

22386001_tfm_ManuelAlejandr oRubianoGiraldo_SAL_VLA (1).pdf

by Manuel Alejandro RUBIANO GIRALDO

Submission date: 07-Nov-2024 02:45PM (UTC+0100)

Submission ID: 2511525048

File name: 22386001_tfm_ManuelAlejandroRubianoGiraldo_SAL_VLA_281_29.pdf (658.93K)

Word count: 14883

Character count: 77332



**Universidad
Europea**

Máster en Bioinformática

**El genotipo CC (IFN- λ 4) favorece la
eliminación del VHC en PVVIH por una
mayor respuesta antiinflamatoria**

Autor: Manuel Alejandro Rubiano Giraldo

**Tutoras: Sonia Arca de Lafuente y Violeta Lara
Aguilar**

Curso 2023-24

Agradecimientos.

Quiero agradecer a mis tutoras, Sonia Arca de Lafuente y Violeta Lara Aguilar, por su orientación y apoyo durante todo el desarrollo de este trabajo. También agradezco a mis compañeros y colaboradores por su ayuda y valiosas sugerencias. A mi familia y amigos, por su apoyo constante y comprensión durante este proceso.

Resumen

La coinfección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana y el Virus de la Hepatitis C (VIH/VHC) afecta a aproximadamente 2,9 millones de personas a nivel global. La coinfección supone un peor pronóstico para el desarrollo de la enfermedad hepática, resultando en una menor cantidad de pacientes que eliminan espontáneamente el VHC. En este contexto, el genotipo CC del polimorfismo rs12979860 en el gen IFNL4 puede estar relacionado con una mayor eliminación espontánea del VHC. Por el contrario, los genotipos CT y TT podrían estar asociados a un peor pronóstico, debido a una posible respuesta inmune deficiente en pacientes coinfectados.

Objetivo:

Analizar el impacto del polimorfismo IFNL4-rs12979860 en la respuesta inmune de personas con VIH (PVIH) durante la coinfección con el VHC.

Materiales y Métodos:

Se realizó un estudio observacional transversal que incluyó a 116 PVIH: 36 aclaradores espontáneos (AE) del VHC, 45 con coinfección crónica por VHC (HCC) y 35 controles VIH; clasificadas según su genotipo IFNL4-rs12979860 (CC vs. CT/TT). Se realizó un genotipado por PCR y se cuantificaron los biomarcadores asociados a la respuesta inmune por inmunoensayo. Se empleó el software R para el estudio descriptivo de las características de los participantes y modelos lineales generalizados (GLM) para evaluar la posible asociación entre el genotipo y los niveles de marcadores inmunes, ajustando por el grupo de infección.

Resultados:

Se evidenció un aumento significativo en los niveles de marcadores inmunes pro- y anti-inflamatorios para el genotipo CC a comparación de CT/TT, especialmente notable en el grupo de infección HCC. Por otro lado, los marcadores asociados a estrés oxidativo disminuyeron entre individuos HCC con genotipo favorable CC.

Conclusiones:

El genotipo CC muestra una homeostasis de marcadores inmunes a nivel plasmático durante la coinfección por VIH/VHC. Este equilibrio podría conferir fortalezas inmunes y favorecer el manejo de la coinfección en individuos con genotipo CC.

Palabras Clave: VIH, VHC, IFNL4, Coinfección, Biomarcadores, Respuesta Inmune.

Abstract

Coinfection with Human Immunodeficiency Virus (HIV) and Hepatitis C Virus (HCV) affects approximately 2.9 million people globally. Coinfection results in a worse prognosis for the progression of liver disease, leading to fewer patients who spontaneously clear HCV. In this context, the CC genotype of the rs12979860 polymorphism in the IFNL4 gene may be associated with a higher rate of spontaneous HCV clearance. In contrast, the CT and TT genotypes could be linked to a worse prognosis, likely due to a potentially weakened immune response in co-infected patients.

Objective:

To analyze the impact of the IFNL4-rs12979860 polymorphism on the immune response in people with HIV (PWH) during co-infection with HCV.

Materials and Methods:

A cross sectional observational study was conducted with 116 PWH: 36 spontaneous HCV clearers (SC), 45 with chronic HCV co-infection (CHC), and 35 HIV controls. Participants were classified based on their IFNL4-rs12979860 genotype (CC vs. CT/TT). Genotyping was performed using PCR, and immune response-related biomarkers were quantified through immunoassay. R software was used for descriptive analysis of participant characteristics and generalized linear models (GLM) to assess the possible association between genotype and immune marker levels, adjusting for infection group.

Results:

A significant increase in levels of pro- and anti-inflammatory immune markers was observed for the CC genotype compared to CT/TT, especially notable in the CHC infection group. Conversely, oxidative stress markers decreased among CHC individuals with the favorable CC genotype.

Conclusions:

The CC genotype shows homeostasis of immune markers at the plasma level during HIV/HCV co-infection. This balance could confer immune strengths and favor the management of co-infection in individuals with the CC genotype.

Keywords: HIV, HCV, IFNL4, Co-infection, Biomarkers, Immune Response.

Índice	pag.
1. Introducción	7.
1.1. Virus de la Hepatitis C	7.
1.2. Virus de la Inmunodeficiencia Humana	7.
1.3. Epidemiología de la coinfección por VIH y VHC	8.
1.4. Estrategias de prevención y control	9.
1.4.1. Diagnóstico	9.
1.4.2. Tratamiento	9.
1.4.3. Medidas de prevención	10.
1.5. Respuesta Inmune en la Coinfección VIH/VHC	11.
1.5.1. Inmunidad celular	11.
1.5.2. Estrés Oxidativo	12.
1.6. Senescencia celular en la infección por VHC	13.
1.7. Interferón Lambda 4 (IFNL4)	14.
1.8. Polimorfismo rs12979860 y Respuesta Inmune en VIH	15.
2. Hipótesis y Objetivos	16.
2.1. Hipótesis	16.
2.2. Objetivos	16.
2.2.1. Objetivo primario	16.
2.2.2. Objetivos secundarios	16.
3. Metodología	17.
3.1. Población de estudio	17.
3.2. Muestras Biológicas	17.
3.3. Genotipado de IFNL4-rs12979860	17.
3.4. Cuantificación de Biomarcadores	18.
3.5. Análisis Estadístico	18.
4. Resultados	20.
4.1. Análisis de variables clínicas y epidemiológicas	20.
4.2. Comparación de marcadores inmunes según genotipo favorable o desfavorable en la población total	22.
4.3. Estratificación por grupos de infección de la comparativa de marcadores inmunes entre genotipo CC vs CT/TT	24.
5. Discusión	28.
6. Conclusiones	32.
7. Bibliografía	33.
8. Anexos	40.
9. Declaración obligatoria del uso de herramientas de IA	41.



Índice de figuras y tablas	pag.
Tabla 1.	20.
Tabla 2.	22.
Tabla 3.	25.
Figura 1.	24.
Figura 2.	27.

1. Introducción.

1.1. Virus de la Hepatitis C

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus ARN de cadena positiva, perteneciente a la familia *Flaviviridae*. Presenta una elevada variabilidad genética, con un total de ocho genotipos y más de 90 subtipos (Mbisa et al., 2024), por lo que representa un desafío en la respuesta inmune del hospedador. Los genotipos 1 a 4 son los que presentan una mayor prevalencia a nivel mundial, con variaciones en su distribución geográfica: el genotipo 1 es el más prevalente, ocupando especialmente el territorio de América y Europa, seguido del genotipo 3, predominante en la zona sur de Asia, y los genotipos 2 y 4, presentes fundamentalmente en África (Smith et al., 2014).

El VHC posee una elevada tasa de replicación provocando infecciones agudas con elevados títulos virales. Durante el principio de la infección, el sistema inmune presenta una respuesta mediada por la activación de interferones, en particular los de tipo I (como IFNA y IFNB) y tipo III (como IFNL1, IFNL2/3 e IFNL4). Estos promueven la expresión de genes estimulados por interferón (ISG, por su sigla en inglés *Interferon-Stimulated Genes*) con la capacidad de detener la replicación viral. La eliminación del VHC está mediada en gran medida por la respuesta celular de linfocitos T CD4+ y CD8+, al igual que algunos polimorfismos asociados a genes interferón lambda (IFNL) como IFNL3 e IFNL4. El VHC además utiliza mecanismos de evasión, tales como inhibir la vía STAT1, la cual favorece la respuesta de tipo interferón (Dubuisson & Cosset, 2014; Zhao et al., 2016).

1.2. Virus de la Inmunodeficiencia Humana

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) es un retrovirus que forma parte del género *Lentivirus*. Se clasifica en dos tipos principales, el VIH-1 y el VIH-2 que, si bien son genéticamente parecidos, estos presentan diferencias epidemiológicas y clínicas, siendo el VIH-1 el más frecuente. En ambos tipos, la infección se inicia con una fase aguda en la que se produce una disminución en los niveles de células T CD4+, luego se produce una fase asintomática que, de no ser proporcionado un tratamiento adecuado, se desarrolla hasta la condición de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Este síndrome se caracteriza por un sistema inmunológico sumamente debilitado y disfuncional. Sin embargo, el VIH-2 se diferencia por su menor riesgo de transmisión y una fase asintomática más prolongada (Esbjörnsson et al., 2014).

La respuesta del sistema inmunológico es vital para el desarrollo y manejo de la infección. No obstante, la efectividad de la respuesta inmune del huésped frente a la infección varía en función de qué tipo de respuesta se presente, especialmente las

basadas en interferón, como el interferón tipo I. Se ha vinculado la coinfección de ambos genotipos con un mejor pronóstico de la enfermedad, ya que el VIH-2 podría provocar una respuesta superior de linfocitos T CD8+. Además, se ha observado durante la coinfección una reducción de la replicación de VIH-1 provocada por VIH-2 a través de mecanismos como una respuesta inmunológica cruzada (Esbjörnsson et al., 2012; Yapo et al., 2023).

1.3. Epidemiología de la coinfección por VIH y VHC.

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) es responsable, a nivel global, de unas 240.000 muertes al año, con cerca de un millón de nuevas infecciones anuales (World Health Organization [WHO], 2024). En algunos casos, la infección cursa de forma aguda y es eliminada de manera espontánea durante los primeros 6 meses tras la infección. No obstante, en el 70% de las situaciones, la infección avanza y se vuelve crónica, lo que favorece el desarrollo de fibrosis hepática, cirrosis, carcinoma hepatocelular (CHC) y aumento de la mortalidad. En lo que respecta a la infección por el VIH, se calcula que existen 39,9 millones de personas que viven con VIH (PVIH), registrándose un índice de 630.000 fallecimientos anuales asociados a enfermedades vinculadas a la infección (WHO, 2024).

Debido a que ambos virus comparten vías de transmisión, como son la vía parenteral, sexual y vertical (madre-hijo), la coinfección por ambos virus (VHC/VIH) es frecuente. Se estima que alrededor de 2,9 millones de individuos con infección por VIH a nivel mundial también están coinfectados con el VHC (Platt et al., 2016). Las PVIH tienen una probabilidad seis veces mayor de sufrir una infección por VHC en comparación con la población VIH-negativa, siendo la prevalencia más elevada entre la población de usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP) y los hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH) (Scott et al., 2018). Aunque la vía parenteral sigue siendo la principal forma de transmisión del VHC, la transmisión sexual del VHC ha visto un aumento considerable en los últimos años, principalmente en la población de HSH infectados por VIH, lo que se ha convertido en una epidemia en varios países (Platt et al., 2016). Por ende, conductas sexuales de alto riesgo, sumadas al uso de drogas en estos contextos, suponen un elevado factor de riesgo para la coinfección del VHC y VIH.

La coinfección VHC/VIH resulta en una inmunopatología más severa, dado que la presencia del VIH acelera la progresión de la enfermedad hepática asociada al VHC, representando un desafío adicional para la salud pública (Smit et al., 2021). A su vez, el efecto de la coinfección VHC/VIH en la progresión de la enfermedad por VIH se asocia con un mayor riesgo del desarrollo de SIDA, considerando que el VHC da lugar a respuestas inmunitarias deterioradas en parte por los factores expuestos previamente (Monforte et al., 2009). En conjunto, la coinfección aumenta la morbilidad y mortalidad, acelerando la fibrosis hepática y elevando el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

1.4. Estrategias de prevención y control.

1.4.1. Diagnóstico

Según la FDA (Food and Drug Administration), el algoritmo diagnóstico para el VHC comienza con el diagnóstico serológico de anticuerpos. Ante un resultado positivo, la presencia de infección activa debe confirmarse mediante la detección de ARN viral del VHC por técnicas de biología molecular, como la prueba de ácido nucleico (NAT, del inglés nucleic acid testing). Un resultado positivo para anticuerpos y niveles de ARN viral detectables se considera una infección en etapa activa, mientras que un resultado positivo para anticuerpos sin ARN detectable indica un caso de resolución (Cartwright et al., 2023). Actualmente, la identificación del VHC representa un grave problema de salud pública, dado que se calcula que solo entre el 49% y el 55% de las personas con infección crónica por VHC conocen su condición. La fase asintomática inicial, unida a los altos costes y la complejidad actual de los métodos de diagnóstico molecular, contribuyen a estas elevadas tasas de infradiagnóstico, lo que hace necesario el desarrollo de pruebas accesibles y rápidas que faciliten un diagnóstico temprano y posterior seguimiento de la infección (Zhou & Terrault, 2020).

Para el diagnóstico del VIH se realiza una estrategia de dos pasos: la primera parte comprende una prueba serológica y la segunda una prueba molecular confirmatoria. Las pruebas de rápido diagnóstico (PRD) o inmunoensayos de cuarta generación son las pruebas más comúnmente empleadas, basándose en la detección de anticuerpos específicos contra el VIH o sus antígenos virales. Tras un resultado positivo de estas pruebas, se realiza una confirmación mediante diagnóstico molecular. Al igual que en el caso del VHC, las técnicas más empleadas son las de NAT, pruebas de detección de material genético viral (Fonner et al., 2020).

1.4.2. Tratamiento

El manejo del VHC ha experimentado un cambio notable con la introducción de antivirales de acción directa (AAD), los cuales han demostrado tasas de curación que superan el 95%. Esto ha facilitado que se pueda tratar a pacientes que no muestran una enfermedad hepática avanzada. A escala mundial, se estima que cerca del 91% de los países presentan un subsidio para al menos una terapia AAD, lo que implica que no se pueda acceder a todas las terapias en muchos casos. Estas limitaciones socioeconómicas dificultan alcanzar una adecuada cobertura global (Marshall et al., 2024). En España, a partir de 2015, se han implementado las medidas de tratamiento con AAD, lo que ha llevado a una notable disminución de la prevalencia del VHC en personas viviendo con VIH (PVIH), desde el 22,1% en 2015 hasta el 2,2% en 2019, una

reducción del 90% atribuida en gran medida al uso extendido de la terapia (Fanciulli et al., 2022).

En contraste, la terapia antirretroviral (TAR) contra el VIH logra controlar la carga viral pero no conduce a la curación completa, ya que el virus persiste en un reservorio viral latente. A pesar de que la TAR ha sido fundamental para la gestión del VIH, la erradicación del virus sigue siendo un desafío.

La gestión de la coinfección VHC/VIH plantea retos particulares. A pesar de que los AAD han incrementado la tasa de respuesta virológica sostenida (RVS) del VHC, las interacciones entre la terapia antirretroviral (TAR) y los AAD siguen siendo un reto. La RVS, valorada entre 12 y 24 semanas tras el tratamiento, brinda ventajas clínicas importantes, como la disminución del daño hepático y la reducción del riesgo de carcinoma hepatocelular. En pacientes con coinfección, se debe priorizar el tratamiento con AAD en comparación con el tratamiento con interferón pegilado (peg-IFN) y ribavirina (RBV). La selección del tipo de AAD no se realiza en base al genotipo del VHC, como sucedía en terapias anteriores, dado que los AAD son pangenotípicos. En su lugar, se consideran factores como el régimen de TAR en vigor y las posibles comorbilidades presentes. Para aquellos que no han recibido tratamiento antirretroviral anteriormente, es aconsejable comenzar la TAR 4-6 semanas antes de los AAD para valorar la tolerancia. Es vital evitar interacciones con medicamentos y modificar los regímenes según se requiera para mejorar los resultados del tratamiento (Laiwathanapaisan & Sirinawasatien, 2021; Naggie et al., 2020). Las repercusiones de la TAR en la lesión del hígado son polémicas, dado que, mientras algunas investigaciones señalan daño mitocondrial y fibrosis hepática, otras evidencian un incremento en la función hepática y la respuesta inmunológica específica al VHC (Rohrbach et al., 2010).

1.4.3. Medidas de prevención

Los factores de riesgo asociados a la coinfección VIH/VHC son clave para el desarrollo de medidas de prevención, las cuales deben enfocarse en reducir las conductas de riesgo que facilitan la transmisión de ambos virus. Entre los HSH se ha registrado una prevalencia considerable de coinfección, y se ha determinado que medidas como el uso de preservativo son fundamentales debido a la alta tasa de reportes de sexo anal sin protección. La provisión gratuita de preservativos y la instrucción sobre comportamientos sexuales de riesgo son prioritarios. Para la población que utiliza drogas inyectables, se ha demostrado que asegurar el acceso a jeringas estériles a través de programas de intercambio es una estrategia eficaz. Además, la orientación acerca del uso de drogas y alcohol puede resultar beneficiosa (Millman et al., 2020).

En el territorio de España, el plan estratégico de prevención que se ha desarrollado para el periodo comprendido entre el 2021 y el 2030, se enfoca en acciones que pueden disminuir el riesgo de contraer el VIH y el VHC, así como mejorar el acceso a las terapias correspondientes. Se ha optado por fomentar el uso de la profilaxis post-exposición (PPE) bajo el potencial riesgo de contacto, como incidentes ocurridos en ambientes de trabajo y ataques sexuales. Este programa también busca optimizar la respuesta a estas infecciones en un contexto de emergencia intrahospitalario, así como en atención primaria. También, se promueve el tamizaje y control de pruebas para ITS (Infecciones de Transmisión Sexual) en situaciones que no sean necesariamente de salud pública, con la finalidad de obtener una mayor cobertura en los grupos de complicado acceso. Por último, esta estrategia también busca enfatizar la relevancia de obtener un tratamiento temprano tanto en el caso de VIH como de VHC, prestando especial importancia en los pacientes con coinfección por ambos virus, así como aquellos con un avance a un estado crónico del VIH (Ministerio de Sanidad, 2023).

1.5. Respuesta Inmune en la Coinfección VIH/VHC

1.5.1. Inmunidad celular

La respuesta inmunológica adaptativa se lleva a cabo mediante respuestas humorales y celulares. De estos dos tipos de respuesta, destacan las mediadas por los linfocitos T CD4+ y CD8+. Los linfocitos T CD4+ también se denominan células T colaboradoras y son responsables de regular y coordinar la respuesta inmunológica general. Su función es secretar las citoquinas, proteínas señal que activan otras células del sistema inmunológico, como linfocitos B o linfocitos T CD8+ (Luckheeram et al., 2012). En cuanto a los linfocitos T CD8+, también denominados células T citotóxicas, son responsables de la eliminación de toda célula infectada por agentes infecciosos o dañada por agentes externos, mediante un proceso de apoptosis (Taniuchi, 2018).

A diferencia de las mono infecciones, la coinfección presenta características particulares. La capacidad de las células T CD8+ para eliminar espontáneamente el VHC depende de su polifuncionalidad, cantidad y eficacia. No obstante, si la fase aguda del VHC persiste, esta capacidad se ve afectada por la pérdida o disfunción de las células T CD4+. En la coinfección VHC/VIH, la reducción de las células T CD4+ modifica la habilidad de las células T CD8+ para eliminar el VHC (Kim et al., 2006). Por ello se observa una tasa menor de eliminación espontánea del VHC en comparación con la mono infección, lo que resulta en un avance más acelerado de la fibrosis hepática y un incremento en la tendencia hacia la cirrosis en pacientes infectados. Adicionalmente, la coinfección por VHC/VIH puede potenciar la activación de monocitos e intensificar la inflamación sistémica, agravando el efecto en la salud hepática y general del paciente (Kim et al., 2005).

La interacción de la proteína gp120 del VIH con los hepatocitos y células estrelladas hepáticas (CEH), activa dichas células y promueve la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) a través del Factor NF- κ B (Salloum et al., 2016), lo que incrementa la fibrogénesis. En este contexto, el VIH sensibiliza la respuesta inflamatoria en las células de Kupffer, aumentando la producción de citocinas proinflamatorias, como el TNF- α e IL-6. También hay procesos indirectos, como la translocación de microorganismos. La infección por VIH lleva a generar daño de los tejidos linfáticos gastrointestinales, permitiendo que el lipopolisacárido bacteriano se transfiera al hígado, donde afecta la funcionalidad normal de las CEH y las células de Kupffer, lo que conduce a inflamación y fibrogénesis (Mosoian et al., 2017). Otros procesos incluyen una optimización de la replicación de VHC mediada por proteínas del VIH, acumulación de células T CD8+ que causan daño en los tejidos, y alteraciones adicionales en la respuesta inmunológica (Deng et al., 2014).

1.5.2. Estrés Oxidativo.

El estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial en las células del hígado se incrementan debido a la infección crónica por VHC, lo que favorece el avance de enfermedades graves como la cirrosis y el carcinoma hepatocelular. Este virus afecta a nivel mitocondrial al aumentar la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y modificar el potencial de la membrana mitocondrial, reduciendo así el contenido de ADN en dicha membrana (Schank et al., 2021). Adicionalmente, se ha evidenciado que reguladores fundamentales de la función mitocondrial, tales como PGC1A y mtTFA, se ven modificados en el marco de la infección crónica, agravando el perjuicio mitocondrial y la disfunción celular (Nguyen et al., 2018).

El estrés oxidativo en el tejido hepático, causado por un exceso de ROS, supera la capacidad del sistema enzimático antioxidante del hígado, compuesto por catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa y glutatión transferasa, provocando daño celular. Si persiste, puede provocar inestabilidad genómica, carcinogénesis o muerte celular, lo que resulta en fibrosis y cirrosis del hígado. Las ROS también desencadenan respuestas proinflamatorias, como la activación del NF- κ B y la implicación de células de Kupffer y CEH, intensificando la inflamación y el daño hepático (Zampino et al., 2013).

1.6. Senescencia celular en la infección por VHC

La senescencia celular se caracteriza por un arresto irreversible del ciclo celular. La infección crónica por VHC induce un estado de senescencia replicativa en el hígado, caracterizado por un acelerado acortamiento de los telómeros y una predisposición al desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC), particularmente en pacientes con cirrosis (Gorgoulis et al., 2019). Esta senescencia es más evidente en el tejido fibrótico no parenquimatoso, donde las células T senescentes, que son disfuncionales, evitan que

células inmunes activas puedan actuar con normalidad, lo que reduce la capacidad del sistema inmunológico para eliminar hepatocitos premalignos y contribuye a la progresión hacia el CHC en el contexto de una infección crónica por VHC (Giannakoulis et al., 2021).

Además, las ROS contribuyen a exacerbar los procesos de senescencia, produciéndose finalmente una liberación alterada de moléculas bioactivas, lo que se conoce como el fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP, del inglés Senescence Associated Secretory Phenotype) (Di Micco et al., 2021). Este fenotipo engloba una variedad de citocinas proinflamatorias y proteasas responsables de inflamación crónica y remodelación del tejido (Zhao et al., 2024). Las citoquinas y quimioquinas más comúnmente asociadas al SASP son capaces de alterar el microambiente celular acelerando la senescencia de células adyacentes. Las citoquinas más comúnmente asociadas al SASP son TGF- β , IL-1, IL-6 e IL-8, y quimioquinas como Eotaxina, GRO, IP10 o MCP1 (Coppé et al., 2010; González-Gualda et al., 2021). IL-6 está particularmente asociada a procesos crónicos de inflamación y a la progresión de CHC. Por otro lado, IL-8 efectúa una función de quimioatrayente para neutrófilos, así como otras células del sistema inmune, exacerbando la inflamación y el daño hepático. Además de estas, los niveles de la quimiocina MCP1 y el receptor CCR2 también se elevan en procesos de senescencia inducidos por VHC, promoviendo la infiltración de células mieloides inmaduras que pueden inhibir la actividad de células NK (del inglés natural killer) y facilitar la progresión del cáncer (Giannakoulis et al., 2021; Vernot, 2020). La acumulación de estas citoquinas favorece el proceso proinflamatorio y, por ende, la progresión de CHC, por lo que son blanco de estrategias terapéuticas.

1.7. Interferón Lambda 4 (IFNL4)

Los interferones lambda (IFN- λ) forman parte de la familia de los interferones de tipo III, que incluyen varias proteínas codificadas por los genes IFNL1, IFNL2 y IFNL3, con una similitud de aminoácidos mayor al 95% (Fox, Sheppard, & O'Hara, 2009). Prokunina-Olsson et al. (2013) identificaron un cuarto gen denominado IFNL4. La eliminación espontánea del VHC se ha asociado con polimorfismos en las citoquinas de tipo IFNL. Una de ellas es la variante rs12979860, un polimorfismo de nucleótido único (SNP, del inglés *single nucleotide polymorphism*) originalmente ubicado en el gen IFNL3, y que hoy en día se conoce que se encuentra en el intrón 1 de IFNL4. Particularmente, se ha vinculado el genotipo favorable CC con una mayor frecuencia de eliminación espontánea del VHC, además de la predicción de la respuesta a los tratamientos previos de la hepatitis C con peg-IFN y ribavirina. En cambio, se ha vinculado los genotipos desfavorables CT y TT con un incremento en el desarrollo de enfermedades vinculadas al VHC (O'Brien et al., 2015).

Otras variantes, como la rs368234815 (antes llamada ss469415590), también han sido estudiadas en cuanto a la eliminación del VHC. La variante rs368234815, situada en el exón 1 de IFNL4, presenta un desequilibrio de ligamiento (DL) con rs12979860.

Concretamente, se ha observado que el alelo desfavorable IFNL4-DG (variante rs368234815) mantiene una relación significativa con el alelo rs12979860-T en relación con DL (de Re et al., 2021). No obstante, aunque los dos alelos considerados son desfavorables para la eliminación espontánea del VHC, hay una mayor asociación de la presencia del alelo IFNL-DG con una menor respuesta inmunológica al VHC, en comparación con el alelo rs12979860-T. Por lo tanto, es probable que los portadores del alelo IFNL-DG tengan una recuperación más tardía en términos de eliminación del VHC. Además, se ha observado una menor frecuencia del genotipo rs12979860-CC en la población africana en comparación con la europea y asiática. Esta observación podría coincidir con menores tasas de eliminación espontánea del VHC en África. Así, la relevancia de ambas variantes (rs12979860 y rs368234815) en la eliminación del VHC se subraya, particularmente en poblaciones europeas y asiáticas (Fang, Jackson, & O'Brien, 2020).

Como se ha descrito anteriormente, la producción de la proteína IFN- λ 4 se asocia con la respuesta inmunológica frente a la infección por VHC. Si bien el mecanismo de acción no es conocido en su totalidad, experimentos in vitro con una proteína IFN- λ 4 recombinante indican que este mecanismo está ligado con la activación de la vía de señalización JAK-STAT. Esta activación induce la expresión de ISG en los hepatocitos infectados. Los ISG juegan un papel crucial en la respuesta antiviral, ya que sus productos actúan para inhibir la replicación viral y promover la eliminación del VHC (Sung et al., 2017).

1.8. Polimorfismo rs12979860 y respuesta inmune en VIH

El gen IFNL4, con el polimorfismo rs12979860, ha sido poco estudiado en el contexto de la infección por VIH. Dados los hallazgos de estudios anteriores, en los que el genotipo CC de IFNL4-rs12979860 está sobrerrepresentado en los controladores del VIH, es posible que este genotipo tenga un papel protector en la evolución de la enfermedad. Sin embargo, otros estudios no han encontrado ninguna asociación evidente entre los genotipos IFNL4-rs12979860 y la adquisición o evolución del VIH. Aunque CC IFNL4-rs12979860 tiene un impacto significativo en la respuesta a las terapias basadas en interferón y en la eliminación de otros virus, su impacto en la adquisición y progresión del VIH es un área aún en estudio (Machmach et al., 2013).

El polimorfismo rs12979860 ha sido objeto de investigación en relación con las respuestas inmunitarias en personas con VIH (PVIH) que son tratadas con TAR. Este polimorfismo no parece afectar la adquisición del VIH, pero estudios recientes muestran que el alelo IFNL4-DG de rs368234815 —asociado con rs12979860-T— se relaciona con una peor respuesta inmunitaria, que se traduce en niveles bajos de células T CD4+ y mayor prevalencia de las enfermedades definitorias de SIDA. Por otro lado, se encuentra en estudio cómo estos polimorfismos pueden afectar a la normalización de la proporción de células T CD4+ en personas en TAR, marcador de la

recuperación inmunitaria. Si bien los IFN- λ parecen modificar las respuestas de linfocitos T, el beneficio que se produciría en los niveles de linfocitos T CD4+ en el contexto del VIH-1 tratado ha sido poco consistente y es un campo de investigación activa (Jögeda et al., 2018).

Es evidente que aún se requieren más estudios para determinar las implicaciones del genotipo favorable del polimorfismo rs12979860-IFNL4 en la respuesta inmunológica de PVIH. Con el objetivo de evaluar las potenciales fortalezas que confiere el genotipo favorable tras una infección por VHC en PVIH, en este trabajo se ha realizado un estudio de los niveles plasmáticos de marcadores inmunes en individuos coinfectados VIH/VHC con genotipo CC frente a CT/TT.

2. Hipótesis y Objetivos

2.1. Hipótesis

La respuesta inmunológica en PVIH favorece la eliminación espontánea del virus de la hepatitis C en individuos con genotipo CC en comparación con los genotipos CT/TT, debido a una modificación de los niveles de marcadores plasmáticos asociados a la inflamación, senescencia y estrés oxidativo.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo Primario

Analizar el impacto del polimorfismo IFNL4-rs12979860 en la respuesta inmune de PVIH durante la coinfección con el VHC.

2.2.2. Objetivos Secundarios

- Caracterizar la población de estudio mediante un análisis de las variables clínicas y epidemiológicas más relevantes.
- Identificar los biomarcadores plasmáticos y de estrés oxidativo de mayor relevancia y su asociación con el genotipo favorable CC frente al genotipo desfavorable CT/TT en PVIH.
- Analizar el impacto a nivel inmunológico del genotipo favorable CC durante diferentes estados de la infección por VHC en PVIH.

3. Metodología

3.1. Población de estudio

La población del estudio ha incluido 116 PVIH con diferentes estados de infección por VHC: 36 aclaradores espontáneos, individuos que han eliminado de forma espontánea el VHC en los primeros 6 meses tras la infección (grupo AE); 45 individuos con infección crónica activa por VHC sin recibir tratamiento (grupo HCC) y 35 controles VIH (grupo cVIH). Los individuos incluidos procedían de la cohorte COVIHEP, dentro de la cual se incluyen cuatro hospitales de Madrid (España): Hospital Universitario 12 de octubre, Hospital Universitario Infanta Leonor, Hospital Universitario La Paz, y Hospital Universitario La Princesa.

Se recogieron los datos clínicos y epidemiológicos de la población en una base de datos electrónica (RedCap). Los criterios de inclusión y exclusión fueron los siguientes:

Criterios de Inclusión: PVIH que han recibido TAR durante al menos 1 año, con carga viral indetectable, recuento de linfocitos T CD4 superior a 500 células/mm³ durante al menos 1 año, edad mayor o igual a 18 años.

Criterios de exclusión: embarazo, fibrosis avanzada, adicción activa a drogas y alcohol, daño hepático debido al consumo de alcohol, o infección por el virus de la hepatitis B, infecciones oportunistas u otras enfermedades (neoplasia, enfermedades cardiovasculares y autoinmunes).

3.2. Muestras Biológicas

A partir de muestras de sangre total, se realizó el aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) mediante gradiente de densidad, empleando Lymphocyte Separation Medium (Corning, Manassas, EEUU) en tubos SepMateTM-50 (Stemcell Technologies, Vancouver, Canadá, EEUU). La fracción del plasma se obtuvo tras centrifugación a 10.000 x g durante 10 minutos a 4°C.

3.3. Genotipado de IFNL4-rs12979860

El ADN total se extrajo a partir de CMSPs empleando el kit Allprep® DNA/RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). El genotipado de rs12979860 se determinó por PCR en tiempo real con los kits de amplificación Premix Ex Taq (TAKARA) y TaqMan® SNP Genotyping Assay (ID C_7820464_10, ThermoFisher), en el termociclador 7500 Fast (Applied Biosystems).

3.4. Cuantificación de Biomarcadores

Se evaluaron marcadores de estrés oxidativo tales como: glutatión (GSH), glutatión disulfuro (GSSG), relación GSH/GSSG, daño en el ADN, capacidad total de antioxidantes no enzimáticos (TAC, del inglés *Total Antioxidant Capacity*), peroxidación lipídica, nitratos y contenido de carbonilo en proteínas (PCC, del inglés *protein carbonyl content*). Adicionalmente, se midieron 45 marcadores plasmáticos utilizando un Kit de tecnología Luminex xMAP para investigar la función inmunológica (Invitrogen, ProcartaPlex™ Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel 1, 45plex). Todos los datos se guardaron en una base de datos electrónica que solo era accesible para los investigadores. La lista de biomarcadores puede consultarse en Anexos (**Anexo 1**).

3.5. Análisis Estadístico

Se llevó a cabo un análisis estadístico sobre las variables epidemiológicas y clínicas, así como los niveles de marcadores inmunes en función del genotipo de IFNL4-rs12979860 en la población de estudio, clasificando a la población en genotipo favorable (CC) o desfavorable (CT/TT). Para ello se empleó el software R, bajo la interfaz RStudio (versión 4.3.2). Los resultados obtenidos se recopilaron en tablas descriptivas en formato Excel, indicando los valores de cada marcador como mediana y rango intercuartílico.

Primero se separaron y analizaron las variables categóricas mediante un *apruueba exacta* de Fisher. Para las variables continuas se revisó primero la normalidad de los datos mediante un test de Kolmogorov-Smirnov. Los análisis de distribución de los marcadores mediante Kolmogorov-Smirnov arrojaron que los mismos no cumplían normalidad. Debido a esto, se empleó el test de Wilcoxon para comparar los niveles de las variables previamente mencionadas entre los genotipos favorable y desfavorables.

Posteriormente, para evaluar la asociación entre genotipo IFNL4-rs12979860 y respuesta inmune, se aplicó un modelo de regresión, concretamente un modelo lineal generalizado (GLM, del inglés *generalized linear model*) con distribución gamma y función de enlace logarítmica (log-link). Con este modelo se estimaron los ratios de la mediana aritmética (AMR, del inglés *arithmetic median ratio*) y sus intervalos de confianza del 95% (IC95%). Se construyeron tres modelos: un modelo sin ajustar, un modelo ajustado por grupo de infección y un tercer modelo mediante un enfoque de ajuste tipo *stepwise*, realizado por la variable de grupo de infección.

Para las pruebas estadísticas se estableció un nivel de significancia del 5% (p-valor <0,05). Se realizó una corrección de los p-valores por el método Benjamin-Hochberg o tasa de falsos descubrimientos (FDR, del inglés *false discovery rate*) (q-valor), para reducir el riesgo de falsos positivos acumulados al realizar comparaciones múltiples. Se

estableció un nivel de significancia $q\text{-valor} < 0,2$, los valores fueron almacenados en tablas descriptivas. Se realizó un análisis adicional con GLM estratificando por cada uno de los tres grupos de infección.

Por último, para facilitar la visualización de los resultados, los marcadores con valores significativos para ambos análisis se representaron en forma de ForestPlot.

El script que recoge el análisis estadístico realizado en R puede ser verificado en el apartado Anexos (SCRIPT ANALISIS ESTADISTICO).

4. Resultados

4.1. Análisis de variables clínicas y epidemiológicas.

Se evaluaron las características clínicas y epidemiológicas de la población de estudio, en función del genotipo de *IFNL4* (genotipo favorable CC frente a genotipos desfavorables CT/TT, **Tabla 1**).

Tabla 1. Análisis descriptivo de las características clínicas y epidemiológicas de la población de estudio.

	CC	CT/TT	p-valor
n	59	57	
GRUPO DE INFECCIÓN			<0,001
eVIH	18,00 (30,50)	17,00 (29,80)	
AE	27,00 (45,80)	9,00 (15,80)	
HCC	14,00 (23,70)	31,00 (54,40)	
EDAD	52,00 [45,50 - 55,00]	49,00 [44,00 - 53,00]	0,135
SEXO			1,000
Mujer	26,00 (44,10)	26,00 (45,60)	
Hombre	33,00 (55,90)	31,00 (54,40)	
IMC	24,78 [21,94 - 27,30]	22,66 [21,25 - 25,74]	0,029
TIPO DE RIESGO			0,881
UDVP	23,00 (44,20)	24,00 (47,10)	
UDVP + Sexual	1,00 (1,90)	1,00 (2,00)	
Sexual	28,00 (53,80)	25,00 (49,00)	
Vertical	0,00 (0,00)	1,00 (2,00)	
ESTADÍO CLÍNICO VIH			0,181
--	9,00 (15,30)	2,00 (3,50)	
A	27,00 (45,80)	29,00 (50,90)	
B	8,00 (13,60)	11,00 (19,30)	
C	15,00 (25,40)	15,00 (26,30)	
GENOTIPO VHC			0,003
--	45 (76,3)	26 (45,6)	
1	8 (13,6)	20 (35,1)	
2	1 (1,7)	0 (0,0)	
3	1 (1,7)	1 (1,8)	
4	4 (6,8)	10 (17,5)	
TIPO DE TRATAMIENTO			0,190

Monoterapia	2,00 (3,40)	2,00 (3,60)	
Biterapia	9,00 (15,30)	6,00 (10,70)	
II	18,00 (30,50)	29,00 (51,80)	
IP	6,00 (10,20)	4,00 (7,10)	
ITIAN	3,00 (5,10)	0,00 (0,00)	
ITINAN	21,00 (35,60)	15,00 (26,80)	
Linfocitos T CD8+ (células/mm ³)	957,00 [726,25 - 1400,50]	790,00 [583,00 - 989,00]	0,025
Linfocitos T CD4+ (células/mm ³)	759,00 [600,50 - 1011,50]	761,80 [577,00 - 1006,00]	0,556
Ratio CD4/CD8	0,86 [0,60 - 1,13]	0,93 [0,73 - 1,16]	0,412
CD4 nadir (células/mm ³)	204,00 [140,25 - 280,25]	239,00 [147,00 - 308,00]	0,339

Nota: las variables continuas se expresan como “mediana [IQR]” (IQR: rango intercuartílico) y las categóricas como “valor absoluto %”, **IMC: Índice de masa corporal**, **UDVP: usuario de drogas por vía parenteral**, **II:** Inhibidores de integrasa, **IP:** Inhibidores de proteasa, **ITIAN:** Inhibidores de Transcriptasa Inversa Análogos de nucleósido, **ITINAN:** Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos. Los valores estadísticamente significativos se resaltan en negrilla.

La mediana de edad fue similar en ambos grupos (52 años para el genotipo favorable y 49 años para el desfavorable), así como también la distribución del sexo entre genotipos (44,10% vs 45,60% de mujeres con genotipo favorable y desfavorable, respectivamente). Adicionalmente, se observaron diferencias significativas en el índice de masa corporal (IMC) con valores superiores para el genotipo CC (24,78 [21,94 - 27,30] kg/m² vs 22,66 [21,25 - 25,74] kg/m², p-valor = 0,029) así como para los valores de linfocitos T CD8+ (genotipo CC: 957,00 [726,25 - 1400,50] células/mm³; genotipos CT/TT: 790,00 [583,00 - 989,00] células/mm³, p-valor = 0,025).

Los hallazgos indican un reparto desequilibrado de los grupos de infección entre los genotipos analizados. Dentro de los individuos con genotipo CC, el grupo de AE fue predominante, constituyendo el 45,80%, en comparación con apenas el 15,80% para el CT/TT. Por otro lado, en el grupo de HCC, se observó una proporción superior de pacientes con el genotipo CT/TT, con un 54,40% en comparación con el 23,70% del genotipo CC, lo que indica un perfil genético distinto en este grupo. Finalmente, se observó un equilibrio en la distribución del grupo cVIH entre ambos genotipos. Dadas las notables variaciones en la distribución de grupos de infección (p-valor < 0,001), se

seleccionó esta como variable de ajuste para los estudios de los marcadores del sistema inmunológico.

4.2. Comparación de marcadores inmunes según genotipo favorable o desfavorable en la población total

Se evaluó el impacto de los genotipos *IFNL4*-rs12979860 en la respuesta inmune de los grupos de infección. El ajuste por grupo de infección fue necesario para controlar la posible influencia del estado de coinfección por VIH en la respuesta inmunológica. Los marcadores que presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$, $q < 0,2$) se recogen en la **Tabla 2**. Los resultados obtenidos para el resto de marcadores se encuentra en el apartado de Anexos (**Anexo 2**).

Tabla 2. Análisis descriptivo del perfil de marcadores inmunes en la población total.

	CC (n=59)	CT/TT (n=57)	p^a	aAMR (IC 95%)	p^b	q
GMCSF	20,45 [16,75 - 23,98]	18,00 [15,00 - 21,50]	0,062	1,18 (1,03 - 1,36)	0,018	0,108
IL13	18,00 [15,00 - 23,20]	16,01 [12,00 - 19,11]	0,025	1,21 (1,04 - 1,41)	0,013	0,108
IL1B	17,68 [12,78 - 22,50]	16,00 [12,76 - 19,60]	0,210	1,19 (1,00 - 1,40)	0,049	0,187
IL2	20,42 [16,16 - 25,36]	18,00 [14,44 - 21,50]	0,026	1,19 (1,03 - 1,37)	0,024	0,130
IL4	25,78 [21,21 - 29,31]	22,25 [18,50 - 25,25]	0,011	1,16 (1,03 - 1,31)	0,015	0,108
TNF-alfa	19,84 [14,78 - 24,02]	17,00 [14,75 - 21,25]	0,120	1,21 (1,01 - 1,45)	0,046	0,187
IL10	19,14 [16,00 - 23,48]	16,00 [13,46 - 19,14]	0,011	1,18 (1,05 - 1,33)	0,007	0,094
IL15	22,48 [19,25 - 27,74]	21,25 [17,90 - 25,59]	0,147	1,19 (1,01 - 1,41)	0,036	0,177
Eotaxin	121,87 [70,27 - 206,29]	101,70 [66,78 - 150,91]	0,143	1,34 (1,06 - 1,69)	0,016	0,108
EGF	34,11 [26,75 - 55,17]	32,00 [23,50 - 43,04]	0,121	1,63 (1,16 - 2,30)	0,007	0,094
FGF2	40,67 [35,00 - 47,15]	36,56 [32,34 - 40,17]	0,002	1,14 (1,06 - 1,23)	0,001	0,054
HGF	23,50 [17,29 - 27,48]	20,43 [14,50 - 24,61]	0,048	1,20 (1,04 - 1,39)	0,012	0,108
VEGFA	37,22 [28,25 - 51,11]	28,27 [23,19 - 36,84]	0,004	1,33 (1,09 - 1,63)	0,006	0,094

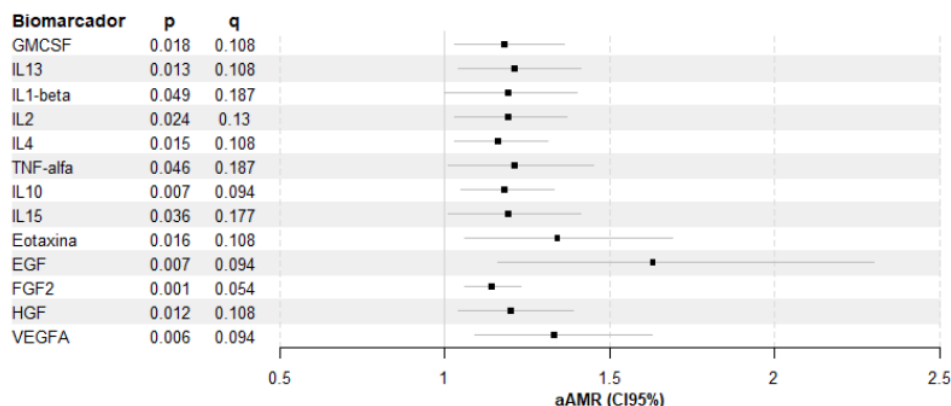
Nota: Los resultados presentados en la tabla resumen los valores de medianas y los rangos intercuartílicos (IQR) para cada grupo, junto con los resultados obtenidos mediante GLM, que incluyen las razones de medianas aritméticas ajustadas (aAMR) y sus intervalos de confianza al 95% (IC95%), así como los valores de p y q corregidos. Se denominó: p^a a los p -valores obtenidos en un primer análisis descriptivo, p^b , a los p valores después de aplicar el ajuste por el método de GLM, y por último q fue el valor obtenido por el ajuste Benjamini-Hochberg. Los valores significativos se resaltan en negrita.

En un análisis descriptivo inicial se observaron diferencias significativas en el grupo CC para las citoquinas IL2, IL4, IL10 e IL13, a comparación de CT/TT. Como se menciona en la metodología del estudio, la asociación entre genotipo favorable/desfavorable y niveles de marcadores inmunes se evaluó mediante GLM. Además, para tener en cuenta la variabilidad que podría introducir el grupo de infección se realizó el ajuste por *stepwise*. Tras aplicar un GLM ajustado, las citoquinas IL2, IL4, IL10, IL13, e IL15 presentaron diferencias estadísticamente significativas, con una mayor expresión en CC a comparación de CT/TT. Además, tras el ajuste en algunos casos se evidenciaron diferencias significativas que no se habían presentado en el análisis descriptivo inicial, como fue el caso de los niveles de TNF-alfa que fueron significativamente superiores para genotipo CC, sugiriendo una mayor respuesta inflamatoria en individuos con el genotipo CC. Aunque GMCSF y IL1B no alcanzaron un p-valor significativo en el análisis descriptivo inicial, al ajustar por covariables, el GMCSF mostró un aumento significativo, al igual que IL1B, lo que sugiere una tendencia hacia niveles más altos en el genotipo CC.

Por otro lado, los factores de crecimiento que mostraron diferencias significativas entre los genotipos en el análisis descriptivo inicial fueron FGF2, HGF y VEGFA. Tras aplicar un GLM ajustado, se confirmaron niveles significativamente superiores en individuos con genotipo CC para estos tres factores de crecimiento, además del marcador EGF. Entre las mayores diferencias, con p-valor < 0,01, destacan VEGFA, FGF2, y especialmente EGF, que presentó un aumento superior a 1,5 [aAMR=1,63 (1,16 – 2,30), p=0,007, q=0,094], indicando una mayor expresión en el genotipo CC en comparación con el CT/TT. Cabe recalcar que ningún marcador de estrés oxidativo presentó diferencias significativas en esta comparación los cuales pueden verse en el **Anexo 2**.

Con el objetivo de facilitar la visualización, se realizó una representación gráfica de los resultados a modo de forest plot como se representa en la Figura 1. Los valores aAMR de la mayoría de los biomarcadores se encuentran en un rango entre 1,00 y 1,50, indicando una asociación entre el genotipo CC y mayores niveles plasmáticos de ciertos marcadores inmunes. En particular, el biomarcador EGF destaca con un valor aAMR superior a 1,50 como se indicó previamente, estableciendo un aumento del 63% en los niveles, aunque el intervalo de confianza se extiende considerablemente, abarcando hasta 2,30, lo que indica una mayor incertidumbre en la estimación del efecto. Aunque otros biomarcadores, como GMCSF, IL13 e IL10, mostraron valores aAMR por encima de 1,0, no alcanzaron un aumento del 50%.

Figura 1. Representación Forest plot de los biomarcadores inmunes plasmáticos, comparando sus niveles entre genotipo favorable (CC) frente a desfavorable (CT/TT).



Nota: Los valores se expresan como aAMR (CI95%), representando solo aquellos marcadores estadísticamente significativos.

4.3. Estratificación por grupos de infección de la comparativa de marcadores inmunes entre genotipo CC vs CT/TT

Con el fin de identificar posibles variaciones entre los grupos de infección se realizó un análisis estratificado por cada uno de los tres grupos. El grupo HCC fue el único de los tres grupos en mostrar diferencias estadísticamente significativas en los niveles de varios marcadores inmunes entre los genotipos CC y CT/TT, recogidos en la **Tabla 3**. Los valores obtenidos para el resto de marcadores se pueden consultar en el Anexo (**Anexo 3, 4 y 5**).

Tabla 3. Análisis descriptivo de marcadores inmunes en el grupo HCC de infección.

	CC (n=59)	CT/TT (n=57)	p ^a	AMR (CI 95%)	p ^b	q
GSSG	13,48 [6,27 - 24,69]	31,61 [15,36 - 41,10]	0,025	0,56 (0,35 - 0,92)	0,024	0,081
Lípidos	517,73 [306,02 - 735,66]	851,84 [494,28 - 989,10]	0,054	0,70 (0,51 - 0,98)	0,039	0,096
GSH/GSSG	2,02 [1,21 - 6,07]	0,90 [0,68 - 2,32]	0,074	2,39 (1,31 - 4,61)	0,010	0,049
GMCSF	22,42 [17,91 - 29,00]	19,00 [15,30 - 22,62]	0,071	1,38 (1,08 - 1,79)	0,015	0,062
IL13	19,02 [17,00 - 23,20]	16,54 [12,00 - 19,74]	0,079	1,32 (1,04 - 1,69)	0,033	0,089
IL1B	21,76 [14,55 - 29,44]	17,20 [12,89 - 19,41]	0,128	1,47 (1,12 - 1,95)	0,008	0,043
IL2	26,00 [19,31 - 29,72]	18,00 [15,09 - 21,18]	0,005	1,41 (1,13 - 1,78)	0,005	0,043
IL4	28,00 [24,71 - 34,26]	23,63 [18,50 - 25,76]	0,005	1,34 (1,13 - 1,61)	0,002	0,027
IL6	21,40 [19,14 - 32,53]	20,25 [17,75 - 22,07]	0,141	1,50 (1,14 - 2,00)	0,007	0,043
TNF-alfa	19,84 [18,37 - 27,88]	17,00 [14,75 - 20,62]	0,034	1,70 (1,25 - 2,34)	0,002	0,027
IL10	20,48 [19,03 - 26,75]	16,00 [13,34 - 18,52]	0,007	1,40 (1,14 - 1,73)	0,003	0,032
IL17A	20,59 [17,06 - 41,24]	16,75 [13,50 - 23,19]	0,066	1,56 (1,15 - 2,15)	0,008	0,043
IL27	22,35 [18,26 - 26,18]	14,25 [12,50 - 19,78]	0,029	1,40 (1,07 - 1,84)	0,018	0,065
IL15	25,94 [20,41 - 37,88]	23,48 [19,62 - 26,49]	0,189	1,47 (1,14 - 1,91)	0,006	0,043
IL1RA	64,34 [41,38 - 118,88]	29,44 [22,31 - 42,27]	0,006	1,89 (1,10 - 3,38)	0,030	0,089
IL31	43,00 [36,75 - 47,88]	37,00 [31,50 - 40,18]	0,038	1,21 (1,02 - 1,44)	0,039	0,096
IL7	25,00 [22,03 - 30,34]	22,75 [18,80 - 25,74]	0,071	1,24 (1,03 - 1,50)	0,032	0,089
Eotaxina	175,44 [118,92 - 236,56]	93,46 [67,16 - 145,08]	0,016	1,84 (1,28 - 2,68)	0,002	0,027
MCP1	239,53 [136,23 - 359,19]	122,50 [72,68 - 175,19]	0,004	1,85 (1,10 - 3,23)	0,029	0,089
EGF	36,79 [27,96 - 71,03]	30,54 [22,40 - 44,02]	0,025	2,42 (1,50 - 4,02)	0,001	0,027
FGF2	42,63 [36,70 - 51,78]	36,60 [33,54 - 43,12]	0,062	1,18 (1,04 - 1,34)	0,016	0,062
LIF	23,97 [15,65 - 26,67]	17,38 [15,25 - 23,56]	0,332	1,45 (1,10 - 1,92)	0,012	0,054

Nota: Los resultados presentados en la tabla resumen los valores de medianas y los rangos intercuartílicos (IQR) para cada grupo, junto con los resultados obtenidos mediante GLM, que incluyen las razones de medianas aritméticas (AMR) y sus intervalos de confianza al 95% (IC95%), así como los valores de p y q corregidos. Se denominó: p^a a los p-valores obtenidos en un primer análisis descriptivo; p^b, a los p valores después de aplicar el método de GLM, y por último q fue el valor obtenido por el ajuste Benjamini-Hochberg. Los valores con el nivel de significancia estadística se resaltan en negrita,

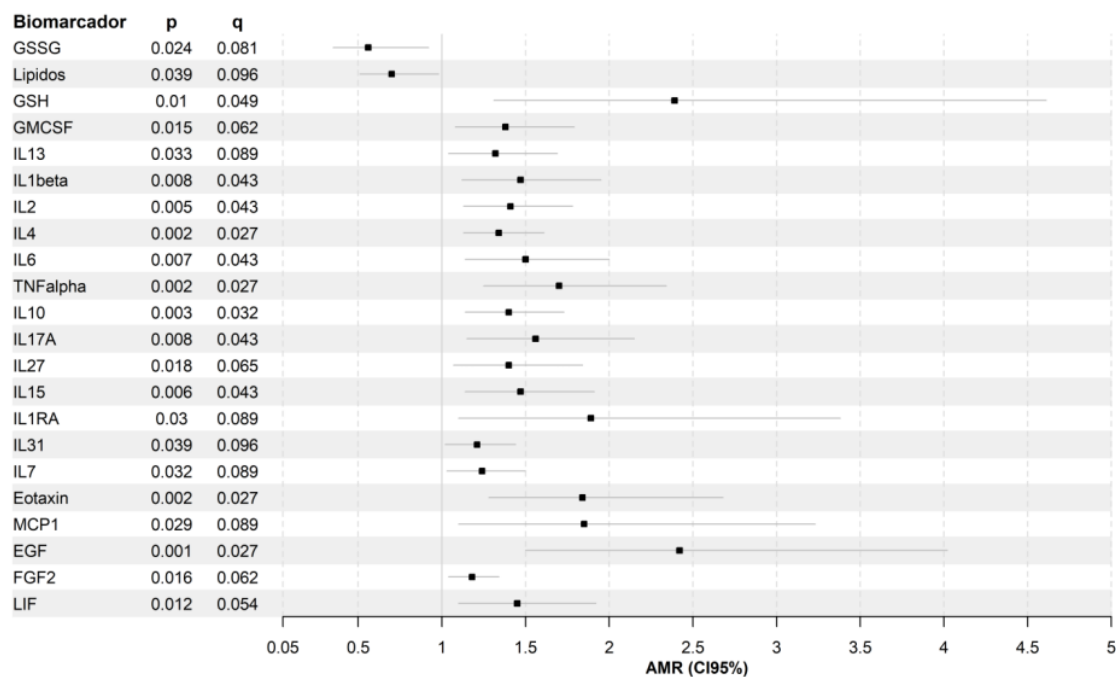
Los valores obtenidos en el primer análisis descriptivo destacan diferencias significativas para las citoquinas IL2, IL4, TNF-alfa, IL10, IL27, IL1RA, IL31 y MCP1. Posterior al ajuste por GLM en el grupo de citoquinas se evidenció un incremento considerable de citoquinas clasificadas como pro-inflamatorias (GMCSF, IL1B, IL2, IL6, TNF-alfa e IL17A), anti-inflamatorias (IL10 e IL1RA), y de tipo reguladoras o quimiocinas (IL13, IL4, IL27, IL15, IL31, IL7, Eotaxina y MCP1). El aumento de citoquinas y quimiocinas en el grupo HCC puede indicar un perfil inflamatorio vinculado a una respuesta inmune más activa en individuos con genotipo CC.

En los factores de crecimiento tras el análisis descriptivo inicial destaca solamente EGF. Sin embargo, tras el ajuste para los factores de crecimiento en el grupo CC, se evidenciaron niveles significativamente elevados de los marcadores EGF, FGF2 y LIF. Tanto EGF como FGF2 también fueron significativamente elevados tras el ajuste en el análisis de la población global, a diferencia de LIF que se mantuvo solo en el grupo HCC.

Por último, a diferencia del análisis previo de la población global, en este caso se obtuvo una diferencia significativa de GSSG como marcador de estrés oxidativo. Posterior al ajuste por GLM entre los genotipos CC y CT/TT para el grupo de infección HCC, se revelaron diferencias significativas en GSSG y peroxidación lipídica que mostraron una reducción significativa en el grupo CC a comparación con CT/TT, mientras que GSH/GSSG presentó un aumento significativo. Estos resultados pueden considerar al grupo CC con una ventaja fisiológica contra daños oxidativos mediante una protección celular.

Al igual que el análisis previo se realizó un forest plot de los marcadores más significativos (**Figura 2**).

Figura 2, Representación Forest plot de los biomarcadores inmunes plasmáticos en el grupo CCH solamente, comparando sus niveles entre genotipo favorable (CC) frente a desfavorable (CT/TT).



Nota: Los valores se expresan como AMR (CI95%), representando solo aquellos marcadores estadísticamente significativos.

5. Discusión

Este estudio muestra que el genotipo CC está vinculado con una mayor probabilidad (45,80%) de aclarar el VHC de forma espontánea en comparación con los genotipos CT/TT, corroborando lo señalado en investigaciones previas (O'Brien et al., 2015). Adicionalmente, los niveles de células T CD8+ del genotipo CC fueron superiores en comparación con los genotipos CT/TT. Esta observación coincide con la literatura, donde se indica que una respuesta apropiada de células T CD8+ dirigida frente al virus es uno de los factores clave para que se produzca un proceso de eliminación espontánea (Abdel-Hakeem & Shoukry, 2014). Adicionalmente, se ha demostrado que una reducción de los linfocitos T CD8+ promueve el deterioro de la respuesta inmunológica específica contra el VHC (Grakoui et al., 2003).

A nivel de estrés oxidativo, los resultados de varios marcadores indican diferencias significativas entre genotipo CC y CT/TT, uno de ellos son los niveles de GSSG que fueron más bajos en el grupo HCC con genotipo CC en comparación con CT/TT. La disminución de estrés oxidativo también se observó en una disminución de lípidos y un aumento de GSH/GSSG, indicativo de un mayor estrés oxidativo en los individuos con genotipo desfavorable. Adicionalmente, se ha evidenciado que niveles altos de GSSG aumentaban el daño hepático en pacientes coinfectados por VIH/VHC (Huang et al., 2016). Nuestros resultados indican unos niveles más bajos de estrés oxidativo en genotipo CC entre PVIH con infección crónica por VHC, que podrían conferir cierta protección contra el daño hepático.

Dentro de los procesos de estrés oxidativo se incluye el estrés del retículo endoplasmático (RE), un desbalance entre las chaperonas y la carga de proteínas a plegarse que afectan directamente al sistema de degradación del retículo. La acumulación intracelular de IFN- λ 4 a nivel de los hepatocitos se asocia a su vez con un aumento del estrés oxidativo del RE, favoreciendo la apoptosis celular y alterando la proliferación celular. El estrés inducido por IFN- λ 4 llega a afectar tanto la respuesta antiviral como el desarrollo de la cirrosis hepática y, a su vez, el CHC. Estos hallazgos sugieren que el estrés del RE, mediado por la acumulación de IFN- λ 4, desempeña un papel dual en la infección por VHC, actuando como un mecanismo de defensa celular mientras se relaciona con la progresión de la enfermedad (Garcia-Broncano et al., 2018).

Los resultados obtenidos en este estudio muestran una disminución de marcadores asociados a estrés oxidativo en el grupo HCC con el genotipo CC. Considerando que el genotipo CC se relaciona con una disminución en la producción de IFN- λ 4, nuestros resultados concuerdan con el anterior estudio, ya que los individuos con genotipo CC evitarían su acumulación intracelular y a su vez favorecerían que no se presente un aumento del estrés oxidativo.

En relación con el perfil de citoquinas, tanto en el análisis que abarcaba a toda nuestra cohorte como en el estratificado por el grupo HCC, se evidenció que los marcadores IL2 y TNF-alfa tienen mayores niveles de expresión en el genotipo CC en comparación con CT/TT, lo que sugiere una respuesta inmune más potente ante la infección. Estos resultados concuerdan con una investigación que señala que los niveles de IL2, TNF-alfa e IL17A se ven modificados por la cirrosis hepática en pacientes con coinfección por VIH/VHC (Onabajo et al., 2021). En este estudio, se muestra que las personas con cirrosis avanzada presentan una reducción de estas citoquinas proinflamatorias, lo que se vincula con la evolución de la enfermedad. Los valores de IL17A solo se vieron aumentados en el genotipo CC en individuos con HCC, lo que puede interpretarse como una respuesta contra la infección crónica y una posible asociación del perfil protector CC contra el desarrollo de cirrosis.

Los valores obtenidos en este estudio para IL13 e IL4 se mantuvieron superiores en el genotipo CC tanto para el análisis global de todos los grupos de infección como para HCC. Al comparar estos resultados con un estudio que analizó la producción de citoquinas proinflamatorias y pro-fibróticas ¹ en pacientes coinfectados por VIH/VHC, se encontró que IL13 e IL4 están implicados en el desarrollo de fibrosis en la coinfección, lo que podría llegar a favorecer el desarrollo de la enfermedad hepática (Chernoff et al., 1995). Nuestros resultados mostraron que el grupo CC presenta un aumento de estos marcadores, especialmente en el grupo HCC, lo que indicaría un equilibrio de citoquinas asociadas al control de la infección en pacientes con coinfección crónica VIH/VHC que portan el genotipo CC.

IL10 también se vio aumentada en CC tanto a nivel global como en el grupo HCC. IL10 es descrita como una citoquina que actúa en la regulación de la inflamación. En otros estudios, se considera que esta presenta un factor protector en la coinfección VIH/VHC, donde se ha evidenciado que tras la administración de IL10 se observa una inhibición de citoquinas proinflamatorias (Amoras et al., 2020). Esta actividad antiinflamatoria puede relacionarse con su aumento en la población HCC como un intento de controlar el proceso inflamatorio y limitar el daño hepático asociado a casos crónicos. También existen reportes que indican que la elevación de IL10 puede favorecer el desarrollo de la enfermedad, contribuyendo al desarrollo de fibrosis hepática en pacientes crónicos (Hernández-Santillán et al., 2022). Esto indica que no hay evidencia suficiente sobre el papel que juega la expresión de IL10 dentro del desarrollo de la coinfección por VIH/VHC, y se requieren más estudios al respecto.

Tras la estratificación por grupos de infección, se observó un aumento significativo en los niveles de citoquina IL6 en el grupo HCC, concretamente un aumento del 50% en CC en comparación con CT/TT, lo que refleja que el genotipo CC también presenta un aumento de citoquinas asociadas a senescencia celular en individuos con infección crónica. Los hallazgos para IL6, vinculada al SASP, subrayan su función en la

inflamación del grupo HCC a pesar de portar el genotipo favorable de rs12979860, lo que indica una inflamación crónica. Además, la coinfección por VIH parece aumentar la inflamación, lo que correlaciona con la idea de que IL6 parece estar asociada con una respuesta inmunológica disfuncional y el avance crónico de la infección por VHC (Salter et al., 2013).

La eliminación de VHC por terapias AADs está asociada con una disminución de la gravedad de la infección a lo largo del tratamiento, asociación que también se ha visto en pacientes coinfectados por VIH/VHC. En los resultados de este estudio, los niveles de IL6 e IL8 se mantuvieron consistentemente mayores en el genotipo CC en el grupo HCC, pero no en la población global (Medrano et al., 2021). Además de esto, el estudio indica que la reducción de estos marcadores tras el tratamiento con AADs puede relacionarse con una mejoría de los procesos fibróticos. La correlación entre estos indicadores y el SASP podría implicar un incremento en el riesgo de desarrollar cirrosis hepática y sus comorbilidades relacionadas en el grupo HCC con genotipo CC.

En relación con los niveles plasmáticos de factores de crecimiento, HGF experimentó un incremento notable a nivel global en el genotipo CC. No obstante, no se detectó ninguna relación estadísticamente significativa entre HCC y este biomarcador. HGF favorece la regeneración hepática, pero también se ha relacionado con el avance de la fibrosis. Pese a que algunos estudios sugieren que este factor podría tener un papel protector contra la fibrosis hepática en la infección por VHC, en otros se indica que HGF se relaciona más con una regeneración celular tras el daño hepático (Márquez-Coello et al., 2021). La elevación de IL13 e IL4 en el grupo HCC, así como la ausencia de un aumento considerable de HGF, indicarían que, en estos pacientes de estado crónico, el papel de HGF podría ser insuficiente para revertir el daño fibrótico.

Por otro lado, el factor de crecimiento VEGFA se mantuvo significativamente más elevado para el genotipo CC que para CT/TT a nivel global. Este marcador está asociado a una progresión tumoral en el contexto de una monoinfección por VHC (Wu et al., 2015). Por lo tanto, el aumento de sus niveles plasmáticos contrastaría parcialmente con la hipótesis planteada en este estudio, es decir, el genotipo CC no tendría un papel favorable respecto a este marcador. Sorprendentemente, este aumento no se observó entre los portadores de genotipo CC en el grupo HCC.

Los valores de EGF y FGF-2 se vieron elevados en genotipo CC tanto a nivel global como dentro del grupo HCC, especialmente los niveles de EGF, con un aumento de más del doble en individuos HCC. Esto se podría asociar con un perfil protector o de mejor pronóstico en pacientes coinfectados por VIH/VHC con genotipo CC, dado que, según la literatura, se ha evidenciado que el EGF muestra una correlación inversa con el APRI (índice utilizado para evaluar fibrosis hepática), lo que indica que niveles más altos de EGF están asociados con una menor fibrosis o daño hepático (Keating et al., 2017)

A excepción de los factores de crecimiento HGF y VEGFA, todos los biomarcadores elevados significativamente en el análisis global para el genotipo CC lo estaban también en PVIH con infección crónica por VHC, mientras que no en los grupos AE y cVIH. Esto señala que las variaciones detectadas en nuestra cohorte están claramente determinadas por la condición de infección de las personas. Dada la escasa persistencia de los marcadores en el plasma tras la eliminación de la infección, es esperable que las diferencias más significativas solo se registren en el grupo con infección activa. Nuestros hallazgos indican que el genotipo CC podría contribuir a mejorar la homeostasis de los marcadores plasmáticos pro- y anti-inflamatorios en el marco de la coinfección VHI/VHC. Durante la investigación, se registró un incremento notable de diversos marcadores, algunos vinculados a procesos pro-fibróticos y otros con funciones de protección frente al avance de la enfermedad hepática. Por ejemplo, un aumento de IL13 e IL4, vinculados al desarrollo de fibrosis en la población infectada por VIH/VHC, en el grupo HCC con genotipo CC. No obstante, la elevación de EGF y FGF2 en PVIH con infección crónica por VHC y genotipo CC, principalmente EGF, sugiere una actividad protectora contra el desarrollo de fibrosis. Por ende, estos resultados sugieren que en individuos con genotipo CC podría presentarse una dinámica de marcadores favorables y desfavorables que intenten modular la progresión de la fibrosis durante la infección crónica por VHC.

En cuanto a las limitaciones del estudio, una de las principales se basó en la distribución desigual de pacientes en los grupos AE y HCC, una característica inevitable considerando que el genotipo CC se vincula a una mayor capacidad de aclaramiento del VHC. Además, el hecho de que solo el grupo HCC presentaba una infección activa por VHC no controlada en el momento del estudio, ha podido influir en la detección de diferencias significativas a nivel plasmático en el resto de los grupos. Esta heterogeneidad en la población de estudio limita la generalización de los resultados, pero destaca el potencial papel protector del genotipo CC en PVIH que cronifican la infección por VHC.

Este estudio destaca que existe un equilibrio entre los marcadores plasmáticos inmunológicos, tanto inflamatorios como de estrés oxidativo, en PVIH con genotipo CC e infección crónica por VHC. Dada la complejidad de las interacciones entre dichos marcadores, estos resultados abren la puerta a un análisis más exhaustivo de los marcadores destacados en este estudio, así como del perfil inmune celular de las PVIH coinfectadas con VHC, para poder determinar la implicación del genotipo favorable a largo plazo en aquellos pacientes que no consiguen eliminar el VHC. Un conocimiento del perfil inmune plasmático y celular asociado con el perfil genético de los pacientes, en este caso el polimorfismo rs12979860-IFNL4, puede ser fundamental en el pronto manejo de la infección por VHC en pacientes coinfectados.

6. Conclusiones

1. El genotipo CC se asocia con una mayor probabilidad de eliminación espontánea del VHC.
2. Las PVIH con infección crónica por VHC y genotipo CC presentan una disminución en sus niveles de estrés oxidativo, asociado con una protección contra el daño hepático.
3. La presencia de marcadores con efectos tanto proinflamatorios como antiinflamatorios en el genotipo CC, especialmente remarcables en PVIH con infección crónica por VHC, indica que puede haber un equilibrio dinámico en la respuesta inmune.

7. Bibliografía

- 1- Jean L Mbisa, Zena Lapp, David F Bibby, Laura T Phillips, Carmen F Manso, Simon Packer, Ruth Simmons, Kathryn Harris, Jaiganesh Mohan, Lalitha Chinnappan, Thomas Leitner, Daniel Bradshaw, Identification of 2 Novel Subtypes of Hepatitis C Virus Genotype 8 and a Potential New Genotype Successfully Treated With Direct Acting Antivirals, The Journal of Infectious Diseases, 2024,, jiae253, <https://doi.org/10.1093/infdis/jiae253>
- 2- Smith, D, B,, Bukh, J,, Kuiken, C,, Muerhoff, A, S,, Rice, C, M,, Stapleton, J, T,, & Simmonds, P, (2014), Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource, Hepatology, 59(1), <https://doi.org/10.1002/hep.26744>
- 3- Dubuisson, J,, & Cosset, F, L, (2014), Virology and cell biology of the hepatitis C virus life cycle - An update, In Journal of Hepatology (Vol, 61, Issue 1), <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.06.031>
- 4- Zhao, L, J,, He, S, F,, Liu, Y,, Zhao, P,, Bian, Z, Q,, & Qi, Z, T, (2016), Inhibition of STAT Pathway Impairs Anti-Hepatitis C Virus Effect of Interferon Alpha, Cellular Physiology and Biochemistry, 40(1–2), <https://doi.org/10.1159/000452526>
- 5- Esbjörnsson, J,, Månsson, F,, Kvist, A,, Isberg, P, E,, Nowroozalizadeh, S,, Biague, A, J,, da Silva, Z, J,, Jansson, M,, Fenyö, E, M,, Norrgren, H,, & Medstrand, P, (2014), Effect of HIV-2 infection on HIV-1 disease progression and mortality, In AIDS (Vol, 28, Issue 4), <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000142>
- 6- Esbjörnsson, J,, Månsson, F,, Kvist, A,, Isberg, P, -E,, Nowroozalizadeh, S,, Biague, A, J,, da Silva, Z, J,, Jansson, M,, Fenyö, E, M,, Norrgren, H,, & Medstrand, P, (2012), Inhibition of HIV-1 Disease Progression by Contemporaneous HIV-2 Infection, New England Journal of Medicine, 367(3), <https://doi.org/10.1056/nejmoa1113244>
- 7- Yapo, V,, Majumder, K,, Tedbury, P, R,, Wen, X,, Ong, Y, T,, Johnson, M, C,, & Sarafianos, S, G, (2023), HIV-2 inhibits HIV-1 gene expression via two independent mechanisms during cellular co-infection, Journal of Virology, 97(12), <https://doi.org/10.1128/jvi.01870-22>
- 8- WHO , 2024, Global hepatitis report 2024: action for access in low- and middle-income countries, World Health Organization, <https://www.who.int/publications/i/item/9789240091672>
- 9- HIV statistics, globally and by WHO region, 2024 - World Health Organization https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/j0482-who-ias-hiv-statistics-aw-1-final-ys.pdf?sfvrsn=61d39578_3
- 10- World Health Organization, (2016), Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021, Towards ending viral hepatitis, In Geneva: World Health Organization (Issue June),

- 11- Scott, N., Stoové, M., Wilson, D, P., Keiser, O., El-Hayek, C., Doyle, J., & Hellard, M, (2018), Eliminating hepatitis C virus as a public health threat among HIV-positive men who have sex with men: A multi-modelling approach to understand differences in sexual risk behaviour: A, Journal of the International AIDS Society, 21(1), <https://doi.org/10.1002/jia2.25059>
- 12- Platt, L., Easterbrook, P., Gower, E., McDonald, B., Sabin, K., McGowan, C., Yanny, I., Razavi, H., & Vickerman, P, (2016), Prevalence and burden of HCV co-infection in people living with HIV: A global systematic review and meta-analysis, The Lancet Infectious Diseases, 16(7), [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00485-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00485-5)
- 13- Smit, C., Boyd, A., Rijnders, B, J, A., van de Laar, T, J, W., Leyten, E, M., Bierman, W, F., Brinkman, K., Claassen, M, A, A., den Hollander, J., Boerekamps, A., Newsum, A, M., Schinkel, J., Prins, M., Arends, J, E., op de Coul, E, L, M., van der Valk, M., Reiss, P., Geerlings, S, E., Goorhuis, A., ... Witte, E, C, (2021), HCV micro-elimination in individuals with HIV in the Netherlands 4 years after universal access to direct-acting antivirals: a retrospective cohort study, The Lancet HIV, 8(2), [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(20\)30301-5](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(20)30301-5)
- 14- Monforte, A, D, A., Cozzi-Lepri, A., Castagna, A., Antinori, A., de Luca, A., Mussini, C., Caputo, S, Io, Arlotti, M., Magnani, G., Pellizzer, G., Maggiolo, F., & Puoti, M, (2009), Risk of developing specific aids-defining illnesses in patients coinfectd with HIV and hepatitis c virus with or without liver cirrhosis, Clinical Infectious Diseases, 49(4), <https://doi.org/10.1086/603557>
- 15- Cartwright, E, J., Patel, P., Kamili, S., & Wester, C, (2023), Updated Operational Guidance for Implementing CDC's Recommendations on Testing for Hepatitis C Virus Infection, MMWR, Morbidity and Mortality Weekly Report, 72(28), <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7228a2>
- 16- Zhou, K., & Terrault, N, A, (2020), Gaps in Viral Hepatitis Awareness in the United States in a Population-based Study, Clinical Gastroenterology and Hepatology, 18(1), <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2019.05.047>
- 17- Fonner, V, A., Sands, A., Figueroa, C., Baggaley, R., Quinn, C., Jamil, M, S., & Johnson, C, (2020), Country adherence to WHO recommendations to improve the quality of HIV diagnosis: a global policy review, In BMJ Global Health (Vol, 5, Issue 5), <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2019-001939>
- 18- Marshall, A, D., Willing, A, R., Kairouz, A., Cunningham, E, B., Wheeler, A., O'Brien, N., Perera, V., Ward, J, W., Hiebert, L., Degenhardt, L., Hajarizadeh, B., Colledge, S., Hickman, M., Jawad, D., Lazarus, J, v., Matthews, G, v., Scheibe, A., Vickerman, P., Dore, G, J., ... Uka, T, (2024), Direct-acting antiviral therapies for hepatitis C infection: global registration, reimbursement, and restrictions, In The Lancet Gastroenterology and Hepatology (Vol, 9, Issue 4), [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(23\)00335-7](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(23)00335-7)
- 19- Fanciulli, C., Berenguer, J., Busca, C., Vivancos, M, J., Téllez, M, J., Domínguez, L., Domingo, P., Navarro, J., Santos, J., Iribarren, J, A., Morano, L., Artero, A., Moreno, J.,

- Rivero-Román, A., Santos, I., Giner, L., Armiñanzas, C., Montero, M., Manzardo, C., ... Esteban, M, C, (2022), Epidemiological trends of HIV/HCV coinfection in Spain, 2015–2019, *HIV Medicine*, 23(7), <https://doi.org/10.1111/hiv.13229>
- 20- Laiwatthanapaisan, R., & Sirinawasatien, A, (2021), Current treatment for hepatitis C virus/human immunodeficiency virus coinfection in adults, *World Journal of Clinical Cases*, 9(18), <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i18.4491>
- 21- Naggie, S., Lusk, S., Thompson, J, W., Mock, M., Moylan, C., Lucas, J, E., Dubois, L., St John-Williams, L., Moseley, M, A., & Patel, K, (2020), Metabolomic signature as a predictor of liver disease events in patients with HIV/HCV coinfection, *Journal of Infectious Diseases*, 222(12), <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa316>
- 22- Rohrbach, J., Robinson, N., Harcourt, G., Hammond, E., Gaudieri, S., Gorgievski, M., Telenti, A., Keiser, O., Günthard, H, F., Hirschel, B., Hoffmann, M., Bernasconi, E., Battegay, M., Furrer, H., Klennerman, P., Rauch, A., Böni, J., Bucher, H, C., Bürgisser, P., ... Yerly, S, (2010), Cellular immune responses to HCV core increase and HCV RNA levels decrease during successful antiretroviral therapy, *Gut*, 59(9), <https://doi.org/10.1136/gut.2009.205971>
- 23- Millman, A, J., Luo, Q., Nelson, N, P., Vellozzi, C., & Weiser, J, (2020), Missed opportunities for prevention and treatment of hepatitis C among persons with HIV/HCV coinfection, *AIDS Care - Psychological and Socio-Medical Aspects of AIDS/HIV*, 32(7), <https://doi.org/10.1080/09540121.2019.1668533>
- 24- Ministerio de Sanidad (2023), Plan Estratégico para la Prevención y Control de la Infección por el VIH y las ITS en España 2021-2030, <https://www.sanidad.gob.es/home.htm>
- 25- Luckheeram, R, V., Zhou, R., Verma, A, D., & Xia, B, (2012), CD4 +T cells: Differentiation and functions, In *Clinical and Developmental Immunology* (Vol, 2012), <https://doi.org/10.1155/2012/925135>
- 26- Taniuchi, I, (2018), CD4 Helper and CD8 Cytotoxic T Cell Differentiation, *Annual Review of Immunology*, 36, <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053411>
- 27- Kim, A, Y., zur Wiesch, J, S., Kuntzen, T., Timm, J., Kaufmann, D, E., Duncan, J, E., Jones, A, M., Wurcel, A, G., Davis, B, T., Gandhi, R, T., Robbins, G, K., Allen, T, M., Chung, R, T., Lauer, G, M., & Walker, B, D, (2006), Impaired hepatitis C virus-specific T cell responses and recurrent hepatitis C virus in HIV coinfection, *PLoS Medicine*, 3(12), <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030492>
- 28- Kim, A, Y., Lauer, G, M., Ouchi, K., Addo, M, M., Lucas, M., zur Wiesch, J, S., Timm, J., Boczanowski, M., Duncan, J, E., Wurcel, A, G., Casson, D., Chung, R, T., Draenert, R., Klennerman, P., & Walker, B, D, (2005), The magnitude and breadth of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells depend on absolute CD4+ T-cell count in individuals coinfecting with HIV-1, *Blood*, 105(3), <https://doi.org/10.1182/blood-2004-06-2336>
- 29- Salloum, S., Holmes, J, A., Jindal, R., Bale, S, S., Brisac, C., Alatrakchi, N., Lidofsky, A., Kruger, A, J., Fusco, D, N., Luther, J., Schaefer, E, A., Lin, W., Yarmush, M, L., & Chung,

- R, T, (2016), Exposure to human immunodeficiency virus/hepatitis C virus in hepatic and stellate cell lines reveals cooperative profibrotic transcriptional activation between viruses and cell types, *Hepatology*, 64(6), <https://doi.org/10.1002/hep.28766>
- 30- Mosoian, A., Zhang, L., Hong, F., Cunyat, F., Rahman, A., Bhalla, R., Panchal, A., Saiman, Y., Fiel, M. I., Florman, S., Roayaie, S., Schwartz, M., Branch, A., Stevenson, M., & Bansal, M. B. (2017), Frontline Science: HIV infection of Kupffer cells results in an amplified proinflammatory response to LPS, *Journal of Leukocyte Biology*, 101(5), <https://doi.org/10.1189/jlb.3hi0516-242r>
- 31- Zhang, L., & Bansal, M. B. (2020), Role of Kupffer Cells in Driving Hepatic Inflammation and Fibrosis in HIV Infection, *Frontiers in Immunology*, 11, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01086>
- 32- Deng, A., Chen, C., Ishizaka, Y., Chen, X., Sun, B., & Yang, R. (2014), Human immunodeficiency virus type 1 Vpr increases hepatitis C virus RNA replication in cell culture, *Virus Research*, 184, <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.02.017>
- 33- Schank, M., Zhao, J., Wang, L., Nguyen, L. N. T., Cao, D., Dang, X., Khanal, S., Zhang, J., Zhang, Y., Wu, X. Y., Ning, S., Gazzar, M. el, Moorman, J. P., & Yao, Z. Q. (2021), Oxidative Stress Induces Mitochondrial Compromise in CD4 T Cells From Chronically HCV-Infected Individuals, *Frontiers in Immunology*, 12, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.760707>
- 34- Nguyen, L. N., Zhao, J., Cao, D., Dang, X., Wang, L., Lian, J., Zhang, Y., Jia, Z., Wu, X. Y., Morrison, Z., Xie, Q., Ji, Y., Zhang, Z., el Gazzar, M., Ning, S., Moorman, J. P., & Yao, Z. Q. (2018), Inhibition of TRF2 accelerates telomere attrition and DNA damage in naïve CD4 T cells during HCV infection, *Cell Death and Disease*, 9(9), <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0897-y>
- 35- Zampino, R., Marrone, A., Restivo, L., Guerrero, B., Sellitto, A., Rinaldi, L., Romano, C., & Adinolfi, L. E. (2013), Chronic HCV infection and inflammation: Clinical impact on hepatic and extra-hepatic manifestations, In *World Journal of Hepatology* (Vol. 5, Issue 10), <https://doi.org/10.4254/wjh.v5.i10.528>
- 36- Gorgoulis, V., Adams, P. D., Alimonti, A., Bennett, D. C., Bischof, O., Bishop, C., Campisi, J., Collado, M., Evangelou, K., Ferbeyre, G., Gil, J., Hara, E., Krizhanovsky, V., Jurk, D., Maier, A. B., Narita, M., Niedernhofer, L., Passos, J. F., Robbins, P. D., ... Demaria, M. (2019), Cellular Senescence: Defining a Path Forward, In *Cell* (Vol. 179, Issue 4), <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.005>
- 37- Giannakoulis, V. G., Dubovan, P., Papoutsis, E., Kataki, A., & Koskinas, J. (2021), Senescence in hbv-, hcv-and nafld- mediated hepatocellular carcinoma and senotherapeutics: Current evidence and future perspective, In *Cancers* (Vol. 13, Issue 18), <https://doi.org/10.3390/cancers13184732>
- 38- Di Micco, R., Krizhanovsky, V., Baker, D., & d'Adda di Fagagna, F. (2021), Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities, In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 22, Issue 2), <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00314-w>

- 39- Zhao, S., Qiao, Z., Pfeifer, R., Pape, H, C., Mao, K., Tang, H., Meng, B., Chen, S., & Liu, H, (2024), Modulation of fracture healing by senescence-associated secretory phenotype (SASP): a narrative review of the current literature, In European Journal of Medical Research (Vol, 29, Issue 1), <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01604-7>
- 40- Coppé, J, P., Desprez, P, Y., Krtolica, A., & Campisi, J, (2010), The senescence-associated secretory phenotype: The dark side of tumor suppression, In Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease (Vol, 5), <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-121808-102144>
- 41- González-Gualda, E., Baker, A, G., Fruk, L., & Muñoz-Espín, D, (2021), A guide to assessing cellular senescence in vitro and in vivo, FEBS Journal, 288(1), <https://doi.org/10.1111/febs.15570>
- 42- Vernot, J, P, (2020), Senescence-Associated Pro-inflammatory Cytokines and Tumor Cell Plasticity, In Frontiers in Molecular Biosciences (Vol, 7), <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00063>
- 43- Fox, B, A., Sheppard, P, O., & O'Hara, P, J, (2009), The role of genomic data in the discovery, annotation and evolutionary interpretation of the interferon-lambda family, PLoS ONE, 4(3), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004933>
- 44- Prokunina-Olsson, L., Muchmore, B., Tang, W., Pfeiffer, R, M., Park, H., Dickensheets, H., Hergott, D., Porter-Gill, P., Mummy, A., Kohaar, I., Chen, S., Brand, N., Tarway, M., Liu, L., Sheikh, F., Astemborski, J., Bonkovsky, H, L., Edlin, B, R., Howell, C, D., ... O'Brien, T, R, (2013), A variant upstream of IFNL3 (IL28B) creating a new interferon gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus, Nature Genetics, 45(2), <https://doi.org/10.1038/ng.2521>
- 45- O'Brien, T, R., Pfeiffer, R, M., Paquin, A., Lang Kuhs, K, A., Chen, S., Bonkovsky, H, L., Edlin, B, R., Howell, C, D., Kirk, G, D., Kuniholm, M, H., Morgan, T, R., Strickler, H, D., Thomas, D, L., & Prokunina-Olsson, L, (2015), Comparison of functional variants in IFNL4 and IFNL3 for association with HCV clearance, Journal of Hepatology, 63(5), <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.06.035>
- 46- de Re, V., Tornesello, M, L., de Zorzi, M., Caggiari, L., Pezzuto, F., Leone, P., Racanelli, V., Lauletta, G., Zanussi, S., Repetto, O., Gagnani, L., Rossi, F, M., Dolcetti, R., Zignego, A, L., Buonaguro, F, M., & Steffan, A, (2021), PDCD1 and IFNL4 genetic variants and risk of developing hepatitis C virus-related diseases, Liver International, 41(1), <https://doi.org/10.1111/liv.14667>
- 47- Fang, M, Z., Jackson, S, S., & O'Brien, T, R, (2020), IFNL4: Notable variants and associated phenotypes,, In Gene (Vol, 730), <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144289>
- 48- Sung, P, S., Hong, S, H., Chung, J, H., Kim, S., Park, S, H., Kim, H, M., Yoon, S, K., & Shin, E, C, (2017), IFN-λ4 potently blocks IFN-α signalling by ISG15 and USP18 in hepatitis C virus infection, Scientific Reports, 7(1), <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04186-7>

- 49- Machmach, K., Abad-Molina, C., Romero-Sánchez, M, C., Abad, M, A., Ferrando-Martínez, S., Genebat, M., Pulido, I., Viciano, P., González-Escribano, M, F., Leal, M., Ruiz-Mateos, E., & HIV Controllers Consortium of the AIDS Spanish Network (2013), IL28B single-nucleotide polymorphism rs12979860 is associated with spontaneous HIV control in white subjects, *The Journal of infectious diseases*, 207(4), 651–655, <https://doi.org/10.1093/infdis/jis717>
- 50- Jögeda, E, L., Avi, R., Pauskar, M., Kallas, E., Karki, T., des Jarlais, D., Uusküla, A., Toompere, K., Lutsar, I., & Huik, K, (2018), Association of IFNλ4 rs12979860 polymorphism with the acquisition of HCV and HIV infections among people who inject drugs, *Journal of Medical Virology*, 90(11), <https://doi.org/10.1002/jmv.25258>
- 51- Abdel-Hakeem, M, S., & Shoukry, N, H, (2014), Protective immunity against hepatitis C: Many shades of gray, In *Frontiers in Immunology* (Vol, 5, Issue JUN), <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00274>
- 52- Grakoui, A., Shoukry, N, H., Woollard, D, J., Han, J, H., Hanson, H, L., Ghayeb, J., Murthy, K, K., Rice, C, M., & Walker, C, M, (2003), HCV Persistence and Immune Evasion in the Absence of Memory T Cell Help, *Science*, 302(5645), <https://doi.org/10.1126/science.1088774>
- 53- Huang, X., Liang, H., Fan, X., Zhu, L., & Shen, T, (2016), Liver Damage in Patients with HCV/HIV Coinfection Is Linked to HIV-Related Oxidative Stress, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, <https://doi.org/10.1155/2016/8142431>
- 54- Garcia-Broncano, P., Medrano, L, M., Berenguer, J., González-García, J., Jiménez-Sousa, M, Á., Carrero, A., Hontañón, V., Guardiola, J, M., Crespo, M., Quereda, C., Sanz, J., García-Gómez, A, B., Jimenez, J, L., Resino, S., Carrero, A., Miralles, P., López, J, C., Parras, F., Padilla, B., ... Esteban, H, (2018), Dysregulation of the immune system in HIV/HCV-coinfected patients according to liver stiffness status, *Cells*, 7(11), <https://doi.org/10.3390/cells7110196>
- 55- Onabajo, O, O., Wang, F., Lee, M, H., Florez-Vargas, O., Obajemu, A., Tanikawa, C., Vargas, J, M., Liao, S, F., Song, C., Huang, Y, H., Shen, C, Y., Banday, A, R., O'Brien, T, R., Hu, Z., Matsuda, K., & Prokunina-Olsson, L, (2021), Intracellular Accumulation of IFN-λ4 Induces ER Stress and Results in Anti-Cirrhotic but Pro-HCV Effects, *Frontiers in Immunology*, 12, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.692263>
- 56- Chernoff, A, E., Granowitz, E, v, Shapiro, L., Vannier, E., Lonnemann, G., Angel, J, B., Kennedy, J, S., Rabson, A, R., Wolff, S, M., & Dinarello, C, A, (1995), A randomized, controlled trial of IL-10 in humans, Inhibition of inflammatory cytokine production and immune responses, *The Journal of Immunology*, 154(10), <https://doi.org/10.4049/jimmunol.154.10.5492>
- 57- Amoras, E, da S, G., Monteiro Gomes, S, T., Freitas Queiroz, M, A., de Araújo, M, S, M., de Araújo, M, T, F., da Silva Conde, S, R, S., Ishak, R., & Rosário Vallinoto, A, C, (2020), Intrahepatic interleukin 10 expression modulates fibrinogenesis during chronic

- HCV infection, PLoS ONE, 15(10 October), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241199>
- 58- Hernandez-Santillan, M., Martínez-Castillo, M., Santana-Vargas, D., Medina-Avila, Z., Hernández-Barragan, A., Limón-Castillo, J., Pérez-Hernández, J, L., la Tijera, F, H,-D., Cordero-Pérez, P., Muñoz-Espinoza, L., Córdova-Gallardo, J., Kershenobich, D., & Gutiérrez-Reyes, G, (2022), IL-10 Y TNF- α IN SERUM OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C AND HEPATIC DAMAGE CHRONIC AND ACUTE FOR ALCOHOL CONSUMPTION, Annals of Hepatology, 27, <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2021.100638>
- 59- Salter, M, L., Lau, B., Mehta, S, H., Go, V, F., Leng, S., & Kirk, G, D, (2013), Correlates of elevated interleukin-6 and C-reactive protein in persons with or at high risk for HCV and HIV infections, Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 64(5), <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e3182a7ee2e>
- 60- Medrano, L, M., Berenguer, J., Salguero, S., González-García, J., Díez, C., Hontañón, V., Garcia-Broncano, P., Ibañez-Samaniego, L., Bellón, J, M., Jiménez-Sousa, M, A., & Resino, S, (2021), Successful HCV Therapy Reduces Liver Disease Severity and Inflammation Biomarkers in HIV/HCV-Coinfected Patients With Advanced Cirrhosis: A Cohort Study, Frontiers in Medicine, 8, <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.615342>
- 61- Márquez-Coello, M., Arizcorreta, A., Rodríguez-Pardo, M., Illanes-Álvarez, F., Márquez, D., Cuesta-Sancho, S., & Girón-González, J, A, (2021), Modifications of liver stiffness and CXCL4, TGF- β 1 and HGF are similar in HCV- and HIV/HCV-infected patients after DAAs, Scientific Reports, 11(1), <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89370-6>
- 62- Wu, J, Q., Saksena, M, M., Soriano, V., Vispo, E., & Saksena, N, K, (2015), Differential regulation of cytotoxicity pathway discriminating between HIV, HCV mono- and co-infection identified by transcriptome profiling of PBMCs, Virology Journal, 12(1), <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0236-6>
- 63- Keating, S, M., Dodge, J, L., Norris, P, J., Heitman, J., Gange, S, J., French, A, L., Glesby, M, J., Edlin, B, R., Latham, P, S., Villacres, M, C., Greenblatt, R, M., & Peters, M, G, (2017), The effect of HIV infection and HCV viremia on inflammatory mediators and hepatic injury—The Women’s Interagency HIV Study, PLoS ONE, 12(9), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181004>

8. Anexos

Todos los Anexos de este estudio pueden ser verificados en:
<https://drive.google.com/drive/folders/1Xif5IbXIP8xkPKzoab4hM8BwFDsRdY23?usp=s>
haring

9. Declaración obligatoria del uso de herramientas de IA

El autor del presente documento declara el uso de la herramienta ChatGPT en el desarrollo y redacción del mismo, La utilidad de la herramienta en cuestión se puede clasificar con un nivel de uso medio, la función de la herramienta fue: Traductor de documentos, revisión de sintaxis en código de R y revisión del formato de referencia empleado, La edición del contenido según fuera necesario por el autor y la responsabilidad del contenido se asume por el mismo en la entrega de esta memoria.

OpenAI. (2024). ChatGPT (versión 3.5) [Modelo de lenguaje de inteligencia artificial].
<https://openai.com/chatgpt>

22386001_tfm_ManuelAlejandroRubianoGiraldo_SAL_VLA (1).pdf

ORIGINALITY REPORT

1 %	1 %	0 %	%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1 idus.us.es	1 %
Internet Source	

Exclude quotes	On	Exclude matches	< 1 %
Exclude bibliography	On		