

## PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**TITULO:** *VHC y asociación con arteriosclerosis subclínica. Estudio observacional de ateromatosis en pacientes con virus de hepatitis C.*

**Colaboración** Unidad de Hepatología del Hospital Universitari Arnau de Vilanova (HUAV) – Hospital Universitari Sta. Maria (HUSM (GSS)) y UDETMA del Hospital HUAV de Lleida, IRBLleida.

**RESPONSABLES:** Dra Tamara Revuelto, Dra Àngels Betriu, María Abajo, M. Teresa Vidal, Dra Elvira Fernández, Dr. Josep M<sup>a</sup> Reñe

### **INTRODUCCIÓN:**

*- Antecedentes y relevancia del problema:*

La infección por virus de la hepatitis C (VHC) es un problema de salud global, con una prevalencia estimada del 3% (más de 170 millones de infectados en el mundo), responsable de casi 100.000 muertes anuales. En España, la presencia de personas con anticuerpos contra VHC ronda el 2.5%, de las cuales, unas 800 mil desarrollan hepatitis C crónica, que se asocia a mayor morbi-mortalidad hepática y extrahepática (1,2).

Las enfermedades cardiovasculares representan una de las principales causas de morbi-mortalidad del mundo actual. Por ello, en los últimos años, los estudios no invasivos de diagnóstico vascular por imagen para predecir el riesgo cardiovascular están en auge. El grosor de la capa íntima carotídea y la presencia de placas en arterias carótidas son marcadores subclínicos de arteriosclerosis, que, en pacientes asintomáticos, se consideran predictores independientes de eventos cardiovasculares (3-4). Otra medición importante, es la predicción de la vulnerabilidad de la placa (5) que se valora por: el área de la placa (grado de estenosis) y por la composición (mediana de los niveles de grises (MNG) de todos los píxeles de la placa). Está aceptado, que placas oscuras y homogéneas suponen presencia de lípidos y que representan placas más vulnerables. Mientras que las placas más brillantes se asocian a contenidos de calcio que estabilizan y disminuyen la vulnerabilidad (6).

El VHC es la causa más frecuente de enfermedad hepática crónica, provocando cirrosis y aumento de riesgo de hepatocarcinoma. Además de la lesión intrahepática, este virus también produce lesiones extrahepáticas y alteraciones metabólicas, como aumento de la progresión de diabetes mellitus (DM), resistencia a la insulina, o esteatosis hepática (7).

En la última década se ha asociado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, aumentando la causa de morbi-mortalidad en los pacientes infectados por VHC, aunque esta asociación no está bien establecida. (8-14)

Antiguamente se pensaba que los pacientes con VHC presentaban efecto protector frente al riesgo cardiovascular ya que tenían cifras de bajas de colesterol y triglicéridos, (15). Recientemente se ha observado que el efecto inflamatorio crónico y la alteración

del sistema inmune que provoca el virus podría aumentar este riesgo, independientemente de la asociación del VHC con alteraciones metabólicas como la esteatosis hepática y la resistencia a la insulina. (16-17)

El virus de la hepatitis C produce arteriosclerosis por varios mecanismos: de forma directa, por colonización y replicación del virus en la pared arterial (18) y de forma indirecta por aumento de la respuesta inflamatoria crónica (produciendo citoquinas pro-inflamatorias) (19)

- *Conocimiento actual del problema*

En varios estudios se observa que la infección por virus de la hepatitis C es un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular, acelerando la arteriosclerosis en los pacientes infectados respecto a controles (20-29) Sin embargo en otras publicaciones no está tan clara esta asociación (30-35). Estas controversias podrían ser debidas a la variabilidad existente entre los estudios, y las diferencias en el diseño y en las muestras.

Hasta la fecha, hay 6 revisiones sistémicas publicadas entre la asociación de enfermedad cardiovascular e infección por VHC (36-41).

En las más recientes (40,41), se observa asociación de la infección por VHC con la mortalidad por eventos cardiovasculares (OR 1,56; 95%(CI 1,07-2,56; p=0,02)), con el accidente cerebro vascular (OR 1,3; 95% (CI 1,10-1,55; p=0,002)), y con la presencia de placas de ateroma en arterias carótidas (OR 2,27; 95% (CI 1,76-2,94; p<0,001)). Se observa además, una prevalencia de arteriosclerosis en un 41,9% de pacientes infectados, frente a un 22% en pacientes no infectados, aunque refieren que existe heterogeneidad en los estudios, sobre todo los que evalúan los eventos cardiovasculares.

Al analizar los estudios con resultado negativo (30-35) se observa la existencia de múltiples sesgos y limitaciones: 1) No se ajusta por factores confusionales cardiovasculares (índice de masa corporal, hipertensión arterial, diabetes mellitus o tabaco). 2) No se diferencia entre infección aguda, pasada o crónica del virus (actividad del virus por cuantificación de ácido ribonucleico por reacción en cadena de la polimerasa (ARN- PCR)). 3) La mayoría de los estudios son retrospectivos de cohortes americanas y asiáticas. 4) En los estudio de imagen, se evalúa principalmente arteriosclerosis carotídea, sin apenas estudios coronarios ni femorales.

Estas revisiones sistémicas concluyen que la presencia de infección crónica por VHC es un factor de riesgo independiente para arteriosclerosis subclínica y que se debería aconsejar estudio carotídeo no invasivo en estos pacientes.

- *Justificación de estudio:*

Actualmente existen pocos datos sobre el riesgo de arteriosclerosis y el VHC, precisándose más estudios en cohortes europeas, que evalúen la presencia de arteriosclerosis según la actividad y el daño hepático del virus, o si el tratamiento antiviral revierte la enfermedad ateromatosa al mismo tiempo que cura la infección por VHC.

Sólo un artículo ha estudiado una población Europea (42), en la que los pacientes infectados presentan el doble de riesgo de arteriosclerosis subclínica (medido por

presencia de placas de ateroma en arterias carótidas, y aumento del grosor intima-media carotideo). No hay estudios publicados en población española.

Esta población europea, sería más extrapolable a la española (influencia del estilo de vida y de la dieta mediterránea sobre el riesgo cardiovascular). Además, este estudio evalúa la relación entre la severidad del daño hepático y la carga viral, con el riesgo cardiovascular, pero el tamaño muestral es muy limitado.

La evidencia de la existencia de una posible relación entre el tratamiento antiviral y la enfermedad ateromatosa es insuficiente. Un único estudio evalúa el efecto sobre el riesgo cardiovascular del tratamiento antiviral con interferón y rivabirina, observándose un descenso del riesgo en los pacientes tratados. Además refiere que el efecto patogénico del virus de la hepatitis C se limita a la fase temprana de la arteriosclerosis, por lo que el tratamiento antiviral no reduce el riesgo en estadios avanzados de enfermedad arterial periférica (43).

#### - *Importancia clínica del estudio*

Actualmente, “en la era de los tratamientos de acción directa (Antivirales de acción directa, AAD) o terapias antivirales libres de Interferón”, que son fármacos más eficaces y seguros para tratar el VHC, se desconoce la evolución de las causas extrahepáticas tras la cura del VHC, y sobre tod, de la enfermedad ateromatosa.

Además no hay indicación de tratamiento por la presencia de arteriosclerosis subclínica con independencia de la lesión hepática o en su ausencia; precisándose información para valorar si esta indicación de tratamiento podría mejorar la calidad de vida en pacientes con respuesta antiviral sostenida (disminución de eventos cardiovasculares a futuro).

Dado que persisten controversias en este tema con una evidencia insuficiente, se justifica la necesidad de más estudios que evalúen la asociación entre VHC y riesgo arteriosclerótico. Ya que esta confirmación, podría cambiar la práctica clínica, tanto en indicación de tratamiento antiviral como en la necesidad de screening vascular ecográfico en estos pacientes.

#### - *Estudio preliminar Septiembre 2015*

Con estos conocimientos, durante el año 2015, y en colaboración con la UDETAM, realizamos un estudio preliminar analizando una muestra de de pacientes con VHC de la Unidad de Hepatología del Hospital Universitari Arnau de Vilanova de Lleida.

Realizamos un estudio transversal de 341 pacientes: 298 pacientes con VHC negativo procedentes de la base de datos de la UDETMA, y 43 pacientes con VHC pendientes de iniciar tratamiento antiviral (grado de fibrosis hepática medida por fibroscan F2-4), ajustados por edad, sexo, diabetes, enfermedad renal y enfermedad cardiovascular. El 51% eran varones con una media de edad de 54 años. La distribución de dislipemia, hipertensión arterial y tabaquismo, fue similar entre las dos poblaciones.

Se observo un 72,1% de placa ateromatosa en pacientes VHC frente a un 43% en pacientes sin VHC ( $p < 0,01$ ). Al realizar el análisis multivariante se observaron como factores asociados a presencia de placa: la edad (OR 1,13 (CI: 1,08-1,17  $P < 0,001$ )) y la presencia de virus de la hepatitis C (OR: 5,09 (CI 2,14-12,13  $P < 0,001$ )).

## **-BIBLIOGRAFIA**

- 1) World Health Organization. Hepatitis C ( Accessed 2014 dec) Available from: [URL:http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/communicable-diseases/hepatitis](http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/communicable-diseases/hepatitis)
- 2) Bruguera M, Forns X. Hepatitis C en España. *Medicina Clinica*, 2006,27(3),113-117.
- 3) Sillesen H, Muntendam P, Adourian A. et al. Carotid plaque burden as a measure of subclinical atherosclerosis: comparison with other tests for subclinical arterial disease in the High Risk Plaque BioImage study. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012;5:681-689.
- 4) Hermann DM, Gronewold J, Lehmann N, et al. Intima-media thickness predicts stroke risk factors, age and gender. *Atherosclerosis* 2012;224:84-89.
- 5) Helling WE, Peeters W, Moll FL, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: the search for biomarkers of plaque destabilization. *Trends Cardiovasc Med*. 2007;17:162-71.
- 6) Szajzel R. Ultrasonographic assessment of the morphological characteristics of the carotid plaque. *Swiss Med Wkly*.2005; 135:635-43.
- 7) Louie KS, Laurent S, Forssen UM, Mundy LM, Pimenta JM (2102) The high comorbidity burden of the hepatitis C virus infected population in the UNITED States. *BMC Infect Dis* 12:86
- 8) Pateria P, Ching H, Macquillan G, Jeffrey GP, Watts G, et al. (2013) Association between chronic hepatitis C infection and vascular risk and function. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 28: 161.
- 9) Adinolfi LE, Restivo L, Guerrero B, Sellitto A, Ciervo A, et al. (2013) Chronic HCV infection is a risk factor of ischemic stroke. *Atherosclerosis* 231: 22–26.
- 10) Kakinami L, Block RC, Adams MJ, Cohn SE, Maliakkal B, et al. (2013) Risk of cardiovascular disease in HIV, hepatitis C, or HIV/hepatitis C patients compared to the general population. *Int J Clin Pract* 67: 6–13.
- 11) Butt AA, Xiaoqiang W, Budoff M, Leaf D, Kuller LH, et al. (2009) Hepatitis C virus infection and the risk of coronary disease. *Clin Infect Dis* 49: 225–232.
- 12) Guiltinan AM, Kaidarova Z, Custer B, Orland J, Strollo A, et al. (2008) Increased all-cause, liver, and cardiac mortality among hepatitis C virus seropositive blood donors. *Am J Epidemiol* 167: 743–750.
- 13) Lee MH, Yang HI, Jen CL, Wang CH, Chiou YM, et al. (2009) Hepatitis C virus infection and cerebrovascular disease mortality. *Journal of Hepatology* 50:S153.
- 14) Ishizaka N, Ishizaka Y, Yamkado M. Artherosclerosis as a possible extrahepatic manifestation of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Med Insight Cardiol* 2014;8:1-5.
- 15) Dai CY, Chuang WL, Ho CK, et al. Associations between hepatitis C viremia and low serum triglyceride and cholesterol levels: a community-based study. *JHepatol* 2008; 49: 9-16.
- 16) Petta S, Macaluso FS, Craxi A. Cardiovascular diseases and HCV infection: a simple association or more? *Gut* 2014; 63: 369-375.
- 17) Marzouk D, Sass J, Barkr I, et al. Metabolic and cardiovascular risk profiles and hepatitis C virus infection in rural Egypt. *Gut* 2007;56:1105-1110.
- 18) Boddi M, Abbate R, Chensini G , et al. HCV infection facilitates asymptomatic carotid atherosclerosis: preliminary report of HCV RNA localization in human carotid plaque. *Dig Liver Dsi*. 2007;39 Suppl 1:S55-S60.

- 19) Zampiro R, Marrone A, Restivo L, et al. Chronic HCV infection and inflammation: clinical impact on hepatic and extrahepatic manifestations. *World J Hepatol* 2013; 5:528-540.
- 20) Adinolfi LE, Restivo L, Zampino R, Guerrera B, Lonardo A, et al. (2012) Chronic HCV infection is a risk of atherosclerosis. Role of HCV and HCV-related steatosis. *Atherosclerosis* 221: 496–502.
- 21) Alyan O, Kacmaz F, Ozdemir O, Deveci B, Astan R, et al. (2008) Hepatitis C Infection is Associated With Increased Coronary Artery Atherosclerosis Defined by Modified Reardon Severity Score System. *Circulation Journal* 72: 1960–1965.
- 22) Boddi M, Abbate R, Chellini B, Giusti B, Solazzo V, et al. (2007) HCV infection facilitates asymptomatic carotid atherosclerosis: preliminary report of HCV RNA localization in human carotid plaques. *Digestive & Liver Disease* 39 Suppl 1: S55–60.
- 23) Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Tooda EI, Hashimoto H, et al. (2002) Association between hepatitis C virus seropositivity, carotid-artery plaque, and intima-media thickening. *Lancet* 359: 133–135.
- 24) Ishizaka Y, Ishizaka N, Takahashi E, Unuma T, Tooda E-i, et al. (2003) Association between hepatitis C virus core protein and carotid atherosclerosis. *Circulation Journal* 67: 26–30.
- 25) Mostafa A, Mohamed MK, Saeed M, Hasan A, Fontanet A, et al. (2010) Hepatitis C infection and clearance: impact on atherosclerosis and cardiometabolic risk factors. *Gut* 59: 1135–1140.
- 26) Petta S, Torres D, Fazio G, Camma C, Cabibi D, et al. (2012) Carotid atherosclerosis and chronic hepatitis C: a prospective study of risk associations. *Hepatology* 55: 1317–1323.
- 27) Targher G, Bertolini L, Padovani R, Rodella S, Arcaro G, et al. (2007) Differences and similarities in early atherosclerosis between patients with nonalcoholic steatohepatitis and chronic hepatitis B and C. *Journal of Hepatology* 46: 1126–1132.
- 28) Fukui M, Kitagawa Y, Nakamura N, Yoshikawa T (2003) Hepatitis C virus and atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *JAMA* 289: 1245–1246
- 29) Tomiyama H, Arai T, Hirose K-i, Hori S, Yamamoto Y, et al. (2003) Hepatitis C virus seropositivity, but not hepatitis B virus carrier or seropositivity, associated with increased pulse wave velocity. *Atherosclerosis* 166: 401–403.
- 30) Momiyama Y, Ohmori R, Kato R, Taniguchi H, Ohsuzu F, et al. (2005) Lack of any association between persistent hepatitis B or C virus infection and coronary artery disease [2]. *Atherosclerosis* 181: 211–213.
- 31) Tien PC, Schneider MF, Cole SR, Cohen MH, Glesby MJ, et al. (2009) Association of hepatitis C virus and HIV infection with subclinical atherosclerosis in the women's interagency HIV study. *AIDS* 23: 1781–1784.
- 32) Roed T, Kristoffersen US, Knudsen A, Wiinberg N, Lebech AM, et al. (2014) Increased prevalence of coronary artery disease risk markers in patients with chronic hepatitis C - a cross-sectional study. *Vascular Health and Risk Management* 10: 55–61
- 33) Volzke H, Schwahn C, Wolff B, Mentel R, Robinson DM, et al. (2004) Hepatitis B and C virus infection and the risk of atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis* 174: 99–103

- 34) Caliskan Y, Oflaz H, Pusuroglu H, Boz H, Yazici H, et al. (2009) Hepatitis C virus infection in hemodialysis patients is not associated with insulin resistance, inflammation and atherosclerosis. *Clinical Nephrology* 71: 147–157.
- 35) Bilora F, Campagnolo E, Rinaldi R, Rossato A, Arzenton M, et al. (2008) Carotid and femoral atherosclerosis in chronic hepatitis C: a 5-year follow-up. *Angiology* 59: 717–720.
- 36) Aslam F, Alam M, Lakkis NM (2010) Hepatitis C and carotid atherosclerosis: a retrospective analysis. *Atherosclerosis* 209: 340–343.
- 37) Roed T, Lebech AM, Kjaer A, Weis N (2012) Hepatitis C virus infection and risk of coronary artery disease: A systematic review of the literature. *Clinical Physiology and Functional Imaging* 32: 421–430.
- 38) Adinolfi LE, Zampino R, Restivo L, Lonardo A, Guerrera B, et al. (2014) Chronic hepatitis C virus infection and atherosclerosis: clinical impact and mechanisms. *World J Gastroenterol* 20: 3410–3417.
- 39) Wong RJ, Kanwal F, Younossi ZM, Ahmed A (2014) Hepatitis C virus infection and coronary artery disease risk: a systematic review of the literature. *Dig Dis Sci* 59: 1586–1593.
- 40) Huang H, Kang R, Zhao Z. Is hepatitis C associated with atherosclerotic burden? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* ; 2014;9 (9).
- 41) Petta S, Maida M, Macaluso FS, et al. Hepatitis C Virus Infection is associated with increased cardiovascular mortality: A meta-analysis of observational studies. *Gastroenterology* (2015) DOI:10.1053/j.gastro.2015.09.007.
- 42) Barone M, Viggiani MT, Amoroso A, et al. Endothelial dysfunction correlates with liver fibrosis in chronic HCV infection. *Gastroenterology Research and Practice* (2015) Article ID 682174, 7 pages.  
<http://dx.doi.org/10.155/2015/682174>.
- 43) Yao-Chun H, Hsiu J, Yen-Tsung H, et al. Association between antiviral treatment and extrahepatic outcomes in patients with hepatitis C virus infection. *Gut* 2014;0:1-9.DOI:10.1136/gutjnl-2014-308163.

## **HIPOTESIS Y OBJETIVOS:**

La presencia de infección crónica por VHC es un factor de riesgo independiente para presentar arteriosclerosis subclínica.

**Objetivo principal:** Evaluar la asociación entre VHC y arteriosclerosis subclínica

### **Objetivos secundarios:**

- Evaluar la enfermedad ateromatosa según las características virales (lesión hepática, carga viral y genotipo)
- Valorar la enfermedad ateromatosa tras el tratamiento con antivirales de acción directa.

## **METODOS**

- *Diseño del estudio y recolección de información- población y lugar de estudio*

Se trata de un estudio transversal realizado en el Hospital Universitario Arnau de Vilanova y el Hospital Universitario Santa María de Lleida (Unidad UDETMA y Unidad de Hepatología).

Nos planteamos realizar un estudio observacional descriptivo en dos fases:

Fase 1: Estudio transversal para conocer la prevalencia de enfermedad ateromatosa en pacientes con infección crónica por virus de la hepatitis C, seguidos en las Unidades de Hepatología, en el año 2016, y en la provincia de Lleida. Se realizará detección de placa ateromatosa en ecografía simple, medición del área de placa y estudio de su composición. (Explicación posterior del modo de realización)

Fase 2: Si se demuestra que la población con infección crónica por hepatitis C tiene mayor carga ateromatosa que la población VHC negativa, se llevara a cabo el segundo estudio observacional y prospectivo cuyo objetivo será analizar cómo afectan los fármacos antivirales de acción directa (AAD) sobre la enfermedad ateromatosa en un grupo de pacientes con VHC en la provincia de Lleida.

*-Diseño del estudio y participantes:*

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

Para la primera parte del estudio, se remitirá desde la consulta de Digestivo a la UDETMA, para estudio de carga ateromatosa a 200 pacientes con virus de la hepatitis C (HVC) con infección crónica desde febrero de 2016 hasta agosto de 2016 (6 meses), antes de iniciar tratamiento antiviral.

Los 200 pacientes con VHC se compararan con 200 pacientes sin VHC (1:1) procedentes de la base de datos de la UDETMA, con la misma edad, sexo y los mismos factores de riesgo cardiovascular, para ver el efecto directo del virus de la hepatitis C sobre las arterias.

En pacientes con VHC se analizará la presencia o no de placa de ateroma en relación con las características del virus y según el grado de fibrosis hepática, intentando conseguir una muestra de cada grado de fibrosis hepática similar medida por fibroscan (50 pacientes de cada grupo: F0-1/F2/F3/F4) Genotipo (G1/ G2/ G3/ G4) y carga viral (carga baja/ carga alta, teniendo en cuenta el límite de  $>> 6$  millones UI/ml (6,8 log)).

No hay límite de edad para participar en el estudio.

Criterios de exclusión:

- Edad  $<18$  años
- Cirrosis hepática descompensada
- Antecedentes de enfermedad cardiovascular (patología coronaria (infarto, angina, cirugía coronaria); accidente vascular cerebral, patología arterial periférica, isquemia arterial de cualquier origen)
- Diabetes mellitus
- Tasa de filtración glomerular  $<60$  ml / min /  $1,73\text{m}^2$  (CKD EPI)
- Infección por VIH
- Infección por virus de la hepatitis B
- Neoplasias (incluida hepatocarcinoma)
- Enfermedad inflamatoria o infecciosa aguda
- Embarazo o lactancia
- Discapacidad Mental

Aunque las técnicas no son invasivas, están exentas de contraindicación, y están incluidas en la práctica clínica habitual, el estudio será evaluado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Arnau de Vilanova, Lleida, España y a todos los individuos se les proporcionará por escrito la hoja de información y deberán firmar un consentimiento informado de participación en el estudio (Anexo 1).

La información del estudio y la firma del consentimiento informado se harán en la consulta monográfica de hepatitis por el médico de digestivo, a los pacientes con infección crónica VHC que se atienden de forma secuencial en las consultas de digestivo del HUAV y HUSM de Lleida.

*- Método del Estudio de imagen de ultrasonido carotídeo y femoral*

Dos técnicos capacitados realizarán exploraciones ecográficas utilizando un protocolo estandarizado y publicado anteriormente por el grupo investigador. Las imágenes serán analizadas de forma ciega por un sólo lector desde el UDETMA (Unidad de Detección y Tratamiento de Enfermedades Aterotrombóticas, Hospital Universitari Arnau de Vilanova, Lleida, España).

La carga de enfermedad ateromatosa será evaluada mediante: ecografía de arterias carotídeas (carótida común, bulbo y carótida interna de ambos lados) y bilateral de arterias femorales (común y superficial) mediante la medición del grosor intima-media carotídeo (GIM) y evaluación de la presencia de placa (definida como  $\text{GIM} > 1,5\text{mm}$ ) en cada uno de los 10 segmentos estudiados, mediante ecografía doppler color vascular modo B según el consenso Mannheim (Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S et al. Mannheim carótida espesor íntima-media y la placa de consenso (2004-2006-2011). Cerebrovasc. Dis. 2012; 34: 290-296. ). El GIM se medirá en la pared más alejada (pared posterior o distal) en todos los territorios carotídeos de ambas arterias, siempre



que no haya presencia de placa de ateroma. El valor de GIM será el valor medio de todos los valores.

Las placas se medirán en todos los territorios explorados, siendo el área total de placa el sumatorio de todos los valores obtenidos (carótidas y femorales). Para la composición se empleará el software HEMODYN, que permite calcular el % de lípidos, % de tejido fibroso y % de calcio de las diferentes placas de ateroma.

- *Recogida de datos clínico analíticos:*

Se recogerán a partir de la historia clínica del paciente.

- Las variables sociodemográficas: sexo, edad, raza.
- Historia clínica de la infección por VHC: Tiempo de infección VHC, fecha de diagnóstico de cirrosis (si es conocida por el paciente)
- Historia clínica del hábito de fumar (nunca, antiguo, actual).
- Historia clínica de comorbilidades: hipertensión, dislipidemia, alcoholismo
- Antecedentes familiares de patología cardio-vascular precoz.
- Medidas antropométricas (peso, talla, índice de masa corporal)
- Presión arterial (sistólica y diastólica)
- Los datos bioquímicos serán de las analíticas sanguíneas precisadas para valorar la actividad del VHC, sin suponer aumento del número de determinaciones ni parámetros especiales. Se realizarán al inicio del tratamiento, a las 4 semanas, a las 12 semanas, a las 24 semanas (si se precisa) y a las 12 semanas de concluir el tratamiento (protocolo estándar del tratamiento de la hepatitis C con antivirales de acción directa). Se recogerán los parámetros: perfil lipídico (colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos), glucosa en ayunas, marcadores inflamatorios (proteína C reactiva ultrasensible, fibrinógeno, homocisteína, lactato deshidrogenasa), función renal, enzimas hepáticas, iones, calcio y fósforo, función tiroidea y hemograma.
- Historia clínica de los tratamientos: AAD, antihipertensivo, hipolipemiente.
- Control de enfermedad hepática (fibroscan para valorar fibrosis hepática) y ecografía abdominal (evaluación de esteatosis hepática)
  - Determinación del genotipo viral y carga viral medida por ARN-PCR (estudio necesario para valorar si se precisa tratamiento antiviral y que se realiza de manera habitual y reglada en la consulta de digestivo con estos pacientes)

## **Fase 2: Estudio de seguimiento para estimar la asociación entre exposición al fármaco y enfermedad ateromatosa. Estudio antes/ después de tratamiento antiviral con AAD.**

Pacientes con virus de la hepatitis C con criterios para tratamiento antiviral, carga y genotipo viral independiente, con grado de fibrosis F2-3-4 (Se excluyen F 0-1 al no tener indicación de tratamiento)

Se selecciona un grupo de pacientes con VHC diagnosticados de enfermedad ateromatosa en la fase1, antes de iniciar el tratamiento con AAD, y se repite el estudio vascular a las 12 semanas de finalizar el tratamiento antiviral (infección VHC curada) para valorar la progresión/ estabilización/regresión de enfermedad ateromatosa.

Se define:

PROGRESION: aumento del número de territorios con placa, o aumento del área de placa de ateroma.

ESTABILIZACION: ausencia de variabilidad en el número de territorios con placa o en el área de placa de ateroma.

REGRESION: disminución del número de territorios con placa o descenso del área total de placa de ateroma.

A estos pacientes se realizará analítica sanguínea y ecografía vascular antes de iniciar tratamiento antiviral y tras 12 semanas de finalizarlo según indica cronograma (Anexo2).

*-Periodicidad de las pruebas en el estudio*

- Analítica sanguínea: al inicio del tratamiento junto con la ecografía vascular,
- Analítica sanguínea a las 4 semanas de tratamiento (para valorar la respuesta viral rápida y si hay respuesta se completara el tratamiento 12 semanas o si no hay respuesta se completaran 24 semanas)
- A las 12 semanas de concluir tratamiento antiviral junto con nuevo estudio ecográfico vascular (es cuando se considera que existe curación del virus de la hepatitis C, 24 o 36 semanas de inicio del tratamiento) según lo establecido en el control rutinario de evaluación de tratamiento antiviral.

*-Limitaciones y beneficios del estudio.*

El proyecto no supone ningún coste ni gasto adicional al de la practica clínica diaria, los datos se recogerán de las analíticas y pruebas (ecografía abdominal y fibroscan) necesarias durante el estudio de la hepatitis por VHC y su tratamiento.

Los beneficios del estudio derivan del diagnóstico precoz de enfermedad ateromatosa subclínica que permitirá evitar la progresión de la enfermedad y la aparición de eventos cardiovasculares en el futuro. La limitación es que no está previsto en este estudio hacer seguimiento a largo plazo de eventos y mortalidad, aunque el hecho que quede recogido en la historia clínica permitirá su revisión en un futuro.

Por otro lado, teniendo en cuenta que la enfermedad ateromatosa es una enfermedad inflamatoria multifactorial sobre la que puede influir la existencia de infección por VHC, poder demostrar una relación entre el tratamiento con AAD y una posible regresión de enfermedad ateromatosa subclínica al mismo tiempo que la curación de la infección por VHC, permitirá revalorar qué pacientes deben ser incluidos en el tratamiento antiviral, al tiempo que aportará valor añadido al tratamiento.

Debe tenerse en cuenta que no hay estudios publicados en población española, y que los datos que se disponen hasta la fecha sobre ateromatosis y VHC son controvertidos. El estudio por su diseño y tamaño muestral podrá aportar información muy importante al respecto.

*- Análisis de los datos*

*\*Cálculo del tamaño muestral*

El tamaño de la muestra se ha estimado basándose en la frecuencia esperada de casos y controles con presencia de placa de ateroma en las arterias según la literatura existente (35% vs 20% respectivamente), utilizando un test bilateral con un error alfa del 5% y un error beta del 10%.

*\* Análisis estadístico*

Análisis descriptivo incluirá frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas, comparadas con la prueba de chi-cuadrado de Pearson; medianas y rango intercuartílico o medias y desviaciones estándar para los datos cuantitativos, según su distribución de normalidad y comparadas con los tests T de Student o Mann-Whitney. Los modelos de regresión logística multivariante se utilizarán para analizar los factores asociados la presencia de placa de ateroma; y los análisis de regresión lineal para conocer los factores asociados al área de placa y a su progresión después del tratamiento. La selección de variables candidatas se realizará teniendo en cuenta las variables más relevantes que puedan influir según la bibliografía, las asociaciones significativas que se deriven del análisis bivariado y de acuerdo a los tests de máxima verosimilitud (LR). La significación estadística se fijará en un valor de  $p < 0,05$ . Todos los análisis se realizarán utilizando el software SPSS (versión 21).