanto, nuestro trabajo, es que hasta la fecha no hay consenso internacional sobre el punto de corte que define RI. Como se describe en métodos, en nuestro trabajo definimos un punto de corte de 3,8 basándonos en un estudio español de prevalencia realizado en pacientes no diabéticos²⁶⁰.

En conclusión, el método HOMA está ampliamente extendido y aceptado para el cálculo de la RI, no sólo en la población general sino también en pacientes coinfectados. Sin embargo, se recomienda tener en mente sus limitaciones (punto 6.2) en la comparación de resultados o aplicabilidad clínica.

7.3 Prevalencia de RI en pacientes coinfectados

En el primer objetivo de nuestro estudio, la mediana (RIQ) del índice HOMA de los 201 pacientes analizados fue de 2.47 (1.7-3.9) y según el punto de corte establecido previamente ($HOMA > 3.8$) se determinó que 54 (27%) pacientes presentaban RI.

Según los datos de la cohorte MACS, los sujetos infectados por VIH mostraron mayor prevalencia de síndrome metabólico y RI que la población general²⁷¹. Los estudios que analizan la prevalencia de RI en la población infectada por el VIH son muy

heterogéneos (por las diferentes poblaciones estudiadas y los métodos y puntos de corte utilizados). En coinfectados, la coexistencia de ambas infecciones en un mismo paciente estará asociada a una mayor riesgo de RI. Así, varios autores han demostrado que los pacientes coinfectados tiene un HOMA más alto que los casos de pacientes VIH sin hepatitis C o los pacientes mono infectados por hepatitis C²⁷².

Estudio	n	Prueba	PC	HOMA	F3-F4 (%)	IMC	Gen2/3	RI
Halfon ²⁷³	170	IEMA	2	3.5	36 %	22.9	32.9%	37%
Cacoub ²⁷⁴	238	IEMA	2,5	3.1	36%	22.4	38%	32%
Nasta ²⁷⁵	74	IECMA	3	3.5	54%	23.8	46.5%	50%
Ryan ²⁷⁶	201	ELISA	3,8	2.4	32%	22	23%	27%
Ryan ²⁷⁷	134	ELISA	3,8	2.5	36%	23	33%	31%
Merchante ¹²⁹	79	IECMA	3,8	2.6	45%	22.7	21%	29.1%
Merchante ²⁷⁸	330	IECMA	4	2.53	41.7%	23	35%	26%
Merchante ¹⁹⁰	155	IECMA	4	2.8	46.5%	22.9	35%	29%
Vachon ^{279*}	96	ICMA	2 y 4	-	62.5%	26	13.5%	82% y 44%
Donato ²⁸⁰	86	-	2.6	2	30%	-	33%	
Hull ²⁸¹	158		2 y 4	2		-	-	56% y 27%
Butt ²⁸²	183			3.3			27%	-

Tabla 11: Estudios en pacientes coinfectados que evalúan la prevalencia de RI, teniendo en cuenta el método utilizado para la medición de insulina, el punto de corte del HOMA y ciertas características basales de los pacientes **Abreviaturas:** n, número de pacientes; prueba, tipo de ensayo utilizado para la medición de insulinemia; PC, punto de corte para definir RI; HOMA, mediana del HOMA; F3-F4, porcentaje de pacientes con fibrosis avanzada; IMC, índice de masa corporal; Gen2/3, porcentaje de pacientes con genotipos 2 o 3; RI, resistencia a la insulina; IECMA, Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia; ICMA, Inmunoensayo de quimioluminiscencia; IEMA, ensayo inmunoenzimetrico; ELISA, enzimoimmunoanálisis de adsorción * pacientes tratados previamente con interferón pegilado y ribavirina

En la tabla 11 se detallan los estudios publicados hasta la fecha que evalúan la RI en pacientes coinfectados. Salvo alguna excepción, los estudios no se diseñaron para evaluar la prevalencia de RI sino que fueron diseñados para evaluar los factores asociados a fibrosis hepática y/o a la respuesta al tratamiento de la hepatitis C. Como ocurre en nuestro estudio, los sujetos incluidos, no son totalmente representativos de

la población coinfectada, ya que la mayoría de los pacientes incluidos han sido seleccionados para la realización de una biopsia hepática o el inicio de tratamiento para la hepatitis C.

Analizando los estudios de la tabla 11 de forma conjunta (aproximadamente 1800 pacientes) el índice de HOMA medio es de 2.7 (desviación estándar \pm 0,5) y con los puntos de corte establecidos en cada estudio, la prevalencia de RI es del 33% aproximadamente. En general no hay diferencias importantes entre los estudios en cuanto al valor del HOMA, la representación de pacientes con fibrosis avanzada y los diferentes genotipos, sin embargo, hay que tener en consideración otras variables no recogidas en este análisis como son la edad, raza, tipo de estudio, grado de inmunodepresión, TARV, presencia de alteraciones en la distribución grasa...etc.

Si se compara la mediana de HOMA y la prevalencia de RI de nuestro estudio con otros estudios de nuestro medio que utilizan un punto de corte parecido al nuestro estas son prácticamente superponibles, y las diferencias, posiblemente se deban a diferencias en las características basales^{129,190,278}.

Aunque aún no está claro el papel que juegan las anomalías metabólicas que acompañan a la RI en pacientes coinfectados, la prevalencia de RI en esta población hacen temer un aumento de riesgo cardiovascular en estos individuos a medida que aumente su edad.

7.4 Resistencia a la insulina e índice de masa corporal.

En nuestro trabajo, la mediana del índice de masa corporal (IMC) fue 22.3 (21-24.3) kg/m². Según la clasificación de la SEEDO (Sociedad Española para el estudio de la Obesidad), la mayoría de los pacientes tenían un peso normal (IMC 18.5-24.9), el 18% presentaban sobrepeso (IMC 25-29.9) y únicamente un paciente fue diagnosticado de obesidad (IMC >30). La RI (HOMA >3.8) se asociaba de forma estadísticamente

significativa con el sobrepeso (IMC >25) (OR 4 con un IC del 95% de 1.6-9.5, $P=0.002$).

Al igual que en nuestro trabajo, varios estudios han encontrado una relación directa entre la RI y el sobrepeso en pacientes coinfectados. El estudio HOMAVIC, la cohorte Canadiense de pacientes coinfectados y los estudios de Merchante y Howard, encuentran una asociación entre la RI y el IMC ajustando por diferentes variables en el análisis de regresión logística.

El sobrepeso constituye en la actualidad un problema sanitario de enorme importancia, que afecta también a los pacientes coinfectados por VIH/VHC. En nuestro estudio casi un 20% de los pacientes tenían un IMC>25. En el sobrepeso existe mayor cantidad de tejido adiposo e inflamación. Las citoquinas inflamatorias como el TNF-alfa, la leptina o los ácidos grasos libres producidos en el tejido adiposo, tienen un papel regulador en la homeostasis de la glucemia y están implicados en la etiología de la RI inducida por el sobrepeso²¹⁹.

En pacientes mono infectados, se ha visto que el sobrepeso se asocia a esteatosis hepática y ésta puede contribuir a una mayor fibrosis^{113,283}. En nuestro estudio, el IMC no se asociaba con la fibrosis hepática y únicamente se asociaba con la esteatosis hepática en los pacientes con genotipo 1.

En la mayoría de estos estudios, incluido el nuestro, no se tiene en cuenta las alteraciones de la distribución grasa^{274,278,281,284}. En la literatura está ampliamente descrita la correlación entre redistribución grasa y RI, sobretodo en los casos de lipodistrofia mixta²⁸⁵. En el caso de nuestro estudio, al ser retrospectivo no hemos incluido en el análisis la lipodistrofia por no disponer datos objetivos en la historia clínica.

7.5 Resistencia a la insulina y esteatosis hepática

De los 201 pacientes con biopsia hepática, el 54% presentaban esteatosis hepática (>10% de hepatocitos con vesículas de grasa) y ésta se asociaba de forma significativa con el genotipo 3 (OR; 7.3; IC del 95%, 1.8-29; $P=0.005$).

En nuestro trabajo, la esteatosis hepática no se asociaba con la RI, pero al categorizar por genotipos, en los pacientes con genotipo 1/4 existía una asociación estadísticamente significativa entre la esteatosis hepática y la RI. El hecho de que la RI y la esteatosis hepática no estén relacionados en los pacientes con genotipo 3, hace pensar que el estado de RI es la causa y no la consecuencia de la esteatosis hepática^{120,127,286}. Estos resultados avalan la teoría de que la aparición de la esteatosis hepática en los pacientes con infección crónica por el VHC parece ser genotipo dependiente. Así, en los pacientes con genotipo 1, la esteatosis hepática se relaciona con los factores de riesgo clásicos produciendo una esteatosis “metabólica”, mientras que en los pacientes con genotipo 3, la esteatosis hepática, esta mediada por el efecto citopático del propio virus de la hepatitis C produciendo una esteatosis “viral”¹¹¹.

Tanto en los pacientes sin tratamiento previo para la hepatitis C²⁷⁴ como en los tratados previamente²⁷⁹, se ha observado que la RI se asocia a la esteatosis hepática en pacientes con sobrepeso y con genotipo 1.

7.6 Resistencia a la insulina y fibrosis hepática

Los primeros estudios en la población coinfectada no encontraron una asociación entre la RI y la fibrosis hepática. En un estudio retrospectivo Merchante et al¹²⁹, evaluó la asociación de la RI con la fibrosis hepática medida mediante biopsia hepática en 79 pacientes coinfectados, y no encontró una asociación entre los niveles de HOMA y el grado histológico de fibrosis hepática. Los autores sostenían que a diferencia de los pacientes mono infectados, la población coinfectada tiene otros factores más

relevantes en la progresión a fibrosis hepática como son la inmunodepresión o el TARV. Resultados similares se comunicaron posteriormente en un estudio con 170 pacientes coinfectados que se emparejaron por edad, sexo y genotipo con 170 pacientes mono infectados. En este estudio, la RI se asociaba con la esteatosis y la fibrosis hepática en pacientes mono infectados, pero no en pacientes coinfectados²⁷³. Hay que mencionar sin embargo, que en el estudio publicado por Merchante et al. aunque no se demostró una asociación entre la RI y la fibrosis, se encontró una tendencia que no era significativa probablemente debido a la falta de potencia estadística del estudio.

A diferencia de lo hallado en los estudios comentados con anterioridad, nosotros sí que pudimos observar una asociación independiente entre la presencia de RI y el estadio de fibrosis cuantificada mediante biopsia en 201 pacientes coinfectados. La mitad de los pacientes con RI presentaba fibrosis hepática avanzada frente a un cuarto de los pacientes sin RI ($P=0.001$). El número de pacientes incluidos en el estudio nos permitió poder realizar un análisis de regresión logística con todas las variables demográficas, inmunoviroológicas, histológicas y farmacológicas que pudieran interferir en la asociación. El estudio francés HOMAVIC-ANRS HC02 (sub-estudio del RIBAVIC) corroboró nuestros datos analizando el efecto de la RI en la RVS en 238 pacientes coinfectados que iniciaron tratamiento para la hepatitis C. Los factores que se asociaban a RI (HOMA >2.5) de forma significativa fueron el IMC >25 , la fibrosis hepática y la RVS²⁷⁴. En el análisis multivariante, la RI (HOMA >2.5) se asociaba a la fibrosis hepática avanzada (F >3) de forma independiente y estadísticamente significativa (OR 1.85; IC del 95% 1.04-3.29).

Estudio	N	HOMA Punto corte	RI (%)	Método	Factores asociados con RI
Halfon P ²⁷³	170	2	37%	Biopsia	La RI no asociada a fibrosis (F>2), esteatosis (>10%) o IMC
Cacoub P ²⁷⁴	238	2.5	32%	Biopsia	RVS, IMC, fibrosis (F>3)
Ryan P ²⁷⁶	201	3.8	27%	Biopsia	IMC, fibrosis (F>3)
Merchante N ¹²⁹	79	3.8	29.1 %	Biopsia	La RI no asociada a fibrosis
Merchante N ²⁷⁸	330	4	26%	Elastografía	Fibrosis, triglicéridos>150, IMC>25
Vachon ²⁷⁹	94	2 y 4	82% y 44%	Biopsia	Fibrosis, esteatosis y RVS.
Hull ²⁸¹	158	2	56%	APRI	Fibrosis e IMC
Dominique S ²⁸⁷	130	4	27%	Elastografía	IMC, fibrosis (F>3), AST, ALT, GGT

Tabla 12: Estudios en coinfectados que muestran los factores que se asocian de forma estadísticamente significativa con la R. Ver abreviaturas

En la mayoría de estos estudios (Tabla 12), los pacientes fueron sometidos a una biopsia hepática sin embargo dos estudios investigaron la relación entre la RI y el grado de fibrosis hepática medida mediante elastografía de transición. En uno de ellos, se incluyeron a más de 300 pacientes coinfectados y se demostró que la RI (HOMA>4) en pacientes coinfectados se asociaba a fibrosis avanzada (>9 kPa)²⁷⁸. Esta asociación continuaba siendo significativa después de excluir aquellos pacientes con cirrosis hepática (>14.6 kPa). En el segundo estudio se comunicaron los datos de la cohorte francesa ANRS CO 13 HEPAVIH²⁸⁷ que incluía a 130 pacientes a los que se les pudo calcular la RI. El riesgo de presentar fibrosis hepática avanzada medida mediante elastografía de transición se incrementaba de forma significativa en los pacientes con RI (HOMA>4) en comparación con aquellos sin RI (OR 4.2, IC del 95% 1.4 -12.7, $P = 0.01$). Los datos de los estudios con elastografía permiten utilizar un número mayor de pacientes y confirman la asociación entre la RI y la fibrosis avanzada. Sin embargo hay que tener presente que es una prueba indirecta para la medición de fibrosis y que los estadios de intermedios pueden estar afectados por otro

factores externos. Por ejemplo la esteatosis hepática, relacionada o no con la RI, puede influir en los resultados de la elastografía de transición, aumentando el número de falsos positivos para fibrosis avanzada⁷⁵.

Los investigadores de una cohorte canadiense de pacientes coinfectados publicaron recientemente un estudio longitudinal en el que se evaluaba el efecto de la RI basal en el riesgo de progresión de la fibrosis hepática de forma prospectiva²⁸¹. En el análisis multivariante la fibrosis hepática medida mediante el índice APRI se asociaba de forma significativa a un HOMA >2 (OR 7; IC del 95% 2.5-23,3). Por lo tanto, el riesgo de desarrollar fibrosis era casi 8 veces mayor en presencia de RI y de forma independiente al IMC. El número de pacientes excluidos (83%) y la utilización de APRI como marcador subrogado de fibrosis hepática en este trabajo fueron las limitaciones más importantes.

En nuestro estudio, el análisis de la asociación de la RI con la fibrosis hepática, también se realizó excluyendo del análisis aquellos pacientes con cirrosis hepática, dado que en la cirrosis hepática existe una alteración en el aclaramiento de la insulina²⁸⁸. En los pacientes no cirróticos, la RI seguía asociándose de forma significativa al estadio de fibrosis hepática.

A pesar de la controversia, evaluando los datos aportados por los diferentes estudios, parece existir una asociación entre RI medida mediante HOMA y la fibrosis hepática medida mediante diferentes métodos en pacientes coinfectados. Independientemente de los mecanismos fisiopatológicos implicados, se han evaluado estudios grandes, que utilizan biopsia hepática y se han ajustado por otros factores relacionados (Tabla 12).

De momento, carecemos de índices no invasivos validados que incluyan el HOMA y que puedan utilizarse en la práctica clínica para identificar a los pacientes con fibrosis hepática avanzada o ayudar a diferenciar estadios de fibrosis.

7.7 Resistencia a la insulina y tratamiento antirretroviral

Algunos inhibidores de la proteasa y la exposición acumulada a ciertos nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa, han sido relacionados con la presencia de RI^{255,289,290}.

En nuestro estudio se evaluó la asociación entre el TARV que recibía el paciente en el momento de la biopsia y la RI en 191 pacientes coinfectados, no encontrando una asociación significativa entre la RI y las diferentes familias de fármacos (IP, NN o AN) o el tiempo acumulado de exposición. En el análisis multivariante el uso de nevirapina se asociaba a la ausencia de RI y en cambio el uso de saquinavir con presencia de RI. Cabe destacar que en nuestro estudio únicamente recibían IP el 23% de los pacientes y el número de pacientes incluidos en cada grupo fue muy bajo. Como se muestra en los resultados, se utilizaron IP antiguos dado que en el momento de la biopsia, los IP más recientes no estaban disponibles. Al igual que nuestro grupo, otros autores han demostrado un efecto neutro de la nevirapina sobre el metabolismo hidrocarbonado y una mejoría de la RI con respecto a otros fármacos^{291,292}.

Hay que destacar que el estudio no se diseñó para evaluar el efecto del TARV sobre la RI y únicamente se registraron aquellos tratamientos que recibía el paciente durante la biopsia. Tampoco se registró toda la historia de tratamiento ni el tiempo de exposición de cada uno de ellos. Los fármacos más recientes son menos tóxicos y prácticamente no producen alteraciones metabólicas o han demostrado un efecto beneficioso sobre la sensibilidad a la insulina²⁵⁶.

7.8 Eficacia del tratamiento con interferon y ribavirina.

En el segundo objetivo de nuestro trabajo, el 50% (67/134) de los pacientes incluidos en el análisis OT (pacientes que lograron completar el tratamiento o los que lo

abandonaron por fallo virológico) consiguieron una RVS un 38% en el genotipo 1/4 y 79% en genotipo 2/3.

Una revisión¹⁶⁹ analizó la eficacia virológica de los estudios publicados hasta la fecha en coinfectados, según el cual, la RVS global se situaba entre un 17% y 53% (44-81% en genotipo 2/3 y 19-47% en genotipo 1. Estos resultados tan dispares, se deben en parte a las diferentes características basales (grado de fibrosis, ARN-VHC al inicio, representación del genotipo...), dosis de ribavirina y tasas de abandonos (pej. 25% en el estudio APRICOT frente a 59% en el estudio ICOS) de los diferentes ensayos.

En nuestro estudio, en el análisis por intención de tratar, 69 de 162 (43%) pacientes alcanzaron una RVS. Los resultados tan favorables en cuanto a tasas de respuesta, se podrían explicar en parte por la utilización de criterios de inclusión estrictos y por el tipo de monitorización utilizada (el seguimiento se realizó en una unidad especializada con amplia experiencia en el tratamiento de la hepatitis C, que dispone de un hospital de día para poder monitorizar y tratar de forma prematura los efectos adversos reduciendo así la tasa de abandonos).

7.9 Impacto de la resistencia a la insulina en la respuesta al tratamiento del VHC.

Después de demostrar que la RI es frecuente en nuestros pacientes y que ésta se asocia con otras condiciones desfavorables para la respuesta al tratamiento, decidimos evaluar la influencia de la RI en la respuesta viral sostenida.

Para evaluar el efecto de la RI sobre la respuesta al tratamiento se llevó a cabo un análisis OT que incluía únicamente los pacientes que lograron completar el tratamiento y los que lo abandonaron por fallo virológico. Se demostró que en pacientes coinfectados la RI (HOMA>3.8) al comenzar un tratamiento con interferón y ribavirina se asociaba de forma significativa con una peor RVS en comparación con aquellos pacientes sin RI. El efecto negativo de la RI sobre la respuesta viral se objetivó desde

las primeras semanas del tratamiento. Asimismo, se encontró una tendencia significativa hacia un menor porcentaje RVS a medida que aumentaban los valores del HOMA basales (Gráfico 11).

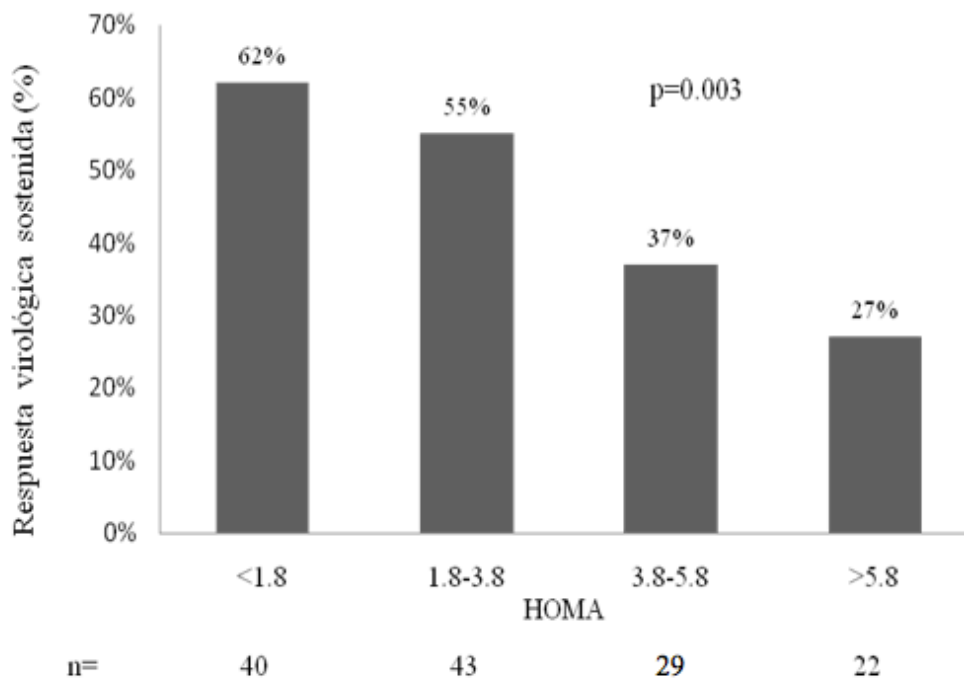


Gráfico 11. Respuesta virológica sostenida (RVS) según el HOMA (134 pacientes) * por asociación lineal.

Al igual que en los estudios que analizan el impacto de la RI en el grado de fibrosis hepática, se han publicado varios trabajos con resultados contradictorios sobre la asociación entre la RI y la respuesta al tratamiento en pacientes coinfectados tratados con interferón y ribavirina.

El estudio HOMAVIC-ANRS HC02 (subestudio del RIBAVIC) analizó el efecto de la RI (HOMA>2.5) en la RVS en 238 pacientes coinfectados que iniciaron tratamiento para la hepatitis C. Las características basales del estudio se muestran en la siguiente tabla (Tabla 13), donde se puede observar la similitud de los pacientes incluidos con

respecto al nuestro. En un análisis por intención de tratar, 96 (40%) pacientes consiguieron una RVS (54% en genotipos 2/3 y 27% en los genotipos 1/4). Los factores que se asociaban a la presencia de RI fueron; un IMC>25, la fibrosis hepática avanzada y la RVS. En el análisis multivariante, la RI tenía un efecto negativo sobre la RVS (OR 0.49; IC 95% 0.26-0.92; $P=0.05$). Además se evaluó la probabilidad de RVS según el genotipo y el HOMA basal según el método de la media móvil, siendo en los pacientes con genotipo 2/3, donde se encontró una menor tasa de RVS con los incrementos del HOMA.

Características	HOMAVIC (n=238)	Ryan (n=134)
Análisis	ITT	OT
Sexo masculino	177(74%)	103 (77%)
Edad, (años)	40	40
IMC (kg/m ²)	22.4	23
HOMA	3.1	2,5
Utilización de IP	102(43%)	27/133(20%)
Genotipo 1/4	147(62%)	85/127 (67%)
Fibrosis avanzada	86(36%)	42/116 (36%)
Utilización Peginterferón	124(52%)	109(81%)

Tabla 13: Comparación de las características basales de estudio HOMAVIC y nuestro estudio.

En estudios de pacientes previamente tratados también se ha encontrado que la RI basal se asocia con falta de respuesta en pacientes coinfectados²⁷⁹.

Sin embargo, en un estudio multicéntrico español, observó que la RI no era un predictor de RVS en 155 pacientes coinfectados. En este estudio, 55 pacientes (36%) lograron una RVS: 42 pacientes con HOMA<4 y 13 pacientes con HOMA>4 ($P=0.27$). En cambio, el genotipo, la carga viral basal y la concentración basal de LDL se

asociaron de forma independiente con la RVS¹⁹⁰. Los resultados de nuestro trabajo contrastan con los publicados por Merchante et al. posiblemente por diferencias metodológicas. A diferencia del nuestro, el estudio de Merchante se realizó en cuatro centros y se utilizó un análisis por intención de tratar.

En un metanálisis que incluía a 623 pacientes coinfectados tratados con interferón y ribavirina²⁹³, se demostró que la RI (HOMA>2 o HOMA>4) se asociaba a una peor respuesta virológica sostenida (OR 0.47; IC 95% 0.31-0.71) disminuyendo a la mitad en pacientes con el HOMA alterado.

La RI influye de forma muy temprana en la dinámica viral, como se ha demostrado en estudios que han valorado las respuestas virales a las 24 horas y a las 48 horas después de inyectarse la primera dosis de interferón. Este efecto parece ser independiente de la fibrosis hepática y el genotipo^{294,295}. Varios estudios han evaluado la relación entre el HOMA basal y la cinética viral en los primeros meses de tratamiento tanto en pacientes mono infectados²⁹⁶⁻²⁹⁸ como en coinfectados^{275,299}. En el estudio de Nasta et al.²⁷⁵ y de forma representativa, los pacientes con genotipo 3 y con RI, tenían las mismas probabilidades de alcanzar una RVR que los pacientes con genotipo 1, carga viral baja y sin RI. En nuestro estudio y como se muestra en la grafica 10, pudimos demostrar que la RI basal se asocia a una disminución en el aclaramiento del VHC en las primeras fases del tratamiento de forma independiente al genotipo y grado de fibrosis hepática. Aunque, una limitación de nuestro estudio fue la falta de muestras sobretodo en la semana 4 (52 muestras).

Se han publicado, ensayos clínicos que evalúan la terapia adyuvante (fármacos que disminuyen la RI) al tratamiento estándar de la hepatitis C y sus efectos sobre la respuesta virológica en pacientes mono infectados. Los fármacos más utilizados han sido la metformina^{300,301} y la pioglitazona^{302,303}. Los resultados sobre la respuesta virológica no son concluyentes, aunque se tenga certeza de que añadir estos

fármacos es seguro y mejora la sensibilidad a la insulina. En pacientes coinfectados no se ha publicado ningún ensayo aleatorizado que evalúe estas estrategias y tampoco se conoce el momento idóneo para iniciar tratamiento adyuvante.

La asociación entre el HOMA basal y la RVS también se ha evaluado con los nuevos antivirales directos. Se han llevado a cabo 2 estudios en pacientes con genotipo 1 y que recibieron telaprevir, uno de ellos incluyó 147 pacientes sin tratamiento previo para el VHC del estudio C218³⁰⁴ y el otro incluyó a 578 pacientes pretratados del estudio REALIZE³⁰⁵. En ambos estudios no se encontró una asociación entre el HOMA y la RVS, lo que sugiere que las características basales del huésped (en este caso factores metabólicos y RI) ya no predicen la respuesta viral con los nuevos antivirales directos.

En nuestro estudio al ser retrospectivo y analizar HOMA únicamente al inicio del tratamiento, no pudimos evaluar el cambio de la sensibilidad a la insulina durante el tratamiento con interferón o con la RVS como se ha demostrado en otros estudios en monoinfectados^{197,227,283,306,307}.

El cálculo del HOMA podría ayudarnos a identificar aquellos pacientes con RI en nuestro entorno. Pensamos, los pacientes con RI, se podrían beneficiar de las medidas higiénico-dietéticas o farmacológicas que mejoren la sensibilidad a la insulina, con el objetivo de mejorar la respuesta al tratamiento (sobre todo en los pacientes con factores desfavorables para una RVS).

Por consiguiente, nuestros datos sugieren que la RI es un predictor de mala respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina en pacientes coinfectados. Actualmente y considerando la etapa de transición entre la biterapia y los antivirales nuevos, estos resultados podrían tener una aplicabilidad en tratamientos con biterapia o incluso podría ayudar a predecir la RVR en la fase "lead in" utilizadas con algunos antivirales directos. En estos casos, el cálculo del HOMA podría ayudarnos a

identificar aquellos pacientes con RI y estos pacientes se podrían beneficiar de medidas higiénico-dietéticas o farmacológicas que mejoren la sensibilidad a la insulina, con el objetivo de mejorar la respuesta al tratamiento.

7.10 Otros factores asociados con la respuesta viral sostenida

En el segundo objetivo de nuestro estudio, a parte de la presencia de RI al inicio del tratamiento, se encontró que el genotipo 1 y/o 4 y el nadir de CD4 bajo se asociaba con una peor RVS.

Con respecto a los factores virales, se sabe que la respuesta es peor para los genotipos 1 y 4 que para genotipos 2 y 3 tanto en pacientes mono infectados^{167,168} como en los coinfectados^{154,158}. En nuestro estudio, no se objetivó una asociación entre la carga viral del VHC y la respuesta viral como han demostrado otros estudios^{158,167,308}.

De los factores dependientes del paciente que se han asociado con una peor respuesta, en nuestro estudio no encontramos asociación con la edad, sexo, peso, abuso de alcohol o las características de la enfermedad hepática. Por el año de realización del estudio, tampoco se analizaron otros factores que en los últimos años han demostrado ser predictores de la RVS como son los niveles de LDL y los factores genéticos. Curiosamente, tanto en el análisis univariante como en el multivariante, el nadir de linfocitos T CD4+ se asoció a la respuesta al tratamiento. Esto se podría explicar por la influencia que pudiera tener una disfunción inmune en estos pacientes sobre la respuesta y la función del interferón. Sin embargo, no se demostró la asociación con el número de CD4+ al comienzo del tratamiento o el estadio clínico de la enfermedad.

Por último, en nuestro estudio, no se encontró una asociación entre los factores del tratamiento y la RVS, como se demostrado en algunos estudios^{154,155,158,167,168}.

8 LIMITACIONES Y FORTALEZAS

LIMITACIONES

1. Los sujetos incluidos en esta tesis, no son totalmente representativos de la población coinfectada, ya que la mayoría de los pacientes incluidos han sido seleccionados para la realización de una biopsia hepática o el inicio de tratamiento para la hepatitis C.
2. Por otra parte, hay que señalar algunos aspectos de diseño que pueden limitar los hallazgos de nuestro estudio como por ejemplo su naturaleza retrospectiva lo que ha evitado que pudiéramos analizar por ejemplo la asociación entre lipodistrofia y RI
3. Desde la realización de este trabajo hasta la actualidad han ocurrido grandes avances que han cambiado el enfoque del tratamiento de la infección crónica por el VHC. Estos avances incluyen la identificación de polimorfismos de nucleótido único en el gen de la IL28B asociados con la respuesta al tratamiento, variable que no pudimos analizar en esta tesis.
4. También hay que señalar que actualmente existe un número importante de antivirales de acción directa, comercializados y en fases II y III de investigación, que pueden estar disponibles en un futuro próximo y que pueden significar un aumento de la tasa de curación, con menor tiempo de tratamiento y un menor número de efectos secundarios. La introducción de antivirales directos hace que las características del huésped y los predictores de respuesta pierdan importancia. Esto obviamente resta relevancia a los hallazgos de esta tesis. Sin embargo, no debemos olvidar que en la actualidad el interferón y la ribavirina continúan siendo un tratamiento para la hepatitis C en pacientes coinfectados por VIH/VHC que viven en países con escasos recursos económicos³⁰⁹ y también en aquellos lugares en donde se impongan restricciones al uso de los nuevos antivirales dado sus elevados costes .

FORTALEZAS

1. El estudio se realizó en una unidad especializada en el manejo de pacientes coinfectados con protocolos uniformes de evaluación clínica, recogida de información en bases de datos y procedimientos diagnósticos y terapéuticos.
2. Se incluyeron un número alto de pacientes y todas las biopsias hepáticas fueron realizadas por dos clínicos entrenados e interpretadas por un único patólogo experto.
3. Al ser unicéntrico, resultó fácil la recogida y la manipulación de información de los pacientes y de las muestras biológicas.
4. A diferencia de otros estudios, para demostrar de manera más fiable el efecto de la RI sobre la respuesta viral se utilizó un análisis "on treatment" descartándose del análisis los pacientes que fracasaron el tratamiento por abandono del mismo o en los que hubo que retirarlo por efectos adversos y analizando sólo aquellos que habían completado el tratamiento y los que lo interrumpieron de manera prematura por presencia de fracasos virológico.

9 CONCLUSIONES

1. El 27% de los pacientes coinfectados por VIH/VHC a los que se les realizó una biopsia hepática en nuestro centro para la estadificación de la fibrosis hepática para valorar la necesidad de tratamiento anti-VHC, presentaban resistencia a la insulina definida como un índice HOMA >3.8 .
2. En la población descrita de pacientes coinfectados, los factores asociados de manera independiente con resistencia a la insulina fueron la fibrosis hepática avanzada y el índice de masa corporal alto.
3. Nuestros resultados sugieren que la resistencia a la insulina es un factor basal dependiente del paciente que se asocia con una peor respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina.

10 ANEXOS

10.1 ANEXO 1: CATEGORÍAS Y ESTADIO DE LA INFECCIÓN POR VIH

La infección por el VIH se clasifica según unas categorías clínicas (A, B, C) y la situación inmunológica (1, 2, 3)³¹⁰.

A: pacientes asintomáticos con o sin linfadenopatía generalizada persistente, excepto primoinfección.

B: pacientes que presentan o hayan presentado síntomas debidos a enfermedades relacionadas con la infección VIH no incluidas en el estadio C:

Angiomatosis bacilar

Candidiasis orofaríngea

Candidiasis vulvovaginal: frecuente o que responde mal al tratamiento.

Displasia cervical (moderada o severa)/carcinoma cervical in situ.

Síntomas constitucionales como fiebre (38,5°C) o diarrea durante >1 mes.

Leucoplasia vellosa oral.

Herpes zoster: 2 episodios distintos o con afectación de más de un dermatoma.

Púrpura trombopénica idiopática.

Enfermedad inflamatoria pélvica, sobre todo si se complica con absceso tubo-ovárico.

Neuropatía periférica.

C: Pacientes que presenten o hayan presentado alguna de las enfermedades definitorias de SIDA (Anexo 2).

Clasificación según nadir de linfocitos T CD4+:

1: >500 CD4+

2: 200-499 CD4+

3: <199 CD4+

10.2 ANEXO 2: ENFERMEDADES DEFINITORIAS DE SIDA

- 01 Candidiasis esofágica
- 02 Candidiasis traqueal, bronquial o pulmonar
- 03 Coccidiomicosis diseminada
- 04 Criptococosis extrapulmonar
- 05 Herpes simple mucocutáneo crónico
- 06 Herpes simple bronquial, pulmonar o esofágico
- 07 Criptosporidiasis con diarrea más de un mes
- 08 Histoplasmosis diseminada
- 09 Isosporidiasis con diarrea
- 10 Enfermedad por citomegalovirus
- 11 Retinitis por citomegalovirus
- 12 Neumonía por *Pneumocystis jirovecii*
- 13 Toxoplasmosis cerebral
- 14 Leucoencefalopatía multifocal progresiva
- 15 Complejo *M. avium* ó *M. Kansasii*
- 16 Tuberculosis extrapulmonar o diseminada
- 17 *Mycobacterium* de otras especies, extrapulmonar
- 18 Septicemia por *Salmonella*
- 19 Neumonitis intersticial linfoide
- 20 Múltiples infecciones bacterianas recurrentes
- 21 Sarcoma de Kaposi
- 22 Linfoma primario de cerebro
- 23 Linfoma no-Hodgkin
- 24 Encefalopatía por VIH
- 25 Síndrome caquético por VIH
- 26 Tuberculosis pulmonar
- 27 Neumonía bacteriana recurrente
- 28 Cáncer invasivo de cuello uterino

10.3 ANEXO 3: FÁRMACOS ANTIRRETROVIRALES

Nombre genérico	Nombre comercial	Dosis
Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos y de nucleótido		
<i>Abacavir (ABC)</i>	<i>Ziagen®</i> , <i>Trizivir®</i> y <i>Kivexa®</i>	300 mg c/12h y 600 mg c/24h
<i>Didanosina (ddl)</i>	<i>Videx®</i>	<60 Kg: 250 mg c/24h ó 125 mg c/12h. Si >60 Kg: 400 mg c/24h ó 200 mg c/12h
<i>Estavudina (d4T)</i>	<i>Zerit®</i>	<60 Kg: 30 mg c/12h. Si >60 mg: 40 mg c/12h
<i>Lamivudina (3TC)</i>	<i>Epivir®</i> , <i>Combivir®</i> , <i>Trizivir®</i> y <i>Kivexa®</i>	150 mg c/12h y 300 mg c/24h
<i>Tenofovir (TDF)</i>	<i>Viread®</i> , <i>Truvada®</i> y <i>Atripla®</i>	300 mg c/24h
<i>Zidovudina (AZT)</i>	<i>Retrovir®</i> , <i>Combivir®</i> y <i>Trizivir®</i>	250-300 mg c/12h
<i>Emtricitabina (FTC)</i>	<i>Emtriva®</i> , <i>Truvada®</i> y <i>Atripla®</i>	200 mg c/24h
Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos		
<i>Nevirapina (NVP)</i>	<i>Viramune®</i>	200 mg c/24h x 14 días, seguidas de 200 mg c/12h
<i>Efavirenz (EFV)</i>	<i>Sustiva®</i> * <i>Atripla®</i>	600 mg c/24h
<i>Etravirina (ETR)</i>	<i>Intelence®</i>	200 mg c/12h
Inhibidores de la proteasa		
<i>Nelfinavir</i>	<i>Viracept®</i>	750 mg c/8h ó 1250 mg c/12h
<i>Fosamprenavir</i>	<i>Telzir®</i>	FPV/r 700/100 mg c/12h
<i>Indinavir</i>	<i>Crixivan®</i>	800 mg c/8h o IDV/r 800/100 c/12h
<i>Saquinavir</i>	<i>Invirase®</i>	SQV/r 1000/100 c/12h
<i>Ritonavir</i>	<i>Norvir®</i>	Como potenciador de otros IP : 100 ó 200 mg
<i>Lopinavir/r</i>	<i>Kaletra®</i>	400/100 mg c/12h 800/200 mg /24 h
<i>Atazanavir</i>	<i>Reyataz®</i>	300/100 mg r/24 h ó 400 mg c/24h
<i>Darunavir/r</i>	<i>Prezista®</i>	600/100 mg c/12h ó 800/100 c/24h
<i>Tipranavir/r</i>	<i>Aptivus®</i>	TPV/r 500/200 mg c/12h
Antagonistas del correceptor CCR5		
<i>Maraviroc</i>	<i>Celsentri®</i>	150, 300 ó 600 mg c/12h
Inhibidores integrasa		
<i>Raltegravir</i>	<i>Isentress®</i>	400 mg c/12h
Inhibidores de la fusión		
<i>Enfuvirtida (T-20)</i>	<i>Fuzeon®</i>	90 mg c/12h s.c.

10.4 ANEXO 4: SEGURIDAD

De los 162 pacientes incluidos en el análisis por ITT en el segundo objetivo, 70 (43%) presentaron algún tipo de efecto adverso atribuible al interferón y/o a la ribavirina. En total, se registraron 93 efectos adversos que se muestran en la siguiente tabla.

Efecto adverso	número (%)
Depresión	29 (18%)
Anemia	12 (7%)
Pérdida de peso	10 (6%)
Trombocitopenia	9 (6%)
Neutropenia	6 (4%)
Otros	27 (17%)

Tabla 10: Efectos adversos registrados en la población ITT (162 pacientes). Con respecto al grupo de “otros”, se incluyen pacientes que presentaron: cuadro pseudo-gripal, alteraciones tiroideas, intolerancias sin especificar, aftas orales, pirosis, esofagitis etc.

No encontramos ninguna asociación significativa entre la aparición de un determinado efecto adverso y el tipo o dosis de interferón o ribavirina. En total, 19 pacientes (12%) abandonaron el tratamiento por efectos adversos. Los efectos adversos que causaron más abandonos fueron la anemia (6 casos), la depresión (6 casos), y la neutropenia (3 casos).

10.5 ANEXO 5: ARTÍCULOS

REVISTAS INTERNACIONALES

1: Ryan P, Resino S, Miralles P, Cosín J, López JC, Moreno S, Catalán P, Ramírez M, Gutiérrez I, Berenguer J. Insulin resistance impairs response to interferón plus ribavirin in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010 Oct;55(2):176-81. doi: 10.1097/QAI.0b013e3181e5b1f0. PubMed PMID: 20577091.

2: Ryan P, Berenguer J, Michelaud D, Miralles P, Bellón JM, Alvarez E, Catalán P, Sánchez-Conde M, Resino S. Insulin resistance is associated with advanced liver fibrosis and high body mass index in HIV/HCV-coinfecting patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009 Jan 1;50(1):109-10. doi: 10.1097/QAI.0b013e318186ede PubMed PMID: 19092449.

LETTERS TO THE EDITOR

Insulin Resistance Is Associated With Advanced Liver Fibrosis and High Body Mass Index in HIV/HCV-Coinfected Patients

To the Editor:

In hepatitis C virus (HCV)-monoinfected patients, insulin resistance (IR) has been identified as a factor that promotes steatosis and fibrosis progression¹ and as an independent predictor of the response to peginterferon plus ribavirin.² Unlike the results in HCV-monoinfected patients, the association of IR with the severity of liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients has not been clearly elucidated.

The aims of this study were to determine the prevalence of IR, identify associated factors, and evaluate the relationship between IR and liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients.

METHODS

Subjects were selected from the HIV outpatient clinic of our institution. They all had documented HIV/HCV coinfection and underwent liver biopsy before therapy with interferon and ribavirin between May 2000 and 2007. The eligibility criteria for anti-HCV therapy in our institution included absence of previous hepatic decompensation, CD4⁺ lymphocyte count higher than 200 cells per microliter, stable antiretroviral therapy or no need for antiretroviral therapy, and absence of active opportunistic infections and active drug or alcohol

Supported by Grants from Fondo de Investigación Sanitaria from the Spanish Health Ministry (Ref. PI05/2411, Ref. PI07/90201, Ref. ISCIII-RETIC RD06/006), Fundación para la Investigación y la Prevención del SIDA en España (Ref. 36650/07, Ref. 36443/03), and the "Post-MIR" grant from the Gregorio Marañón Biomedical Research Foundation.

Presented at the 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, April 23–27, 2008, Milan, Italy. Abstract 753.

addiction. We excluded patients with diabetes mellitus.

On the day of the liver biopsy, the following information was obtained from the medical record: age, sex, risk category, weight, height, Centers for Disease Control and Prevention clinical category, prior antiretroviral therapy, plasma HIV RNA level and CD4⁺ T-cell count at the time of the biopsy, and nadir CD4⁺ T-cell count. After an overnight fast and before liver biopsy was performed, a blood sample was taken for complete blood counts, liver panel, basic metabolic panel, and coagulation tests. A serum sample was immediately stored and frozen at -70°C for further assays.

HIV infection was documented in all patients by enzyme-linked immunosorbent assay and a Western blot assay. All patients tested positive for specific HCV antibodies and had detectable serum HCV RNA assessed by polymerase chain reaction. The HCV viral load was measured by polymerase chain reaction (Cobas Amplicor HCV Monitor Test; Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ).

For each patient, the degree of IR was estimated using the homeostatic model assessment (HOMA) method described by Matthews.³ As in other studies, IR was considered altered when the HOMA score was 3.8 or higher. In our study, glucose and insulin were measured from an overnight fasting blood sample taken before liver biopsy. Insulin was measured using the Multiplex kit (LINCOPlex; LINCO Research, Saint Charles, MO). Liver biopsy was performed on an outpatient basis following the recommendations of the Patient Care Committee of the American Gastroenterological Association.⁴ Grading and staging of the liver biopsy followed the criteria established by the METAVIR Cooperative Study Group.⁵ Data were analyzed using the SPSS software version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) 15.0 software.

RESULTS

The study cohort included 201 patients whose characteristics at the time of liver biopsy are shown in Table 1. The distribution of liver fibrosis in our cohort according to the METAVIR fibrosis stage

score was 0 (8%) (no fibrosis), 1 (34%) (portal fibrosis), 2 (26%) (periportal fibrosis), 3 (20%) (bridging fibrosis), and 4 (11%) (cirrhosis). Liver steatosis was observed in liver biopsies from 108 (54%) patients. The median HOMA value was 2.47, and 54 (26.8%) patients were classified as having IR. When clinical and laboratory parameters for patients with and without IR were compared, no differences were found with respect to sex, age, HIV transmission category, Centers for Disease Control and Prevention clinical category, or HIV and HCV virological parameters. However, patients with IR had a higher body mass index (BMI), lower nadir CD4⁺ T-cell counts, and higher liver fibrosis scores than those without IR (Table 1). In a multivariate logistic regression analysis adjusted for age, alcohol abuse, nadir CD4 cell count, HCV viral load, HCV genotype, antiretroviral drugs, and liver steatosis, the variables independently associated with IR were advanced liver fibrosis (odds ratio, 4.0; 95% confidence interval, 1.2 to 12.4; $P = 0.01$) and BMI (odds ratio, 1.4; 95% confidence interval, 1.1 to 1.8; $P = 0.006$).

DISCUSSION

In this cross-sectional study carried out in 201 HIV/HCV-coinfected patients, the prevalence of IR measured by HOMA was 27%. The factors independently associated with IR were higher BMI and advanced liver fibrosis.

In HCV-monoinfected patients, IR has been identified as a factor associated with fibrosis progression. Interestingly, it has been found that hyperinsulinemia and hyperglycemia can activate hepatic stellate cells, which are the main extracellular matrix-producing cells in liver fibrogenesis.⁶ Little is known about the prevalence and associated factors of IR in HIV/HCV-coinfected patients. In a study, with 79 subjects, that used the same HOMA-IR cutoff value as ours, the authors found a 29.1% prevalence of IR.⁷ Unlike our study, no association was found between IR and liver fibrosis assessed by biopsy.

The association between BMI and IR is not a new finding. Inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor alpha, leptin, and free fatty acids

Insulin Resistance Impairs Response to Interferon Plus Ribavirin in Patients Coinfected With HIV and Hepatitis C Virus

Pablo Ryan, MD,*† Salvador Resino, PhD,‡ Pilar Miralles, MD,* Jaime Cosín, MD,*
Juan Carlos López, MD, PhD,* Silvia Moreno, BS,‡ Pilar Catalán, MS,*
Margarita Ramírez, RN,* Isabel Gutiérrez, RN,* and Juan Berenguer, MD, PhD*

Background/Aims: Controversy exists about whether insulin resistance (IR) affects response to treatment of hepatitis C. We evaluated the effect of IR on sustained virologic response (SVR) in HIV/hepatitis C virus (HCV)-coinfected patients treated with interferon plus ribavirin.

Methods: We reviewed the clinical records of HIV/HCV-coinfected patients who received interferon plus ribavirin at our institution between July 2000 and March 2007. IR was defined as a homeostasis model assessment ≥ 3.8 . SVR was defined as an undetectable HCV RNA at 24 weeks after the end of treatment. Efficacy was evaluated using an on-treatment (OT) analysis. Multivariate logistic regression analysis was used to evaluate factors associated with SVR.

Results: During the study period, 218 patients were treated with interferon plus ribavirin; IR at baseline was available for 162 patients, and 134 were included in the OT analysis; HCV genotype (G) 1/4, 67%; F3-F4 fibrosis, 36%; IR 31%. SVR was achieved in 67 patients (50%) (79% in G 2/3 vs. 38% in G 1/4). IR was associated with a lower SVR [odds ratio (OR), 0.33; 95% confidence interval (CI): 0.15–0.72; $P = 0.006$]. The independent variables related to SVR were genotype 2/3 (OR, 6.7; 95% CI: 2.71–16.98; $P < 0.001$), absence of IR at baseline (OR, 3.3; 95% CI: 1.36–8.26; $P = 0.008$), and nadir CD4⁺ T-cell count (OR, 1.002; 95% CI: 1.00–1.00; $P = 0.047$).

Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV-coinfected patients treated with interferon plus ribavirin. Strategies to modify IR should be explored to enhance SVR during anti-HCV therapy.

Key Words: insulin resistance, sustained virologic response, HIV, HCV, HIV/HCV coinfection, insulin resistance, interferon plus ribavirin

(*J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;55:176–181)

INTRODUCTION

Treatment of hepatitis C virus (HCV) infection is aimed at achieving a sustained virologic response (SVR), defined as undetectable HCV RNA using a sensitive polymerase chain reaction (PCR) assay 24 weeks after the end of treatment. Available evidence suggests that SVR is associated with reductions in long-term HCV-related morbidity and mortality in both HCV-monoinfected^{1,2} and HIV/HCV-coinfected patients.³

SVR rates with the current standard of therapy—pegylated interferon plus ribavirin—remain unsatisfactory: approximately 55% in HCV-monoinfected patients^{4–8} and 33% in HIV/HCV-coinfected patients.⁹

The most important baseline predictors of SVR in both monoinfected and coinfecting patients are virus-related factors, namely, HCV genotype and HCV RNA.^{10,11} Response to treatment can also be affected by demographic factors (age, gender, weight, and race), histologic parameters (stage of fibrosis and steatosis), and treatment-related factors (dosing of ribavirin).^{4,5,11–13}

Once treatment has been initiated, adherence and the fall in HCV RNA are important predictors of SVR. In particular, a rapid virologic response (RVR), defined as undetectable HCV RNA at week 4 of therapy, has been recognized as one of the most powerful predictors of SVR in both monoinfected^{14–16} and coinfecting patients.^{17–19}

In recent studies, the presence of insulin resistance (IR) has been associated with a reduced SVR in HCV-monoinfected patients treated with interferon plus ribavirin.^{20,21} The aim of the present study was to evaluate the association between IR and SVR in HIV/HCV-coinfected patients receiving the combination.

PATIENTS AND METHODS

Study Population

The study population comprised patients from the HIV outpatient clinic of the “Gregorio Marañón” Hospital in Madrid, Spain. We carried out a retrospective review of the clinical records of HIV/HCV-coinfected patients who received

Received for publication September 17, 2009; accepted December 18, 2009. From the *Department of Microbiology, Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain; †Biomedical Research Foundation, Hospital Gregorio Marañón, Madrid, Spain; and ‡Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain.

Supported by grants from Fondo de Investigación Sanitaria Instituto de Salud Carlos III (FIS-ISC III) (Ref. PI052411; Ref. PI07/90201, Ref. UIPY 1467/07; Ref. PI080928; Ref. ISCIII-RETIC RD06/006) and Fundación para la Investigación y la Prevención del SIDA en España (FIPSE) (Ref. 36443/03; Ref. 36650/07; Ref. 36702/07), and the “Post-MIR” grant from the Gregorio Marañón Biomedical Research Foundation.

Correspondence to: Juan Berenguer, MD, PhD, Unidad de Enfermedades Infecciosas/VIH (4100), Hospital Gregorio Marañón, Doctor Esquerdo, 46, 28007 Madrid, Spain (e-mail: juaberber@terra.es).

Copyright © 2010 by Lippincott Williams & Wilkins

10.6 ANEXO 6: COMUNICACIONES

CONGRESOS INTERNACIONALES

Abstract Q-162: Insulin Resistance Impairs Sustained Virologic Response to Interferon plus Ribavirin in HIV/HCV Co-infected Patients. Pablo Ryan, Salvador Resino, Pilar Miralles, Jaime Cosín, Juan Carlos López, Silvia Moreno, Pilar Catalán, Margarita Ramírez, Isabel Gutiérrez, Juan Berenguer 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI). Montreal 2009

Insulin Resistance Is Independently Associated With Advanced Liver Fibrosis And High Body Mass Index In HIV/HCV-Coinfected Patients. P Ryan, J Berenguer, P Miralles, M Sánchez-Conde, P Catalán, E Alvarez, S Resino, D Michelaud, M^a Muñoz, JM Bellón. 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Milan, Italy 2008

CONGRESOS NACIONALES

La resistencia a la insulina disminuye la respuesta virológica sostenida en pacientes coinfectados por el VIH y VHC que reciben tratamiento con interferón y ribavirina. Pablo Ryan, Salvador Resino, Pilar Miralles, Jaime Cosín, Juan Carlos López, Silvia Moreno, Pilar Catalán, Margarita Ramírez, Isabel Gutiérrez, Juan Berenguer. I Congreso Nacional Gesida. Madrid. Octubre 2009

Resistencia a la Insulina en Pacientes Coinfectados por VIH y VHC: Prevalencia y Factores Asociados. Pablo Ryan, Juan Berenguer, Dariela Michelaud, Pilar Miralles, JM Bellón, Emilio Alvarez, Pilar Catalán, Matilde Sánchez-Conde y Salvador Resino . XIII Congreso SEIMC, Madrid 11-14 Mayo 2009

Insulin Resistance is Associated With Advanced Liver Fibrosis and High Body Mass Index in HIV-HCV Coinfected Patients

Pablo Ryan,^{1,2} Juan Berenguer,¹ Dariela Michelaud,³ Pilar Miralles,¹ JM Bellón,² Emilio Alvarez,⁴ Pilar Catalán,⁵ Matilde Sánchez-Conde,^{1,2} and Salvador Resino⁶

¹Infectious Diseases Department, ²Biomedical Research Foundation, ³Molecular Immunobiology Laboratory, ⁴Pathology Department, ⁵Microbiology Department, Hosp Gregorio Marañón, Madrid, Spain, ⁶Research Unit, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Spain

Abstract

Background and aims: Little is known about HCV infection and insulin resistance (IR) in patients coinfecting with HIV/HCV. We analyzed the prevalence and factors associated with IR in HIV/HCV coinfecting patients. **Methods:** Between May 2000 and May 2007, 201 HIV/HCV coinfecting patients underwent liver biopsy prior to HCV treatment and had a serum sample taken. Epidemiologic, clinical, biological and therapeutic data were recorded. IR was determined by the homeostasis model assessment (HOMA-IR) method. Patients were considered to have IR when HOMA-IR = 3.8. **Results:** Median age was 39 years, 76% were male, the mean body mass index (BMI) was 22.8 kg/m², 90% were prior drug users, 14% consumed > 50 g of alcohol per day, 31% had had prior AIDS-defining conditions, 95% were on highly active antiretroviral therapy, the median CD4+ count was 490 cells/mm³ and 78% had an HIV viral load < 50 copies/mL and 61% were infected by HCV genotype 1. The distribution of liver fibrosis in our cohort (METAVIR) was F0: 8%, F1: 34%, F2: 26%, F3: 20%, F4: 11%. IR was present in 54 patients (27%). Factors associated with IR by univariate analysis were BMI, advanced liver fibrosis (F3-F4), use of saquinavir and use of nevirapine. By multivariate logistic regression analysis, factors independently associated with IR were advanced liver fibrosis (OR, 4; 95%CI, 1.2-12.4; p=0.01) and BMI (OR, 1.4; 95%CI, 1.1-1.8; p=0.006). **Conclusions:** The prevalence of IR in our cohort of HIV/HCV coinfecting patients was 27%. Factors independently associated with IR were BMI and advanced fibrosis.

Background

In HCV monoinfected patients, insulin resistance (IR) has been identified as a factor that promotes steatosis and fibrosis progression, and as an independent predictor of the response to peginterferon plus ribavirin.

The association of IR with the severity of liver fibrosis in HIV-HCV coinfecting patients has not been clearly elucidated.

Objectives

The aims of this study of HIV-HCV coinfecting patients were to:

- Determine the prevalence of IR.
- Identify associated factors with IR.
- Evaluate the relationship between IR and liver fibrosis.

Methods

Subjects were selected from the HIV outpatient clinic of our institution. They all had documented HIV-HCV coinfection and underwent liver biopsy prior to therapy with interferon and ribavirin between May 2000 and May 2007. The eligibility criteria for anti-HCV therapy in our institution included absence of previous hepatic decompensation, CD4+ lymphocyte count higher than 200 cells/uL, stable antiretroviral therapy or no need for antiretroviral therapy, and absence of active opportunistic infections and active drug or alcohol addiction. We excluded patients with diabetes mellitus.

For each patient, the degree of IR was estimated using the homeostatic model assessment (HOMA), using the formula below. Glucose and insulin were measured from an overnight fasting blood sample taken before liver biopsy. Insulin was measured using the Multiplex kit (LINCoplex™, LINCO Research, St. Charles, Missouri, United States).

Liver biopsy was performed following the recommendations of the Patient Care Committee of the American Gastroenterological Association.

Biopsies were evaluated by a single pathologist who was unaware of the patient's clinical and laboratory data. Grading and staging of the liver biopsy followed the criteria established by the METAVIR Cooperative Study Group.

$$\text{HOMA-IR} = \text{fasting glucose (mmol/L)} \times \text{fasting insulin (mIU/L)} / 22.5$$

Insulin resistance was defined as a HOMA-IR \geq 3.8.

Results

The study included 201 patients whose characteristics at the time of liver biopsy are shown in the next table.

Characteristics	Patients (n=201)
Male	152 (76%)
Age (y)	39 (27-43)
BMI (kg/m ²)	22 (21-24)
Age: HCV infection (y)	18 (16-21)
rVDU	180 (90%)
Alcohol	28 (14%)
CDC category C	52 (21%)
Nadir CD4 cells (cells/uL)	210 (101-324)
CD4 cell count (cells/uL)	490 (370-663)
HIV VL >50 copies/mL	196 (78%)
HCV VL >500000 copies/mL	125 (62%)
Years of HCV infection (y)	21 (18-24)
Steatosis	108 (54%)

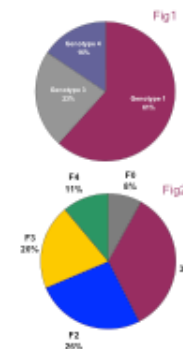


Table 1. Characteristics of the Study Population. Fig1. Distribution of the HCV genotype. Fig2. Distribution of liver fibrosis according to the METAVIR score.

The median HOMA-IR value was 2.47 and 54 (26.8%) patients were classified as having insulin resistance.

When clinical and laboratory parameters for patients with and without IR were compared, no differences were found with respect to gender, age, HIV transmission category, CDC clinical category, or HIV and HCV virological parameters.

Characteristics	Without IR (n=147)	With IR (n=54)	P Value
BMI (kg/m ²)	22 (21-24)	22 (21-26)	.087
Nadir CD4 cells	200 (108-309)	158 (86-283)	.045
Fibrosis (F3-F4)	37 (25)	27 (50)	.005

Table 2. Patients with insulin resistance had a higher BMI, lower nadir CD4+ T cell counts, and higher liver fibrosis scores than those without.

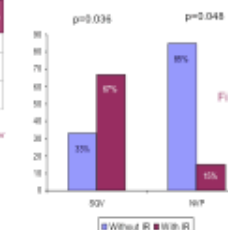


Fig1. HOMA-IR Values in Relation to Stages of Liver Fibrosis (METAVIR).

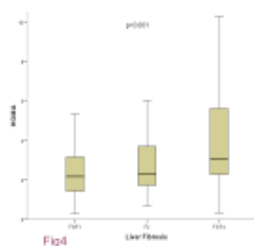


Fig2. Significant differences were found between patients with insulin resistance for exposure to saquinavir and nevirapine.

In a multivariate logistic regression analysis adjusted for age, alcohol abuse, nadir CD4 cell count, HCV viral load, HCV genotype, antiretroviral drugs, and liver steatosis, the variables independently associated with insulin resistance were advanced liver fibrosis (OR, 4.0; 95%CI, 1.2-12.4; p = .01) and BMI (OR, 1.4; 95%CI, 1.1-1.8; P=.006).

Conclusions

In conclusion, we found that approximately one quarter of HIV-HCV coinfecting patients who underwent a liver biopsy to assess their suitability for anti-HCV therapy had insulin resistance. We also found that insulin resistance was associated with advanced liver fibrosis and a high BMI.

La resistencia a la insulina disminuye la respuesta virológica sostenida en pacientes coinfectados por el VIH y VHC que reciben tratamiento con interferón y ribavirina.

PO-39

Palbo Ryan, Salvador Resino, Pilar Miralles, Jaime Cosin, Juan Carlos López, Silvia Moreno, Pilar Catalán, Margarita Ramírez, Isabel Gutiérrez, Juan Berenguer
Servicio de Microbiología del Hospital Gregorio Marañón e Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda (Madrid).

Resumen

Introducción: La presencia de resistencia a la insulina (RI) en pacientes mono infectados por el VHC que reciben tratamiento con interferón y ribavirina (IFN+RBV) se ha asociado a una menor respuesta virológica sostenida (RVS).

Métodos: Se revisaron los pacientes coinfectados por VIH/VHC de nuestro centro que habían recibido tratamiento con IFN+RBV entre Julio del 2000 y Marzo del 2007. La RI se calculó mediante el modelo HOMA. Se consideró que existía RI cuando el índice HOMA era ≥ 3.8 . Llevamos a cabo un análisis "on treatment" (OT) en el que no incluimos a los pacientes perdidos y los que abandonaron el tratamiento por efectos adversos o cualquier otro motivo.

Resultados: El análisis OT incluyó a 134 pacientes; En el análisis de OT, 67 (50%) pacientes obtuvieron una RVS (79% en genotipo 2/3 vs. 38% con genotipo 1/4; OR, 6; IC 95%, 2.5-14.3; P<.001). La presencia de RI al inicio del tratamiento se asoció a una menor RVS (OR, 0.33; IC 95%, 0.1-0.7; P=.006) y a una menor respuesta virológica durante el tratamiento. En el estudio multivariante, las variables que de forma significativa se asociaron a RVS fueron: el genotipo 2/3 (OR, 6.7; 95% CI, 2.7-16.9; P<.001), la RI (OR, 0.3; 95% CI, 0.1-0.7; P=.008) y el nadir de CD4 (OR, 1.002; 95% CI, 1.000-1.006; P=.047).

Conclusiones: Los datos de este estudio, sugieren que la presencia de RI se asocia con una peor respuesta al tratamiento con IFN+RBV en coinfectados VIH/VHC

Introducción

Antes de iniciar el tratamiento del virus de la hepatitis C (VHC), los factores predictores de respuesta virológica sostenida (RVS) más importantes son aquellos relacionados con el propio VHC (ARN y genotipo). Esto es así, tanto en los pacientes mono infectados por VHC como en los coinfectados por VIH/VHC. Otros factores que predicen la respuesta al tratamiento son: factores demográficos (edad, sexo, peso, raza), parámetros histológicos (estado de fibrosis, esteatosis hepática) y factores relacionados con el tratamiento (dosis de ribavirina) entre otros [1].

Una vez iniciado el tratamiento, la adherencia y el descenso del ARN viral predicen la RVS. La respuesta virológica rápida (presentar un ARN VHC negativo a la cuarta semana de haber comenzado el tratamiento) ha demostrado ser el predictor más importante en estas dos poblaciones (mono infectados y coinfectados) [2].

Recientemente, se ha observado que la presencia de resistencia a la insulina (RI) antes de comenzar el tratamiento con interferón y ribavirina (IFN+RBV) se asocia con una RVS reducida en pacientes mono infectados [3, 4].

La presencia de RI es frecuente en los pacientes coinfectados. En nuestra unidad, casi un cuarto de los pacientes que se realizaron una biopsia hepática presentaban RI. Además, ésta se asociaba con fibrosis hepática avanzada y el índice de masa corporal elevado [5].

Objetivos

El objetivo de este estudio fue evaluar si la presencia de RI antes de iniciar tratamiento con IFN+RBV tenía algún efecto sobre la respuesta virológica en los pacientes coinfectados por VIH/VHC.

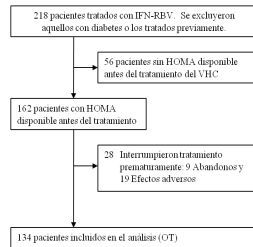
Métodos

Se revisaron las historias clínicas de pacientes coinfectados por VIH/VHC de nuestro centro que habían recibido tratamiento con IFN+RBV entre Julio del 2000 y Marzo del 2007.

La RI se calculó mediante el modelo HOMA. Se consideró que existía RI cuando el índice HOMA era ≥ 3.8 . La muestra para la determinación de glucosa e insulina se obtuvieron de forma simultánea. La insulina se midió utilizando el kit de Multiplex. Los pacientes recibieron tratamiento con IFN+RBV durante 48 semanas. La RVS se definió como la existencia de un ARN VHC indetectable a la semana 24 de haber completado el tratamiento.

Llevamos a cabo un análisis "on treatment" (OT) en el que no incluimos a los pacientes perdidos y los que abandonaron el tratamiento por efectos adversos o cualquier otro motivo. Para evaluar los factores asociados a la RVS en esta población, se utilizó un análisis multivariante basado en un modelo de regresión logística.

Figura 1. "Flow chart" de los pacientes incluidos en el análisis



Resultados

Las características demográficas y clínicas de los pacientes antes del tratamiento, se muestran en la siguiente tabla:

	Todos (n=134)	con RVS (n=67)	sin RVS (n=67)	P
Masculino	103 (77%)	52 (78%)	51 (76%)	.83
Edad (años)	40 (37-43)	42 (40-44)	43 (42-47)	.57
Índice de Masa Corporal	23 (21-24)	22 (20-23)	21 (20-24)	.75
HOMA*	2.5 (1.6-4.7)	2.1 (1.4-3.8)	3.4 (1.8-6.9)	.005
Resistencia a la insulina†	41 (31%)	13 (19%)	28 (42%)	.005
Aditivos a Drogas por vía parenteral	118 (88%)	59 (88%)	59 (88%)	.80
Consumidores de alcohol	14 (10%)	6 (9%)	8 (12%)	.55
CD4+ células/mm ³	460 (309-681)	454 (265-537)	440 (336-650)	.23
Categoría C de la CDC	33 (25%)	16 (24%)	17 (25%)	.80
Nadir de CD4+ células/mm ³	211 (112-357)	228 (137-391)	88 (40-199)	.005
ARN de VIH copias/mL	1.7 (1.7-2.1)	1.7 (1.7-2.3)	1.7 (1.7-2.4)	.51
ARN de VIH <50 copias/mL	96 (72%)	50 (75%)	46 (69%)	.36
En tratamiento antiretroviral	113 (84%)	56 (84%)	57 (85%)	.81
ARN VHC IU/mL*	5.7 (5.6-5.9)	5.7 (5.6-5.9)	5.8 (5.6-6)	.94
ARN VHC >500.000 IU/mL	94 (70%)	46 (69%)	48 (72%)	.69
VHC genotipo 1/4*	85 (67%)	32 (49%)	53 (80%)	.000
VHC genotipo 2/3*	42 (33%)	35 (51%)	9 (14%)	.000
Fibrosis Avanzada o cirrosis†	42/116 (36%)	20/59 (34%)	22/57 (38%)	.59
Esteatosis Hepática†	20/116 (17%)	11/59 (19%)	9/57 (16%)	.76
Alamina aminotransferasa, IU/L	85 (63-134)	73 (48-111)	84 (45-130)	.66

Tabla 1. Características basales de los Pacientes a. NOTAS: a) Las variables categóricas se expresan en números absolutos (%) y las variables continuas como mediana (RQ). b) El índice HOMA (The homeostatic model assessment) se calculó mediante la siguiente fórmula: glucosa plasmática en ayunas (mmol/L) multiplicado por la insulina plasmática en ayunas (mIU/L) dividido entre 22.5. c) Un índice HOMA mayor o igual a 3.8 se definió como resistencia a la insulina. d) Se midió en logaritmo de base 10. e) Seis pacientes no disponían de genotipo del VHC. f) Para el Segundo objetivo se realizó biopsia hepática a 116 pacientes.

De todos los tratados, 25 (19%) pacientes recibieron interferón estándar y 109 (81%) pacientes recibieron interferón pegilado (alfa-2a o alfa-2b). La dosis media de ribavirina fue de 14.9 mg/kg/día.

La prevalencia de la RI (calculado por HOMA) en este grupo de pacientes fue de 31%

Los valores de HOMA fueron significativamente mayores en los pacientes sin respuesta virológica sostenida (RVS) (mediana [RQ], 3.4 [1.8-5.5]) que en aquellos pacientes con RVS (2.1 [1.4-3.6]), P=.005. Además se encontró una tendencia hacia una menor RVS a medida que disminuían los valores de HOMA antes del tratamiento (Figura 2).

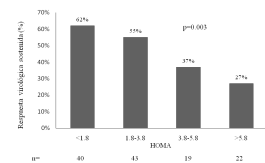


Figura 2. Respuesta virológica sostenida (RVS) según el HOMA (134 pacientes)* por asociación lineal.

La RVS al tratamiento con IFN+RBV según genotipo de VHC y la presencia o ausencia de resistencia a la insulina (RI), se muestran en la siguiente tabla (Tabla 2). Resultados de los 134 pacientes incluidos en el análisis "on-treatment"

	Todos los genotipos	Genotipos 1-4	Genotipos 2-3
Todos los pacientes	67/134 (50.0%)	32/85 (37.6%)	33/42 (78.6%)
Pacientes sin RI	54/63 (85.7%) ^a	25/59 (42.4%) ^b	29/31 (93.5%) ^c
Pacientes con RI	13/41 (31.7%) ^a	7/27 (25.9%) ^b	5/11 (45.5%) ^c

a P<.005, b P<.009, c P<.005 (Test de Fisher).

En la siguiente figura, se muestra la asociación de la respuesta virológica en los diferentes meses (4, 12, 24, 48 y 72) dependiendo de la presencia o ausencia de RI, después de ajustar por diferentes variables.

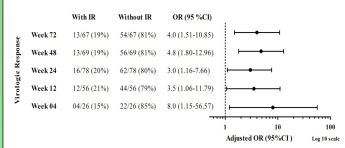


Figura 3. Asociación entre la RI basal y la respuesta virológica según los meses de tratamiento. Los Odds ratios (OR) se ajustaron a genotipo, carga viral de VHC, presencia de fibrosis hepática avanzada y tratamiento con interferón pegilado

Después de realizar un análisis de regresión logística, se encontraron tres factores que independientemente y significativamente se asociaban con la RVS en esta población, Tabla 3:

Variable	OR (IC del 95%)	p
El genotipo 2/3	6.7 (2.71-16.98)	<.001
Ausencia de RI	3.3 (1.36-8.26)	.008
nadir de células CD4	1.002 (1.00-1.00)	.047

En un segundo modelo se realizó el análisis ajustado por: edad, sexo, IMC, carga viral de VHC, tratamiento con interferón pegilado, utilización de inhibidores de la proteasa, presencia de esteatosis hepática y la presencia e fibrosis hepática avanzada. Después de ajustar por todos estos factores (relacionados tanto con la RI como con la RVS) se seleccionaron las mismas variables que en el primer modelo.

Conclusiones

•Nuestro estudio sugiere que la RI es un predictor importante de RVS en pacientes coinfectados VIH/VHC que reciben tratamiento con IFN + RBV.

•Converdría incluir el índice HOMA dentro de la evaluación inicial de un paciente coinfectado que sea candidato a recibir tratamiento con IFN y RBV

•Estrategias para modificar la RI antes y durante el tratamiento podrían mejorar la RVS

Bibliografía

1. Kau A, Vermehren J. J Hepatol 2008 Oct;49(4):634-51.
2. Crespo M, Esteban JI. AIDS 2007 Feb 19;21(4):477-81.
3. Romero-Gomez M, Del Mar Vitoria M. Gastroenterology 2005 Mar; 128(3):636-41.
4. Poustchi H, Negro F. J Hepatol 2008 Jan;48(1):23-34.
5. Ryan P, Berenguer J. J Acquir Immune Defic Syndr 2009 Jan 1;50(1):109-10.



Abstract Q-162

Insulin Resistance Impairs Sustained Virologic Response to Interferon plus Ribavirin in HIV/HCV Co-infected Patients

Hospital General Universitario Gregorio Marañón

CRUI 2009 MONTREAL

Cooperating Institutions:
 Dr. Espinosa R. PhD
 Dr. Esteban J. PhD
 Enríquez J. PhD
 Enríquez J. PhD
 Enríquez J. PhD

Objective: Insulin resistance (IR) in response to therapy (R) with interferon plus ribavirin (IFN + RBV) has not been fully evaluated in HIV/HCV patients. We aimed to evaluate the effect of IR on sustained virologic response (SVR) in HIV/HCV patients treated with IFN + RBV.

Methods: We reviewed the clinical records of HIV/HCV patients who received IFN + RBV at our institution between July 2000 and March 2007. IR was measured using the homeostatic model assessment (HOMA-IR) using the Multiplex kit (LINCO Research, W. Chicago, IL, USA). The degree of IR was defined as follows: IR was defined as a HOMA-IR > 2.5.

Results: 218 patients were treated with IFN + RBV. IR was defined as a HOMA-IR > 2.5. The mean dose of IFN was 4.8 mg/kg/week. The mean dose of RBV was 14.9 mg/kg/day. The mean dose of IFN was 4.8 mg/kg/week. The mean dose of RBV was 14.9 mg/kg/day. The mean dose of IFN was 4.8 mg/kg/week. The mean dose of RBV was 14.9 mg/kg/day.

Objective: The present study was to evaluate the association between IR and SVR in HIV/HCV co-infected patients who received IFN-RBV for the treatment of HCV infection.

Methods: We reviewed the clinical records of 218 HIV/HCV co-infected patients who received IFN-RBV at our institution between July 2000 and March 2007. IR was measured using the homeostatic model assessment (HOMA-IR) using the Multiplex kit (LINCO Research, W. Chicago, IL, USA). The degree of IR was defined as follows: IR was defined as a HOMA-IR > 2.5.

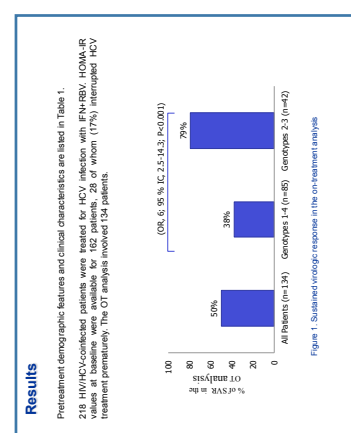
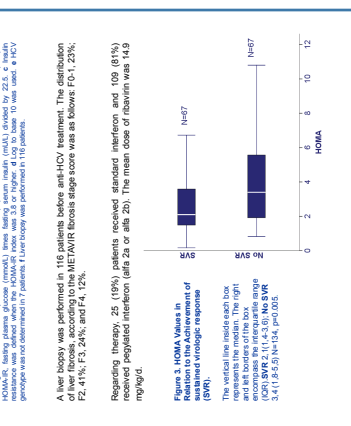
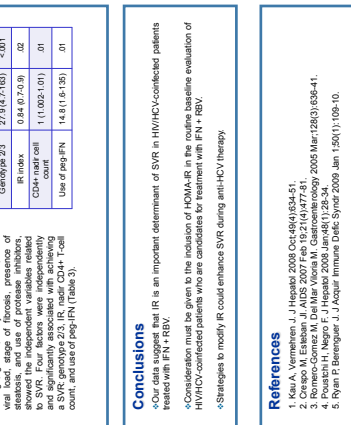
Results: 218 patients were treated with IFN + RBV. IR was defined as a HOMA-IR > 2.5. The mean dose of IFN was 4.8 mg/kg/week. The mean dose of RBV was 14.9 mg/kg/day. The mean dose of IFN was 4.8 mg/kg/week. The mean dose of RBV was 14.9 mg/kg/day. The mean dose of IFN was 4.8 mg/kg/week. The mean dose of RBV was 14.9 mg/kg/day.

Introduction: The most frequent hepatitis predictor of sustained virologic response (SVR) in HIV/HCV co-infected patients are virus-related factors, namely HCV genotype and HCV RNA. Other predictors are host-related factors, including age, sex, body mass index (BMI), and treatment-related factors (dosage of interferon [IFN] and treatment-related factors (dosage of interferon [IFN]).

Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV co-infected patients treated with IFN + RBV. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy.

Introduction: The most frequent hepatitis predictor of sustained virologic response (SVR) in HIV/HCV co-infected patients are virus-related factors, namely HCV genotype and HCV RNA. Other predictors are host-related factors, including age, sex, body mass index (BMI), and treatment-related factors (dosage of interferon [IFN] and treatment-related factors (dosage of interferon [IFN]).

Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV co-infected patients treated with IFN + RBV. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy.



Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV co-infected patients treated with IFN + RBV. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy.

Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV co-infected patients treated with IFN + RBV. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy.

Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV co-infected patients treated with IFN + RBV. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy.

Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV co-infected patients treated with IFN + RBV. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy.

Conclusions: Our data suggest that IR is an important determinant of SVR in HIV/HCV co-infected patients treated with IFN + RBV. Strategies to modify IR could enhance SVR during anti-HCV therapy.

11 BIBLIOGRAFÍA

1. Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *The New England journal of medicine* 1998;338:853-60.
2. Sulkowski MS, Mast EE, Seeff LB, Thomas DL. Hepatitis C virus infection as an opportunistic disease in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2000;30 Suppl 1:S77-84.
3. Roca B, Suarez I, Gonzalez J, et al. Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfection in Spain. *J Infect* 2003;47:117-24.
4. Wasley A, Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 2000;20:1-16.
5. Alter MJ. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol* 2006;44:S6-9.
6. Rockstroh JK, Spengler U. HIV and hepatitis C virus co-infection. *Lancet Infect Dis* 2004;4:437-44.
7. Gonzalez-Garcia JJ, Mahillo B, Hernandez S, et al. [Prevalences of hepatitis virus coinfection and indications for chronic hepatitis C virus treatment and liver transplantation in Spanish HIV-infected patients. The GESIDA 29/02 and FIPSE 12185/01 Multicenter Study.]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005;23:340-8.
8. Perez Cachafeiro S, Del Amo J, Iribarren JA, et al. Decrease in serial prevalence of coinfection with hepatitis C virus among HIV-infected patients in Spain, 1997-2006. *Clin Infect Dis* 2009;48:1467-70.
9. González-García J NC, Condés E, Díez C, Quereda C, Zamora F, , Miralles P ea. Trends in HCV infection, liver disease severity and specific treatment modalities among HIV-infected patients in Madrid, Spain. GESIDA 5707 study. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections CROI 2012. Seattle2012.
10. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet* 1997;349:825-32.
11. Feld JJ, Liang TJ. Hepatitis C -- identifying patients with progressive liver injury. *Hepatology* 2006;43:S194-206.
12. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology* 1999;30:1054-8.
13. Konerman MA, Mehta SH, Sutcliffe CG, et al. Fibrosis progression in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfecting adults: prospective analysis of 435 liver biopsy pairs. *Hepatology* 2014;59:767-75.

14. Mohsen AH, Easterbrook PJ, Taylor C, et al. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the progression of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients. *Gut* 2003;52:1035-40.
15. Sulkowski MS, Mehta SH, Torbenson MS, et al. Rapid fibrosis progression among HIV/hepatitis C virus-co-infected adults. *AIDS* 2007;21:2209-16.
16. Petrovic LM. HIV/HCV co-infection: histopathologic findings, natural history, fibrosis, and impact of antiretroviral treatment: a review article. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2007;27:598-606.
17. Deng LP, Gui XE, Zhang YX, Gao SC, Yang RR. Impact of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2009;15:996-1003.
18. Benhamou Y, Di Martino V, Bochet M, et al. Factors affecting liver fibrosis in human immunodeficiency virus-and hepatitis C virus-coinfected patients: impact of protease inhibitor therapy. *Hepatology* 2001;34:283-7.
19. Martin-Carbonero L, Benhamou Y, Puoti M, et al. Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Clin Infect Dis* 2004;38:128-33.
20. Montes Ramirez ML, Miro JM, Quereda C, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients with cirrhosis: a prospective study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2014;65:82-6.
21. Hernando V, Perez-Cachafeiro S, Lewden C, et al. All-cause and liver-related mortality in HIV positive subjects compared to the general population: Differences by HCV co-infection. *J Hepatol* 2012.
22. Berenguer J, Alejos B, Hernando V, et al. Trends in mortality according to hepatitis C virus serostatus in the era of combination antiretroviral therapy. *AIDS* 2012.
23. Garcia-Fulgueiras A, Garcia-Pina R, Morant C, Garcia-Ortuzar V, Genova R, Alvarez E. Hepatitis C and hepatitis B-related mortality in Spain. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2009;21:895-901.
24. Berenguer J, Alejos B, Hernando V, et al. Trends in mortality according to hepatitis C virus serostatus in the era of combination antiretroviral therapy. *AIDS* 2012;26:2241-6.
25. Thomas DL, Astemborski J, Rai RM, et al. The natural history of hepatitis C virus infection: host, viral, and environmental factors. *Jama* 2000;284:450-6.
26. Cribier B, Rey D, Schmitt C, Lang JM, Kirn A, Stoll-Keller F. High hepatitis C viraemia and impaired antibody response in patients coinfecting with HIV. *Aids* 1995;9:1131-6.
27. Thomas DL, Shih JW, Alter HJ, et al. Effect of human immunodeficiency virus on hepatitis C virus infection among injecting drug users. *J Infect Dis* 1996;174:690-5.

28. Bonacini M, Govindarajan S, Blatt LM, Schmid P, Conrad A, Lindsay KL. Patients co-infected with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus demonstrate higher levels of hepatic HCV RNA. *J Viral Hepat* 1999;6:203-8.
29. Deng A, Chen C, Ishizaka Y, Chen X, Sun B, Yang R. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr increases hepatitis C virus RNA replication in cell culture. *Virus research* 2014;184:93-102.
30. Verma S. HAART attenuates liver fibrosis in patients with HIV/HCV co-infection: fact or fiction? *J Antimicrob Chemother* 2006;58:496-501.
31. Verma S, Wang CH, Govindarajan S, Kanel G, Squires K, Bonacini M. Do type and duration of antiretroviral therapy attenuate liver fibrosis in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients? *Clin Infect Dis* 2006;42:262-70.
32. Qurishi N, Kreuzberg C, Luchters G, et al. Effect of antiretroviral therapy on liver-related mortality in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. *Lancet* 2003;362:1708-13.
33. Weis N, Lindhardt BO, Kronborg G, et al. Impact of hepatitis C virus coinfection on response to highly active antiretroviral therapy and outcome in HIV-infected individuals: a nationwide cohort study. *Clin Infect Dis* 2006;42:1481-7.
34. Yoo TW, Donfield S, Lail A, Lynn HS, Daar ES. Effect of hepatitis C virus (HCV) genotype on HCV and HIV-1 disease. *J Infect Dis* 2005;191:4-10.
35. Berenguer J, Rodriguez E, Miralles P, et al. Sustained Virological Response to Interferon Plus Ribavirin Reduces Non-Liver-Related Mortality in Patients Coinfected With HIV and Hepatitis C Virus. *Clin Infect Dis* 2012;55:728-36.
36. Major ME, Feinstone SM. The molecular virology of hepatitis C. *Hepatology* 1997;25:1527-38.
37. Houghton M, Weiner A, Han J, Kuo G, Choo QL. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 1991;14:381-8.
38. Farci P, Purcell RH. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies. *Semin Liver Dis* 2000;20:103-26.
39. Simmonds P. Viral heterogeneity of the hepatitis C virus. *J Hepatol* 1999;31 Suppl 1:54-60.
40. Mizokami M, Gojobori T, Ohba K, et al. Hepatitis C virus types 7, 8 and 9 should be classified as type 6 subtypes. *J Hepatol* 1996;24:622-4.
41. Mukaide M, Tanaka Y, Kakuda H, et al. New combination test for hepatitis C virus genotype and viral load determination using Amplicor GT HCV MONITOR test v2.0. *World J Gastroenterol* 2005;11:469-75.
42. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005;42:962-73.

43. Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus--15 years on. *J Gen Virol* 2004;85:3173-88.
44. Perez-Olmeda M, Rios P, Nunez M, Garcia-Samaniego J, Romero M, Soriano V. Virological characteristics of hepatitis C virus infection in HIV-infected individuals with chronic hepatitis C: implications for treatment. *Aids* 2002;16:493-5.
45. Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L, et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989;2:294-7.
46. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:223-35.
47. Hnatyszyn HJ. Chronic hepatitis C and genotyping: the clinical significance of determining HCV genotypes. *Antivir Ther* 2005;10:1-11.
48. Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Optimal therapy of hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S121-7.
49. Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 2004;40:993-9.
50. Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *J Hepatol* 2006;44:97-103.
51. Gretch DR. Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:43S-7S.
52. Kamili S, Drobeniuc J, Araujo AC, Hayden TM. Laboratory diagnostics for hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis* 2012;55 Suppl 1:S43-8.
53. Brook G, Main J, Nelson M, et al. British HIV Association guidelines for the management of coinfection with HIV-1 and hepatitis B or C virus 2010. *HIV Med* 2010;11:1-30.
54. GESIDA. [Recommendations of Gesida/PNS/AEEH for the management and treatment of the adult patient co-infected with HIV and hepatitis A, B and C virus]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010;28:31 e1-.
55. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996;23:1334-40.
56. Bonacini M. Diagnosis and management of cirrhosis in coinfecting patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45 Suppl 2:S38-46; discussion S66-7.
57. Pol S, Soriano V. Management of chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis* 2008;47:94-101.
58. Heathcote EJ, Shiffman ML, Cooksley WG, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *The New England journal of medicine* 2000;343:1673-80.

59. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19:1513-20.
60. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009;49:1335-74.
61. Dienstag JL. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S152-60.
62. Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:1449-57.
63. Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL). *Hepatology* 2000;32:477-81.
64. Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003;39:239-44.
65. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2614-8.
66. Beaugrand M. [Fibroscan: instructions for use]. *Gastroenterol Clin Biol* 2006;30:513-4.
67. Castera L, Vergniol J, Foucher J, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005;128:343-50.
68. Mendoza J, Gomez-Dominguez E, Moreno-Otero R. [Transient elastography (Fibroscan), a new non-invasive method to evaluate hepatic fibrosis]. *Med Clin (Barc)* 2006;126:220-2.
69. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003;29:1705-13.
70. de Ledinghen V, Douvin C, Kettaneh A, et al. Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;41:175-9.
71. Garcia-Jurado L, Oyaguez I, Casado MA, et al. [Evaluation of the costs of transient elastography (FibroScan((R))) in the diagnosis of liver fibrosis in HIV patients with hepatitis C virus]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012;30:294-9.
72. Kirk GD, Astemborski J, Mehta SH, et al. Assessment of liver fibrosis by transient elastography in persons with hepatitis C virus infection or HIV-hepatitis C virus coinfection. *Clin Infect Dis* 2009;48:963-72.

73. Neukam K, Recio E, Camacho A, et al. Interobserver concordance in the assessment of liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients using transient elastometry. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2010;22:801-7.
74. Vispo E, Barreiro P, Del Valle J, et al. Overestimation of liver fibrosis staging using transient elastography in patients with chronic hepatitis C and significant liver inflammation. *Antivir Ther* 2009;14:187-93.
75. Sanchez-Conde M, Montes Ramirez ML, Bellon Cano JM, et al. Impact of liver steatosis on the correlation between liver stiffness and fibrosis measured by transient elastography in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *J Viral Hepat* 2010.
76. Berenguer J, Bellon JM, Miralles P, et al. Identification of liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients using a simple predictive model based on routine laboratory data. *J Viral Hepat* 2007;14:859-69.
77. Cacoub P, Carrat F, Bedossa P, et al. Comparison of non-invasive liver fibrosis biomarkers in HIV/HCV co-infected patients: the fibrovic study--ANRS HC02. *J Hepatol* 2008;48:765-73.
78. Fornis X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology* 2002;36:986-92.
79. Myers RP, Benhamou Y, Imbert-Bismut F, et al. Serum biochemical markers accurately predict liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients. *Aids* 2003;17:721-5.
80. Nunes D, Fleming C, Offner G, et al. HIV infection does not affect the performance of noninvasive markers of fibrosis for the diagnosis of hepatitis C virus-related liver disease. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:538-44.
81. Patel K, Muir AJ, McHutchison JG. Validation of a simple predictive model for the identification of mild hepatic fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology* 2003;37:1222; author reply -3.
82. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clinical chemistry* 2005;51:1867-73.
83. Kelleher TB, Mehta SH, Bhaskar R, et al. Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using serum fibrosis markers: the SHASTA index. *J Hepatol* 2005;43:78-84.
84. Patel K, Gordon SC, Jacobson I, et al. Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate-to-advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004;41:935-42.
85. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-13.

86. Goodman ZD, Ishak KG. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 1995;15:70-81.
87. Brunt EM. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis: the Knodell histology activity index and beyond. *Hepatology* 2000;31:241-6.
88. Desmet VJ, Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis [Hepatology 1981;1:431-435]. *J Hepatol* 2003;38:382-6.
89. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981;1:431-5.
90. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995;22:696-9.
91. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991;13:372-4.
92. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996;24:289-93.
93. The French METAVIR Cooperative Study Group. Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1994;20:15-20.
94. Blackard JT, Sherman KE. HCV/ HIV co-infection: time to re-evaluate the role of HIV in the liver? *J Viral Hepat* 2008;15:323-30.
95. Tuyama AC, Hong F, Saiman Y, et al. Human immunodeficiency virus (HIV)-1 infects human hepatic stellate cells and promotes collagen I and monocyte chemoattractant protein-1 expression: implications for the pathogenesis of HIV/hepatitis C virus-induced liver fibrosis. *Hepatology* 2010;52:612-22.
96. Martinez-Sierra C, Arizcorreta A, Diaz F, et al. Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2003;36:491-8.
97. Rullier A, Trimoulet P, Neau D, et al. Fibrosis is worse in HIV-HCV patients with low-level immunodepression referred for HCV treatment than in HCV-matched patients. *Hum Pathol* 2004;35:1088-94.
98. Soto B, Sanchez-Quijano A, Rodrigo L, et al. Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol* 1997;26:1-5.
99. Brau N, Salvatore M, Rios-Bedoya CF, et al. Slower fibrosis progression in HIV/HCV-coinfecting patients with successful HIV suppression using antiretroviral therapy. *J Hepatol* 2006;44:47-55.

100. DallaPiazza M, Amorosa VK, Localio R, Kostman JR, Lo Re V, 3rd. Prevalence and risk factors for significant liver fibrosis among HIV-monoinfected patients. *BMC Infect Dis* 2010;10:116.
101. Merchante N, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, et al. Survival and prognostic factors of HIV-infected patients with HCV-related end-stage liver disease. *Aids* 2006;20:49-57.
102. Macias J, Castellano V, Merchante N, et al. Effect of antiretroviral drugs on liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C: harmful impact of nevirapine. *Aids* 2004;18:767-74.
103. Macias J, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, et al. Prediction of liver fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfecting patients by simple non-invasive indexes. *Gut* 2006;55:409-14.
104. Pineda JA, Caruz A, Rivero A, et al. Prediction of response to pegylated interferon plus ribavirin by IL28B gene variation in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus. *Clin Infect Dis* 2010;51:788-95.
105. Tural C, Fuster D, Tor J, et al. Time on antiretroviral therapy is a protective factor for liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus (HCV) co-infected patients. *J Viral Hepat* 2003;10:118-25.
106. Lanternier F, Roulot D, Bentata M, et al. Risks factors of liver fibrosis in a cohort of intravenous drug users coinfecting with HIV and HCV in the HAART era: the role of mixed steatosis. *Gastroenterol Clin Biol* 2007;31:822-7.
107. Marine-Barjoan E, Saint-Paul MC, Pradier C, et al. Impact of antiretroviral treatment on progression of hepatic fibrosis in HIV/hepatitis C virus co-infected patients. *Aids* 2004;18:2163-70.
108. Mehta SH, Thomas DL, Torbenson M, et al. The effect of antiretroviral therapy on liver disease among adults with HIV and hepatitis C coinfection. *Hepatology* 2005;41:123-31.
109. Pineda JA, Gonzalez J, Ortega E, et al. Prevalence and factors associated with significant liver fibrosis assessed by transient elastometry in HIV/hepatitis C virus-coinfecting patients. *J Viral Hepat* 2010;17:714-9.
110. Blanco F, Barreiro P, Ryan P, et al. Risk factors for advanced liver fibrosis in HIV-infected individuals: role of antiretroviral drugs and insulin resistance. *J Viral Hepat* 2010.
111. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001;33:1358-64.
112. Castera L, Hezode C, Roudot-Thoraval F, et al. Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression in untreated patients with chronic hepatitis C and paired liver biopsies. *Gut* 2003;52:288-92.

113. Hourigan LF, Macdonald GA, Purdie D, et al. Fibrosis in chronic hepatitis C correlates significantly with body mass index and steatosis. *Hepatology* 1999;29:1215-9.
114. Bani-Sadr F, Carrat F, Bedossa P, et al. Hepatic steatosis in HIV-HCV coinfecting patients: analysis of risk factors. *Aids* 2006;20:525-31.
115. Gaslightwala I, Bini EJ. Impact of human immunodeficiency virus infection on the prevalence and severity of steatosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2006;44:1026-32.
116. McGovern BH, Ditelberg JS, Taylor LE, et al. Hepatic steatosis is associated with fibrosis, nucleoside analogue use, and hepatitis C virus genotype 3 infection in HIV-seropositive patients. *Clin Infect Dis* 2006;43:365-72.
117. Pascual Pareja JF, Camino A, Larrauri J, et al. [Factors associated with hepatic steatosis in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients]. *Med Clin (Barc)* 2009;132:208-13.
118. Sulkowski MS, Mehta SH, Torbenson M, et al. Hepatic steatosis and antiretroviral drug use among adults coinfecting with HIV and hepatitis C virus. *Aids* 2005;19:585-92.
119. Hui JM, Sud A, Farrell GC, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression [corrected]. *Gastroenterology* 2003;125:1695-704.
120. 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.
121. Muzzi A, Leandro G, Rubbia-Brandt L, et al. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2005;42:41-6.
122. Petta S, Camma C, Di Marco V, et al. Insulin resistance and diabetes increase fibrosis in the liver of patients with genotype 1 HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2008;103:1136-44.
123. Petta S, Camma C, V DIM, et al. Insulin resistance is a major determinant of liver stiffness in nondiabetic patients with HCV genotype 1 chronic hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:603-13.
124. Radkowski M, Gallegos-Orozco JF, Jablonska J, et al. Persistence of hepatitis C virus in patients successfully treated for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:106-14.
125. Romero-Gomez M. Insulin resistance and hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2006;12:7075-80.
126. D'Souza R, Sabin CA, Foster GR. Insulin resistance plays a significant role in liver fibrosis in chronic hepatitis C and in the response to antiviral therapy. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1509-15.

127. Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008;134:416-23.
128. Taura N, Ichikawa T, Hamasaki K, et al. Association between liver fibrosis and insulin sensitivity in chronic hepatitis C patients. *Am J Gastroenterol* 2006;101:2752-9.
129. Merchante N, Macias J, Ramayo E, et al. Insulin resistance is not associated with liver fibrosis progression in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Viral Hepat* 2006;13:449-56.
130. Asselah T, Boyer N, Guimont MC, et al. Liver fibrosis is not associated with steatosis but with necroinflammation in French patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2003;52:1638-43.
131. Petit JM, Minello A, Jooste V, et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to steatosis in hepatitis C virus-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2240-3.
132. Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2001;34:738-44.
133. Ratziu V, Munteanu M, Charlotte F, Bonyhay L, Poynard T. Fibrogenic impact of high serum glucose in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2003;39:1049-55.
134. Wieckowska A, Feldstein AE. Nonalcoholic fatty liver disease in the pediatric population: a review. *Curr Opin Pediatr* 2005;17:636-41.
135. Feldstein AE, Werneburg NW, Canbay A, et al. Free fatty acids promote hepatic lipotoxicity by stimulating TNF- α expression via a lysosomal pathway. *Hepatology* 2004;40:185-94.
136. Berenguer J, Bellon JM, Miralles P, et al. Association between exposure to nevirapine and reduced liver fibrosis progression in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. *Clin Infect Dis* 2008;46:137-43.
137. Macias J, Berenguer J, Japon MA, et al. Fast fibrosis progression between repeated liver biopsies in patients coinfecting with human immunodeficiency virus/hepatitis C virus. *Hepatology* 2009;50:1056-63.
138. Macias J, Mira JA, Lopez-Cortes LF, et al. Antiretroviral therapy based on protease inhibitors as a protective factor against liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2006;11:839-46.
139. Pascual-Pareja JF, Caminoa A, Larrauri C, et al. HAART is associated with lower hepatic necroinflammatory activity in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients with CD4 cell count of more than 350 cells/microl at the time of liver biopsy. *Aids* 2009;23:971-5.
140. Bonacini M, Louie S, Bzowej N, Wohl AR. Survival in patients with HIV infection and viral hepatitis B or C: a cohort study. *Aids* 2004;18:2039-45.

141. Fuster D, Planas R, Muga R, et al. Advanced liver fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients on antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004;20:1293-7.
142. Poynard T, McHutchison J, Manns M, et al. Impact of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002;122:1303-13.
143. Bani-Sadr F, Lapidus N, Bedossa P, et al. Progression of fibrosis in HIV and hepatitis C virus-coinfected patients treated with interferon plus ribavirin-based therapy: analysis of risk factors. *Clin Infect Dis* 2008;46:768-74.
144. Lissen E, Clumeck N, Sola R, et al. Histological response to pegIFNalpha-2a (40KD) plus ribavirin in HIV-hepatitis C virus co-infection. *Aids* 2006;20:2175-81.
145. Berenguer J, Alvarez-Pellicer J, Miralles Martín P, et al. Sustained Virological Response to Interferon Plus Ribavirin Reduces Liver-Related Complications and Mortality in Patients Coinfected with Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus. *Hepatology* 2009;In press.
146. Aranzabal L, Casado JL, Moya J, et al. Influence of liver fibrosis on highly active antiretroviral therapy-associated hepatotoxicity in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. *Clin Infect Dis* 2005;40:588-93.
147. Carr A, Cooper DA. Adverse effects of antiretroviral therapy. *Lancet* 2000;356:1423-30.
148. Martin-Carbonero L, Nunez M, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. Incidence of liver injury after beginning antiretroviral therapy with efavirenz or nevirapine. *HIV Clin Trials* 2003;4:115-20.
149. Nunez M. Hepatotoxicity of antiretrovirals: incidence, mechanisms and management. *J Hepatol* 2006;44:S132-9.
150. Nunez M, Lana R, Mendoza JL, Martin-Carbonero L, Soriano V. Risk factors for severe hepatic injury after introduction of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;27:426-31.
151. Sulkowski MS, Thomas DL, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in adults infected with human immunodeficiency virus and the role of hepatitis C or B virus infection. *Jama* 2000;283:74-80.
152. Wit FW, Weverling GJ, Weel J, Jurriaans S, Lange JM. Incidence of and risk factors for severe hepatotoxicity associated with antiretroviral combination therapy. *J Infect Dis* 2002;186:23-31.
153. Cargnel A, Angeli E, Mainini A, et al. Open, randomized, multicentre italian trial on PEG-IFN plus ribavirin versus PEG-IFN monotherapy for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients on HAART. *Antivir Ther* 2005;10:309-17.
154. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, et al. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *Jama* 2004;292:2839-48.

155. Chung RT, Andersen J, Volberding P, et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *The New England journal of medicine* 2004;351:451-9.
156. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *Aids* 2004;18:F27-36.
157. Nunez M, Miralles C, Berdun MA, et al. Role of weight-based ribavirin dosing and extended duration of therapy in chronic hepatitis C in HIV-infected patients: the PRESCO trial. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007;23:972-82.
158. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *The New England journal of medicine* 2004;351:438-50.
159. Pesce A, Taillan B, Rosenthal E, et al. Opportunistic infections and CD4 lymphocytopenia with interferon treatment in HIV-1 infected patients. *Lancet* 1993;341:1597.
160. Rockstroh JK, Bhagani S, Benhamou Y, et al. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults. *HIV Med* 2008;9:82-8.
161. Soriano V, Miro JM, Garcia-Samaniego J, et al. Consensus conference on chronic viral hepatitis and HIV infection: updated Spanish recommendations. *J Viral Hepat* 2004;11:2-17.
162. Vento S, Di Perri G, Cruciani M, Garofano T, Concia E, Bassetti D. Rapid decline of CD4+ cells after IFN alpha treatment in HIV-1 infection. *Lancet* 1993;341:958-9.
163. Mira JA, Gutierrez-Valencia A, Gil Ide L, et al. Efficacy and safety of pegylated interferon plus ribavirin in HIV and hepatitis C virus-coinfected patients with advanced immunosuppression. *Clin Infect Dis* 2009;49:e84-91.
164. Opravil M, Sasadeusz J, Cooper DA, et al. Effect of baseline CD4 cell count on the efficacy and safety of peginterferon Alfa-2a (40KD) plus ribavirin in patients with HIV/hepatitis C virus coinfection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;47:36-49.
165. Taiwo BO. Insulin resistance, HIV infection, and anti-HIV therapies. *AIDS Read* 2005;15:171-6, 9-80.
166. Montes JP, M Lopez-Dieiguez, C Tural, C Quereda, E Ortega, A Arranz, M Von Wichmann, E Barquilla, J Arribas, and GESIDA 37/03-FIPSE 36680/07 Study Group. Survival of HIV/HCV-co-infected Patients with Compensated Liver Cirrhosis: Effect of HCV Therapy. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Montreal, Canada 2009.
167. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *The New England journal of medicine* 2002;347:975-82.

168. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-65.
169. Singal AK, Anand BS. Management of hepatitis C virus infection in HIV/HCV co-infected patients: clinical review. *World J Gastroenterol* 2009;15:3713-24.
170. Ramos B, Nunez M, Rendon A, et al. Critical role of ribavirin for the achievement of early virological response to HCV therapy in HCV/HIV-coinfected patients. *J Viral Hepat* 2007;14:387-91.
171. Berenguer. Effect of Accompanying Antiretroviral Drugs on Virologic Response to PEG-IFN and Ribavirin in HIV/HCV Co-infected Patients. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. San Francisco, CA, USA2010.
172. Brau N, Rodriguez-Torres M, Prokupek D, et al. Treatment of chronic hepatitis C in HIV/HCV-coinfection with interferon alpha-2b+ full-course vs. 16-week delayed ribavirin. *Hepatology* 2004;39:989-98.
173. Lafeuillade A, Hittinger G, Chadapaud S. Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV coinfection. *Lancet* 2001;357:280-1.
174. Moreno A, Quereda C, Moreno L, et al. High rate of didanosine-related mitochondrial toxicity in HIV/HCV-coinfected patients receiving ribavirin. *Antivir Ther* 2004;9:133-8.
175. Pineda JA, Mira JA, Gil Ide L, et al. Influence of concomitant antiretroviral therapy on the rate of sustained virological response to pegylated interferon plus ribavirin in hepatitis C virus/HIV-coinfected patients. *J Antimicrob Chemother* 2007;60:1347-54.
176. Mira JA, Lopez-Cortes LF, Barreiro P, et al. Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin treatment in HIV/hepatitis C virus co-infected patients receiving abacavir plus lamivudine or tenofovir plus either lamivudine or emtricitabine as nucleoside analogue backbone. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:1365-73.
177. Vispo E, Barreiro P, Pineda JA, et al. Low response to pegylated interferon plus ribavirin in HIV-infected patients with chronic hepatitis C treated with abacavir. *Antivir Ther* 2008;13:429-37.
178. Amorosa VK, Slim J, Mounzer K, et al. The influence of abacavir and other antiretroviral agents on virological response to HCV therapy among antiretroviral-treated HIV-infected patients. *Antivir Ther* 2010;15:91-9.
179. Righi E, Beltrame A, Bassetti M, et al. Therapeutical aspects and outcome of HIV/HCV coinfecting patients treated with pegylated interferon plus ribavirin in an Italian cohort. *Infection* 2008;36:358-61.
180. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461:399-401.

181. Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology* 2010;138:1338-45, 45 e1-7.
182. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009;41:1100-4.
183. Tanaka K, Hara M, Sakamoto T, et al. Inverse association between coffee drinking and the risk of hepatocellular carcinoma: a case-control study in Japan. *Cancer Sci* 2007;98:214-8.
184. Aparicio E, Parera M, Franco S, et al. IL28B SNP rs8099917 is strongly associated with pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy treatment failure in HCV/HIV-1 coinfecting patients. *PLoS One* 2010;5:e13771.
185. Rallon N NS, Benito J, Medrano J, Restrepo C, Goldstein D, Shianna K, McHutchison J and Soriano V. Strong Association of a Single Nucleotide Polymorphism Located Near the Interleukin-28b Gene with Response to Hepatitis C Therapy in HIV/HCV Co-infected Patients. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 16-19, 2010; abstract 165LB2010.
186. Alqaraawi AM, Sanai FM, Al-Husseini H, et al. Prevalence and Impact of Hepatic Steatosis on the Response to Antiviral Therapy in Saudi Patients with Genotypes 1 and 4 Chronic Hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2010.
187. Cesari M, Caramma I, Antinori S, Adorni F, Galli M, Milazzo L. Impact of hyperglycaemia and cholesterol levels on the outcome of hepatitis C virus (HCV) treatment in HIV/HCV-coinfecting patients. *HIV Med* 2009;10:580-5.
188. Chu CJ, Lee SD, Hung TH, 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.
189. Martin-Carbonero L, Tuma P, Vispo E, et al. Treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients with compensated liver cirrhosis. *J Viral Hepat* 2010.
190. Merchante N, de los Santos-Gil I, Merino D, et al. Insulin resistance is not a relevant predictor of sustained virological response to pegylated interferon plus ribavirin in HIV/HCV co-infected patients. *J Hepatol* 2009;50:684-92.
191. Patton HM, Patel K, Behling C, et al. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2004;40:484-90.
192. Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:75-85.
193. Rodriguez-Torres M, Govindarajan S, Sola R, et al. Hepatic steatosis in HIV/HCV co-infected patients: correlates, efficacy and outcomes of anti-HCV therapy: a paired liver biopsy study. *J Hepatol* 2008;48:756-64.

194. Yaginuma R, Ikejima K, Okumura K, et al. Hepatic steatosis is a predictor of poor response to interferon alpha-2b and ribavirin combination therapy in Japanese patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2006;35:19-25.
195. Kau A, Vermehren J, Sarrazin C. Treatment predictors of a sustained virologic response in hepatitis B and C. *J Hepatol* 2008;49:634-51.
196. Moraes Coelho HS, Villela-Nogueira CA. Predictors of response to chronic hepatitis C treatment. *Ann Hepatol* 2010;9 Suppl:54-60.
197. Romero-Gomez M, Del Mar Vilorio M, Andrade RJ, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology* 2005;128:636-41.
198. Himsworth HP. Insulin Deficiency and Insulin Inefficiency. *Br Med J* 1940;1:719-22.
199. Kahn CR, Rosenthal AS. Immunologic reactions to insulin: insulin allergy, insulin resistance, and the autoimmune insulin syndrome. *Diabetes care* 1979;2:283-95.
200. Moller DE, Flier JS. Insulin resistance--mechanisms, syndromes, and implications. *The New England journal of medicine* 1991;325:938-48.
201. Serrano Rios M, Ascaso Gimilio JF, Blazquez Fernandez E, et al. [Insulin resistance and its involvement in multiple risk factors associated with type 2 diabetes mellitus]. *Med Clin (Barc)* 2002;119:458-63.
202. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-23.
203. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
204. Bonora E, Targher G, Alberiche M, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes care* 2000;23:57-63.
205. Emoto M, Nishizawa Y, Maekawa K, et al. Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance in type 2 diabetic patients treated with sulfonylureas. *Diabetes care* 1999;22:818-22.
206. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes care* 1998;21:2191-2.
207. Adeyemi O, Rezai K, Bahk M, Badri S, Thomas-Gossain N. Metabolic syndrome in older HIV-infected patients: data from the CORE50 cohort. *AIDS Patient Care STDS* 2008;22:941-5.
208. Bonfanti P, Giannattasio C, Ricci E, et al. HIV and metabolic syndrome: a comparison with the general population. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45:426-31.

209. Elgalib A, Aboud M, Kulasegaram R, et al. The assessment of metabolic syndrome in UK patients with HIV using two different definitions: CREATE 2 study. *Curr Med Res Opin* 2011;27:63-9.
210. Jacobson DL, Tang AM, Spiegelman D, et al. Incidence of metabolic syndrome in a cohort of HIV-infected adults and prevalence relative to the US population (National Health and Nutrition Examination Survey). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;43:458-66.
211. Mondy K, Overton ET, Grubb J, et al. Metabolic syndrome in HIV-infected patients from an urban, midwestern US outpatient population. *Clin Infect Dis* 2007;44:726-34.
212. Palacios R, Merchante N, Macias J, et al. Incidence of and risk factors for insulin resistance in treatment-naive HIV-infected patients 48 weeks after starting highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther* 2006;11:529-35.
213. Samaras K, Wand H, Law M, Emery S, Cooper D, Carr A. Prevalence of metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy using International Diabetes Foundation and Adult Treatment Panel III criteria: associations with insulin resistance, disturbed body fat compartmentalization, elevated C-reactive protein, and [corrected] hypoadiponectinemia. *Diabetes care* 2007;30:113-9.
214. Wand H, Calmy A, Carey DL, et al. Metabolic syndrome, cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus after initiation of antiretroviral therapy in HIV infection. *Aids* 2007;21:2445-53.
215. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000;11:327-32.
216. Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:447-52.
217. Hotamisligil GS. The role of TNF α and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J Intern Med* 1999;245:621-5.
218. Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF- α -induced insulin resistance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999;107:119-25.
219. Boden G. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 1997;46:3-10.
220. Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, Alexander GJ. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol* 1994;21:1135-9.
221. Mehta SH, Brancati FL, Strathdee SA, et al. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *Hepatology* 2003;38:50-6.
222. Mehta SH, Brancati FL, Sulkowski MS, Strathdee SA, Szklo M, Thomas DL. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States. *Ann Intern Med* 2000;133:592-9.

223. Camma C, Petta S, Di Marco V, et al. Insulin resistance is a risk factor for esophageal varices in hepatitis C virus cirrhosis. *Hepatology* 2009;49:195-203.
224. Harrison SA. Correlation between insulin resistance and hepatitis C viral load. *Hepatology* 2006;43:1168; author reply -9.
225. Shaheen M, Echeverry D, Oblad MG, Montoya MI, Teklehaimanot S, Akhtar AJ. Hepatitis C, metabolic syndrome, and inflammatory markers: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey [NHANES III]. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;75:320-6.
226. Bugianesi E, Salamone F, Negro F. The interaction of metabolic factors with HCV infection: does it matter? *J Hepatol* 2012;56 Suppl 1:S56-65.
227. Kawaguchi T, Ide T, Taniguchi E, et al. Clearance of HCV improves insulin resistance, beta-cell function, and hepatic expression of insulin receptor substrate 1 and 2. *Am J Gastroenterol* 2007;102:570-6.
228. Greenberg AS, McDaniel ML. Identifying the links between obesity, insulin resistance and beta-cell function: potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2002;32 Suppl 3:24-34.
229. Knobler H, Schattner A. TNF- α , chronic hepatitis C and diabetes: a novel triad. *QJM* 2005;98:1-6.
230. Itoh Y, Okanoue T, Ohnishi N, et al. Serum levels of soluble tumor necrosis factor receptors and effects of interferon therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1332-40.
231. Paz K, Hemi R, LeRoith D, et al. A molecular basis for insulin resistance. Elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem* 1997;272:29911-8.
232. Zylberberg H, Rimaniol AC, Pol S, et al. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity. *J Hepatol* 1999;30:185-91.
233. Brown TT, Cole SR, Li X, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med* 2005;165:1179-84.
234. Friis-Moller N, Sabin CA, Weber R, et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *The New England journal of medicine* 2003;349:1993-2003.
235. Murata H, Hruz PW, Mueckler M. The mechanism of insulin resistance caused by HIV protease inhibitor therapy. *J Biol Chem* 2000;275:20251-4.
236. Caron M, Auclair M, Vigouroux C, Glorian M, Forest C, Capeau J. The HIV protease inhibitor indinavir impairs sterol regulatory element-binding protein-1 intranuclear localization, inhibits preadipocyte differentiation, and induces insulin resistance. *Diabetes* 2001;50:1378-88.

237. Caron-Debarle M, Boccara F, Lagathu C, et al. Adipose tissue as a target of HIV-1 antiretroviral drugs. Potential consequences on metabolic regulations. *Curr Pharm Des* 2010;16:3352-60.
238. Lee GA, Rao MN, Grunfeld C. The effects of HIV protease inhibitors on carbohydrate and lipid metabolism. *Curr HIV/AIDS Rep* 2005;2:39-50.
239. Noor MA, Lo JC, Mulligan K, et al. Metabolic effects of indinavir in healthy HIV-seronegative men. *Aids* 2001;15:F11-8.
240. Noor MA, Seneviratne T, Aweeka FT, et al. Indinavir acutely inhibits insulin-stimulated glucose disposal in humans: a randomized, placebo-controlled study. *Aids* 2002;16:F1-8.
241. Vyas AK, Koster JC, Tzekov A, Hruz PW. Effects of the HIV protease inhibitor ritonavir on GLUT4 knock-out mice. *J Biol Chem* 2010;285:36395-400.
242. Flint OP, Noor MA, Hruz PW, et al. The role of protease inhibitors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy: cellular mechanisms and clinical implications. *Toxicol Pathol* 2009;37:65-77.
243. Noor MA. The role of protease inhibitors in the pathogenesis of HIV-associated insulin resistance: cellular mechanisms and clinical implications. *Curr HIV/AIDS Rep* 2007;4:126-34.
244. Giralt M, Diaz-Delfin J, Gallego-Escuredo JM, Villarroya J, Domingo P, Villarroya F. Lipotoxicity on the basis of metabolic syndrome and lipodystrophy in HIV-1-infected patients under antiretroviral treatment. *Curr Pharm Des* 2010;16:3371-8.
245. Lenhard JM, Furfine ES, Jain RG, et al. HIV protease inhibitors block adipogenesis and increase lipolysis in vitro. *Antiviral Res* 2000;47:121-9.
246. Noor MA, Flint OP, Maa JF, Parker RA. Effects of atazanavir/ritonavir and lopinavir/ritonavir on glucose uptake and insulin sensitivity: demonstrable differences in vitro and clinically. *Aids* 2006;20:1813-21.
247. Noor MA, Parker RA, O'Mara E, et al. The effects of HIV protease inhibitors atazanavir and lopinavir/ritonavir on insulin sensitivity in HIV-seronegative healthy adults. *AIDS* 2004;18:2137-44.
248. Lee GA, Seneviratne T, Noor MA, et al. The metabolic effects of lopinavir/ritonavir in HIV-negative men. *Aids* 2004;18:641-9.
249. Taylor SA, Lee GA, Pao VY, et al. Boosting dose ritonavir does not alter peripheral insulin sensitivity in healthy HIV-seronegative volunteers. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;55:361-4.
250. Pao VY, Lee GA, Taylor S, et al. The protease inhibitor combination lopinavir/ritonavir does not decrease insulin secretion in healthy, HIV-seronegative volunteers. *AIDS* 2010;24:265-70.

251. Capel E, Auclair M, Caron-Debarle M, Capeau J. Effects of ritonavir-boosted darunavir, atazanavir and lopinavir on adipose functions and insulin sensitivity in murine and human adipocytes. *Antivir Ther* 2012;17:549-56.
252. Castaneda-Sceppa C, Bermudez OI, Wanke C, Forrester JE. Predictors of insulin resistance among Hispanic adults infected with or at risk of infection with the human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *J Viral Hepat* 2008;15:878-87.
253. Hadigan C, Meigs JB, Corcoran C, et al. Metabolic abnormalities and cardiovascular disease risk factors in adults with human immunodeficiency virus infection and lipodystrophy. *Clin Infect Dis* 2001;32:130-9.
254. van Vonderen MG, Blumer RM, Hassink EA, et al. Insulin sensitivity in multiple pathways is differently affected during zidovudine/lamivudine-containing compared with NRTI-sparing combination antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;53:186-93.
255. Brown TT, Li X, Cole SR, et al. Cumulative exposure to nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors is associated with insulin resistance markers in the Multicenter AIDS Cohort Study. *Aids* 2005;19:1375-83.
256. Martinez E, D'Albuquerque PM, Llibre JM, et al. Changes in cardiovascular biomarkers in HIV-infected patients switching from ritonavir-boosted protease inhibitors to raltegravir. *AIDS* 2012;26:2315-26.
257. ADA. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2007;30 Suppl 1:S42-7.
258. Jacobs WH, Goldberg SB. Statement on outpatient percutaneous liver biopsy. *Dig Dis Sci* 1989;34:322-3.
259. WHO. WHO Expert Committee on Biological Standardisation, 26th Report. WHO Technical Report Series No 565, p17 1975.
260. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Priego A, Valdecabres C, Carmena R. [Insulin resistance quantification by fasting insulin plasma values and HOMA index in a non-diabetic population]. *Med Clin (Barc)* 2001;117:530-3.
261. Haffner SM, Kennedy E, Gonzalez C, Stern MP, Miettinen H. A prospective analysis of the HOMA model. The Mexico City Diabetes Study. *Diabetes care* 1996;19:1138-41.
262. Kashiwabara H, Inaba M, Maruno Y, et al. Insulin levels during fasting and the glucose tolerance test and Homa's index predict subsequent development of hypertension. *J Hypertens* 2000;18:83-8.
263. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes care* 2004;27:1487-95.
264. Manley SE, Stratton IM, Clark PM, Luzio SD. Comparison of 11 human insulin assays: implications for clinical investigation and research. *Clinical chemistry* 2007;53:922-32.

265. Miller WG, Thienpont LM, Van Uytendaele K, et al. Toward standardization of insulin immunoassays. *Clinical chemistry* 2009;55:1011-8.
266. Staten MA, Stern MP, Miller WG, Steffes MW, Campbell SE, Insulin Standardization W. Insulin assay standardization: leading to measures of insulin sensitivity and secretion for practical clinical care. *Diabetes care* 2010;33:205-6.
267. Marcovina S, Bowsher RR, Miller WG, et al. Standardization of insulin immunoassays: report of the American Diabetes Association Workgroup. *Clinical chemistry* 2007;53:711-6.
268. Robbins DC, Andersen L, Bowsher R, et al. Report of the American Diabetes Association's Task Force on standardization of the insulin assay. *Diabetes* 1996;45:242-56.
269. Vogeser M, Parhofer KG. Limited preanalytical requirements for insulin measurement. *Clin Biochem* 2005;38:572-5.
270. Heinemann L. Insulin assay standardization: leading to measures of insulin sensitivity and secretion for practical clinical care: response to Staten et al. *Diabetes care* 2010;33:e83; author reply e4.
271. Longenberger A, Lim JY, Brown TT, et al. Low physical function as a risk factor for incident diabetes mellitus and insulin resistance. *Future virology* 2011;6:439-49.
272. Duong M, Petit JM, Piroth L, et al. Association between insulin resistance and hepatitis C virus chronic infection in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients undergoing antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;27:245-50.
273. Halfon P, Penaranda G, Cacoub P. [ANRS-fibrovic and homavic: role of non invasive markers of liver fibrosis and insulin-resistance during antiviral treatment in HIV-HCV co-infected patients from ANRS HC 02 RIVABIC trial]. *Gastroenterol Clin Biol* 2009;33 Suppl 2:S113-7.
274. Cacoub P, Carrat F, Bedossa P, et al. Insulin resistance impairs sustained virological response rate to pegylated interferon plus ribavirin in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients: HOMAVIC-ANRS HC02 Study. *Antivir Ther* 2009;14:839-45.
275. Nasta P, Gatti F, Puoti M, et al. Insulin resistance impairs rapid virologic response in HIV/hepatitis C virus coinfected patients on peginterferon-alfa-2a. *AIDS* 2008;22:857-61.
276. Ryan P, Berenguer J, Michelaud D, et al. Insulin Resistance Is Associated With Advanced Liver Fibrosis and High Body Mass Index in HIV/HCV-Coinfected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;50:109-10.
277. Ryan P. Insulin Resistance Impairs Sustained Virologic Response to Interferon plus Ribavirin in Patients Coinfected with Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010.
278. Merchante N, Rivero A, de Los Santos-Gil I, et al. Insulin resistance is associated with liver stiffness in HIV/HCV co-infected patients. *Gut* 2009;58:1654-60.

279. Vachon ML, Factor SH, Branch AD, et al. Insulin resistance predicts re-treatment failure in an efficacy study of peginterferon-alpha-2a and ribavirin in HIV/HCV co-infected patients. *J Hepatol* 2011;54:41-7.
280. Donato C, Cingolani A, Pinnetti C, De Luca A. Insulin resistance and HCV virologic response to peg-interferons (Peg-IFN) with ribavirin (RBV) in HIV/HCV co-infected patients. *J Hepatol* 2010;52:306-7.
281. Hull MW, Rollet K, Moodie EE, et al. Insulin resistance is associated with progression to hepatic fibrosis in a cohort of HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *AIDS* 2012;26:1789-94.
282. Butt AA, Umbleja T, Andersen JW, Sherman KE, Chung RT. Impact of peginterferon alpha and ribavirin treatment on lipid profiles and insulin resistance in Hepatitis C virus/HIV-coinfected persons: the AIDS Clinical Trials Group A5178 Study. *Clin Infect Dis* 2012;55:631-8.
283. Lo Iacono O, Venezia G, Petta S, et al. The impact of insulin resistance, serum adipocytokines and visceral obesity on steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:1181-91.
284. Howard AA, Lo Y, Floris-Moore M, Klein RS, Fleischer N, Schoenbaum EE. Hepatitis C virus infection is associated with insulin resistance among older adults with or at risk of HIV infection. *Aids* 2007;21:633-41.
285. Grinspoon S. Mechanisms and strategies for insulin resistance in acquired immune deficiency syndrome. *Clin Infect Dis* 2003;37 Suppl 2:S85-90.
286. Bedossa P, Moucari R, Chelbi E, et al. Evidence for a role of nonalcoholic steatohepatitis in hepatitis C: a prospective study. *Hepatology* 2007;46:380-7.
287. Dominique S MAL, S Dominguez, P Bonnard, P Morlat, L Merchadou, P Sogni, L Alric, F Dabis, and Y Benhamou. Insulin Resistance and Progression to Liver Fibrosis in HIV/HCV-co-infected Patients Participating to the Prospective ANRS Co13 French Cohort Study. *CROI*; 2007; Los Angeles.
288. Kruszynska YT, Harry DS, Bergman RN, McIntyre N. Insulin sensitivity, insulin secretion and glucose effectiveness in diabetic and non-diabetic cirrhotic patients. *Diabetologia* 1993;36:121-8.
289. Tien PC, Schneider MF, Cole SR, et al. Antiretroviral therapy exposure and insulin resistance in the Women's Interagency HIV study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;49:369-76.
290. Walli R, Herfort O, Michl GM, et al. Treatment with protease inhibitors associated with peripheral insulin resistance and impaired oral glucose tolerance in HIV-1-infected patients. *Aids* 1998;12:F167-73.
291. Lee B, Aupibul L, Sirisanthana V, Mangklabruks A, Sirisanthana T, Puthanakit T. Low prevalence of insulin resistance among HIV-infected children receiving nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-based highly active antiretroviral therapy in Thailand. *HIV Med* 2009;10:72-8.

292. Dave JA, Lambert EV, Badri M, West S, Maartens G, Levitt NS. Effect of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-based antiretroviral therapy on dysglycemia and insulin sensitivity in South African HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2011;57:284-9.
293. Eslam M, Lopez-Cortes LF, Romero-Gomez M. The role of insulin resistance in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *Current opinion in HIV and AIDS* 2011;6:553-8.
294. Eslam M, Aparcero R, Mousa YI, et al. Insulin resistance impairs viral dynamics independently of ethnicity or genotypes. *Journal of clinical gastroenterology* 2012;46:228-34.
295. Bortoletto G, Scribano L, Realdon S, et al. Hyperinsulinaemia reduces the 24-h virological response to PEG-interferon therapy in patients with chronic hepatitis C and insulin resistance. *J Viral Hepat* 2010;17:475-80.
296. Grasso A, Malfatti F, De Leo P, et al. Insulin resistance predicts rapid virological response in non-diabetic, non-cirrhotic genotype 1 HCV patients treated with peginterferon alpha-2b plus ribavirin. *J Hepatol* 2009;51:984-90.
297. Khattab M, Eslam M, Sharwae MA, Shatat M, Ali A, Hamdy L. Insulin resistance predicts rapid virologic response to peginterferon/ribavirin combination therapy in hepatitis C genotype 4 patients. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1970-7.
298. Wu KT, Yang JF, Chuang WL, Yu ML. Insulin resistance predicts rapid virological response in non-diabetic, non-cirrhotic genotype 1 HCV patients treated with peginterferon alpha-2b plus ribavirin: some issues. *J Hepatol* 2010;52:305; author reply -6.
299. Bongiovanni M, Ranieri R, Casana M, et al. Insulin Resistance Affects Early Virologic Response in HIV-Infected Subjects Treated for Hepatitis C Infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;47:258-9.
300. Yu JW, Sun LJ, Zhao YH, Kang P, Yan BZ. The effect of metformin on the efficacy of antiviral therapy in patients with genotype 1 chronic hepatitis C and insulin resistance. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* 2012;16:e436-41.
301. Romero-Gomez M, Diago M, Andrade RJ, et al. Treatment of insulin resistance with metformin in naive genotype 1 chronic hepatitis C patients receiving peginterferon alfa-2a plus ribavirin. *Hepatology* 2009;50:1702-8.
302. Khattab M, Emad M, Abdelaleem A, et al. Pioglitazone improves virological response to peginterferon alpha-2b/ribavirin combination therapy in hepatitis C genotype 4 patients with insulin resistance. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2010;30:447-54.
303. Marks KM, Kitch D, Chung RT, et al. Pilot study of pioglitazone before HCV retreatment in HIV/HCV genotype 1-infected subjects with insulin resistance and previous nonresponse to peginterferon and ribavirin therapy: A5239. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2014;65:345-9.

304. Serfaty L, Forns X, Goeser T, et al. Insulin resistance and response to telaprevir plus peginterferon alpha and ribavirin in treatment-naive patients infected with HCV genotype 1. *Gut* 2012;61:1473-80.
305. Younossi Z, Negro F, Serfaty L, et al. Homeostasis model assessment of insulin resistance does not seem to predict response to telaprevir in chronic hepatitis C in the REALIZE trial. *Hepatology* 2013;58:1897-906.
306. Kawaguchi Y, Mizuta T, Oza N, et al. Eradication of hepatitis C virus by interferon improves whole-body insulin resistance and hyperinsulinaemia in patients with chronic hepatitis C. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2009;29:871-7.
307. Petta S, Camma C, Di Marco V, et al. Time course of insulin resistance during antiviral therapy in non-diabetic, non-cirrhotic patients with genotype 1 HCV infection. *Antivir Ther* 2009;14:631-9.
308. Mason AL, Lau JY, Hoang N, et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1999;29:328-33.
309. WHO. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection 2014.
310. CDC. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Recomm Rep* 1992;41:1-19.

