

**UNIVERSITAT AUTÓNOMA DE BARCELONA**  
**DEPARTAMENT DE MEDICINA**

*TESIS DOCTORAL*

**TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA C EN PACIENTES  
COINFECTADOS POR VIH**

**Manuel Crespo Casal**

Directores:

Juan Ignacio Esteban Mur

Albert Pahissa Berga

Septiembre 2007

A Carolina, Laura, Lucía, Blanca, Álvaro y Anna. Mi patria.

A mi madre, por su entrega incondicional y generosa.

A la memoria de mi padre, cruelmente atrapado durante los últimos largos años de su vida en la tinieblas del Alzheimer.

A mis hermanos, que me devuelven el recuerdo de tiempos pasados que también fueron buenos.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a los directores de esta tesis, Dr Juan I. Esteban y Dr. Albert Pahissa, el haber depositado en mí su confianza.

Además, debo mostrar mi agradecimiento a un numeroso grupo de personas, con las que he compartido el camino durante los últimos años. Hacer mención individual de aquellos a los que me une una mayor afinidad o con los que he trabado vínculos más sólidos me obligaría a excluir injustamente de la lista a otros que, de uno u otro modo, han contribuido a enriquecer mi existencia y a conocerme mejor a mí mismo. A todos ellos, sinceramente, gracias.

## **INDICE**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	7
<b>2. PRIMER ESTUDIO:</b> <i>Comparación de la eficacia y la seguridad de peginterferon alfa-2b y ribavirina versus interferon alfa-2b y ribavirina en el tratamiento del VHC en pacientes co-infectados por VIH</i>	8
2.1. Justificación y objetivos del primer estudio	9-10
2.2. Metodología del primer estudio	10-14
2.3. Resultados del primer estudio	14-30
<b>3. SEGUNDO ESTUDIO:</b> <i>Utilidad de la respuesta virológica rápida para individualizar la duración del tratamiento del VHC, genotipo 3, en pacientes co-infectados por VIH</i>	31
3.1. Justificación y objetivos del segundo estudio	32
3.2. Metodología del segundo estudio	33-34
3.3. Resultados del segundo estudio	34-38
<b>4. TERCER ESTUDIO:</b> <i>Utilidad de la monitorización precoz de los niveles séricos de ribavirina en la optimización del tratamiento del VHC en pacientes co-infectados por VIH</i>	39
4.1. Justificación y objetivos del tercer estudio	40
4.2. Metodología del tercer estudio	41-43
4.3. Resultados del tercer estudio	43-50
<b>5. CUARTO ESTUDIO:</b> <i>Eficacia de la combinación peginterferon alfa-2b y ribavirina en el tratamiento del VHC en pacientes co-infectados por VIH con fracaso previo a interferon y ribavirina</i>	51
5.1. Justificación y objetivos del cuarto estudio	52
5.2. Metodología del cuarto estudio	53-55
5.3. Resultados del cuarto estudio	55-60
<b>6. DISCUSIÓN</b>	61-74
<b>7. CONCLUSIONES</b>	75-78
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	79-85
<b>9. PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS</b>	86-106

## 1. INTRODUCCIÓN

La coinfección por el virus de la hepatitis C (VHC) y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es muy prevalente en los pacientes que adquirieron el VIH por vía parenteral, oscilando entre el 75 y 95% de pacientes con antecedentes de drogadicción intravenosa y hemofílicos tratados con concentrados de factores no inactivados <sup>1, 2</sup>. La mayor supervivencia asociada al uso del tratamiento antiretroviral de gran actividad (TARGA), <sup>3, 4</sup> una progresión más rápida de la fibrosis hepática en pacientes coinfectados por VIH <sup>5 6-11</sup> y la potencial hepatotoxicidad de algunos fármacos antiretrovirales <sup>12, 13</sup> podrían explicar el aumento de la morbi-mortalidad, observado en los últimos años en pacientes coinfectados por VIH/VHC, asociado con por la enfermedad hepática terminal <sup>3, 7, 14</sup>. En consecuencia el tratamiento del VHC, en pacientes coinfectados por VIH, se ha convertido en una prioridad <sup>15</sup>

**2. PRIMER ESTUDIO: COMPARACIÓN DE LA EFICACIA Y LA SEGURIDAD DE PEGINTERFERON ALFA-2B Y RIBAVIRINA VERSUS INTERFERON ALFA-2B Y RIBAVIRINA EN EL TRATAMIENTO DEL VHC EN PACIENTES CO-INFECTADOS POR VIH**



## **2.1 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL PRIMER ESTUDIO**

Los estudios iniciales de tratamiento combinado del VHC en pacientes coinfectados por VIH sugerían una peor tasa de respuesta que en la población no infectada por VIH <sup>16</sup>. Así, dos ensayos multicéntricos de tratamiento con interferón (IFN) y ribavirina (RBV) en pacientes coinfectados, uno de la Asociación Americana para el estudio del SIDA (amfAR), en el que se trataron 107 pacientes con IFN alfa convencional y 800 mg de RBV, y otro de Hepatitis Resource Network (HRN-002) con 155 pacientes tratados con IFN alfa diario o tres veces por semana, en ambos casos asociado con RBV (800 mg/día) obtuvieron tasas de respuesta virológica mantenida muy inferiores (11 y 19 %) respecto a la observada en pacientes mono infectados. Los efectos secundarios fueron parecidos a los de pacientes mono infectados, aunque con una mayor incidencia de efectos adversos graves en pacientes coinfectados, lo que obligó a la suspensión precoz del tratamiento en 21-26 % de los casos. Respecto al impacto del tratamiento del VHC en la evolución del VIH, a pesar de una reducción del número absoluto de CD4 no se observaron infecciones oportunistas ni recurrencia de la replicación del VIH. Otros estudios unicéntricos, con menor número de pacientes, obtuvieron porcentajes de respuesta virológica mantenida superiores (21 al 40 %) con escasos efectos secundarios graves y menores porcentajes de retirada precoz del tratamiento. Finalmente, en el momento de iniciar el estudio, disponemos de datos preliminares que muestran una mayor eficacia del interferón pegilado combinado con RBV respecto a la pauta convencional, en pacientes mono infectados por VHC<sup>17</sup>. Sin embargo, desconocemos la eficacia y la

seguridad en pacientes coinfectados, por lo que es necesario, llevar a cabo estudios clínicos dirigidos a conocer la pauta de tratamiento del VHC más eficaz y más segura en pacientes coinfectados por VHC y VIH.

Los **objetivos** de este estudio fueron:

1. Comparar la eficacia, la tolerancia y la seguridad de la combinación Peg-IFN alfa 2-b y RBV vs. IFN alfa 2-b y RBV en el tratamiento del VHC en pacientes co-infectados por VIH. La eficacia de ambas pautas se valoró mediante el porcentaje de pacientes que obtuvieron una respuesta virológica mantenida (RVM), definida como ARN-VHC < 50 UI/mL 24 semanas después de finalizado el tratamiento. La seguridad y la tolerancia al tratamiento se valoraron mediante anamnesis y examen físico en cada visita, y mediante análisis bioquímicos y hematológicos.

2. Estudiar la dinámica de la respuesta virológica precoz. De modo específico, estudiar el valor de la respuesta virológica observada en las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento para la predicción de la respuesta virológica mantenida

## **2.2. METODOLOGÍA DEL PRIMER ESTUDIO**

### **Selección de pacientes**

Los principales criterios de inclusión en el estudio fueron edad comprendida entre 18 y 60 años, ARN-VHC > 1000 UI/mL, ALT elevada, recuento de linfocitos CD4+ 200/mm<sup>3</sup>, ARN-VIH indetectable o < 10.000 copias/mL en pacientes sin HAART. Se consideraron criterios de exclusión: tratamiento previo con IFN ó RBV; co-infección por VHB; consumo de alcohol > 60 g/día o drogadicción activa; infección oportunista en los 6 meses previos; cirrosis

descompensada; creatinina sérica > 1,5 veces el límite superior del intervalo de referencia; hemoglobina < 11 g/dL en mujeres ó < 12 g/dL en hombres; neutrófilos < 1500 células/mm<sup>3</sup>; antecedente de enfermedad psiquiátrica grave o enfermedad autoinmune activa.

### **Diseño del estudio**

Estudio abierto, aleatorizado, con un grupo control, llevado a cabo en nuestro centro. Los pacientes seleccionados se estratificaron de acuerdo al genotipo (genotipo 1/4 vs. 2/3) y sexo, y se distribuyeron de forma aleatoria, siguiendo un esquema de grupos secuenciales generado mediante un programa informático, en dos brazos de tratamiento: Peg-IFN alfa-2b (PegIntron, Schering-Plough, Kenilworth, NJ) 1.5 µg/kg/semana, administrado por vía subcutánea ó IFN alfa-2b (Intron A, Schering-Plough) subcutáneo, 3 M.U.I/ tres veces por semana. Todos los pacientes recibieron 400 mg de RBV cada 12 horas (Rebetol; Schering-Plough). Los pacientes con genotipo 2/3 recibieron 24 semanas de tratamiento combinado, mientras que los pacientes con genotipo 1/4, y ARN VHC <100 UI/mL en la semana 24 de tratamiento, completaron 48 semanas de tratamiento. Los pacientes con ARN-VHC detectable en la semana 24 de tratamiento se consideraron no respondedores y suspendieron el tratamiento. Finalizado el periodo de tratamiento, los pacientes fueron seguidos durante un periodo adicional de 24 semanas.

### **Valoración de la seguridad del tratamiento**

A todos los pacientes se les realizó semanalmente durante el primer mes y, posteriormente, con periodicidad mensual un examen físico y un análisis hematológico-bioquímico convencional, incluyendo determinación de lactato a partir de junio de 2001. Se determinó el ARN VHC, ARN VIH y las poblaciones

linfocitarias en las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup>, 24<sup>a</sup> y 48<sup>a</sup> de tratamiento, y en las semanas 8<sup>a</sup> y 24<sup>a</sup> post-tratamiento. En dichas semanas del estudio, se extrajeron muestras de sangre para la obtención de células mononucleares de sangre periférica que se conservaron a -80°C.

Se suspendió el tratamiento en caso de aparición de un efecto adverso grave o la aparición de una enfermedad definitoria de SIDA. Para el tratamiento de efectos adversos y alteraciones de laboratorio se permitió la reducción gradual de la dosis de RBV a 600mg ó 400 mg/día, del Peg-IFN alfa-2b a 1.0, 0.75 y 0.5 µg/kg/semana, y del IFN alfa-2b a 1.5 µg/kg/semana. Los pacientes continuaron en monoterapia con interferon en caso de retirada de la RBV. Se permitió el uso de factores hematopoyéticos, según el criterio del médico responsable

### **Valoración de la eficacia del tratamiento**

La medida principal de la eficacia en ambos grupos de tratamiento fue la respuesta virológica mantenida (RVM) definida como carga viral indetectable (ARN VHC < 50 UI/mL) 24 semanas después de finalizado el tratamiento. Los pacientes con ARN VHC desconocido al final del seguimiento se consideraron no respondedores (análisis por intención de tratamiento)

### **Análisis de laboratorio**

El análisis del ARN VHC se realizó mediante una técnica de PCR en tiempo real (RT-PCR) desarrollada en nuestro laboratorio<sup>18</sup> con un límite de detección de 100 UI/mL y un rango de linealidad de 5 log<sub>10</sub>. Al final del seguimiento, se verificó la RVM mediante un técnica de RT-PCR comercializada (Cobas Amplicor HCV v2.0; Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ). El genotipado del VHC se realizó mediante hibridación con sonda específica (INNO-LiPA;

Innogenetics, Antwerp, Belgium); la cuantificación del ARN VIH mediante una técnica de amplificación molecular comercializada basado en la secuenciación de ácidos nucleicos (NASBA assay; Organon Teknica, Bostel, Netherlands) con un límite de detección de 80 copias/mL. El análisis del lactato en sangre se efectuó de acuerdo con un método previamente descrito<sup>19</sup>.

### ***Cuantificación del ADN mitocondrial (mtDNA) en células mononucleares de sangre periférica***

La cuantificación del mtDNA en células mononucleares de sangre periférica se efectuó mediante una técnica de Southern blot, de acuerdo con la metodología previamente descrita<sup>20</sup>. La cuantificación relativa del mtDNA respecto al ADN nuclear (mtDNA/nDNA) se llevó a cabo mediante una técnica de RT-PCR asociada con un detector de secuencia (ABIPRISM 7700; Applied Biosystems, Foster City, CA) siguiendo el procedimiento previamente descrito<sup>21</sup>

### **Análisis estadístico**

El tamaño de muestra estimado para demostrar una RVM del 25% superior en el grupo de pacientes tratado con Peg-IFN (50% vs. 25%), con un poder estadístico del 80% y un riesgo alfa del 5% fue 116 pacientes (58 pacientes en cada grupo de tratamiento). Para la comparación de las variables continuas se utilizaron, según la distribución de la variable, el test T de Student o pruebas no paramétricas: U de Mann-Whitney o Test de Wilcoxon (valores apareados). La comparación de las variables categóricas se realizó mediante  $\chi^2$  ó el test exacto de Fisher. Mediante modelos de regresión logística se analizaron las variables asociadas con la RVM. Con los descensos de carga viral obtenidos en las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento, respecto al ARN VHC basal, realizamos un análisis mediante curvas ROC con la finalidad de obtener los

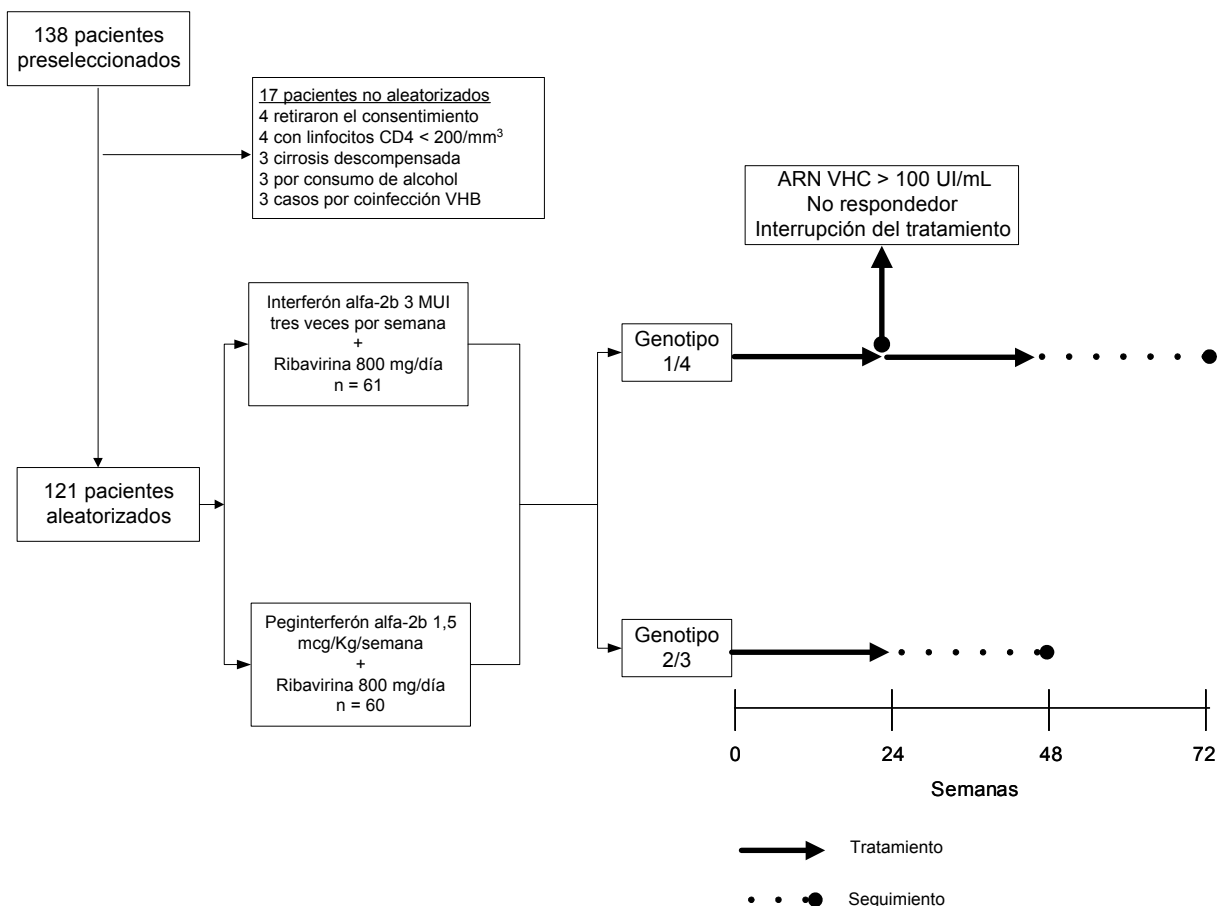
puntos de corte con mayor capacidad de discriminación entre pacientes respondedores y no respondedores en las mencionadas semanas de tratamiento. El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 11.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL; USA).

### 2.3. RESULTADOS DEL PRIMER ESTUDIO

#### Características de los pacientes

Desde Enero de 2001 hasta Abril de 2003 se valoraron 138 pacientes, de los que 121 cumplieron los criterios de inclusión establecidos y se distribuyeron aleatoriamente en los dos brazos de tratamiento (Figura 1).

**Figura 1.** Proceso de selección y distribución aleatoria de los pacientes en las dos ramas de tratamiento



Las características pre-tratamiento de los pacientes fueron similares en los dos grupos, con excepción del mayor índice de masa corporal en los pacientes asignados al brazo de tratamiento con IFN alfa-2b y RBV (Tabla 1)

### **Respuesta virológica**

Al final del tratamiento alcanzaron respuesta virológica el 60% (36/60) y el 39% (24/61) de los pacientes asignados al grupo de Peg-IFN alfa-2b e IFN alfa-2b, respectivamente ( $p = 0,037$ ) (Figura 2). En el periodo de seguimiento, recidivaron el 8% (3/36) y el 33% (8/24) de los pacientes que habían obtenido respuesta al final del tratamiento en ambos grupos, respectivamente ( $p = 0,02$ ). En consecuencia, obtuvieron una respuesta virológica mantenida (RVM) el 55% y el 26% de los pacientes tratados con Peg-IFN alfa-2b e IFN alfa-2b, respectivamente ( $p = 0,002$ ) (Figura 3). En el análisis estratificado por genotipos, de los pacientes con genotipo 1/4, alcanzaron una RVM el 46% de los tratados con Peg-IFN alfa-2b (genotipo 1: 45%; genotipo 4: 50%;  $p = 0,78$ ) y el 18% (genotipo 1: 14%; genotipo 4: 27%;  $p = 0,33$ ) de los pacientes tratados con IFN alfa-2b ( $p = 0,013$ ; para la comparación entre ambos grupo de tratamiento). En los pacientes con genotipo 2/3, obtuvieron una RVM el 71% y el 53% de los pacientes tratados con Peg-IFN alfa-2b e IFN alfa-2b, respectivamente ( $p = 0,12$ ) (Figura 3).

**Tabla 1.**

Variable <sup>a</sup>	IFN $\alpha$ -2b + RBV (N = 61)	Peg-IFN $\alpha$ -2b + RBV (N = 60)	P	
Edad (años)	39 $\pm$ 4	37 $\pm$ 6	0.12	
Sexo masculino, no. (%)	50 (82)	43 (72)	0.20	
Peso (Kg)	71,8 $\pm$ 11,4	66,5 $\pm$ 12,7	0.018	
Uso parenteral de drogas –no. (%)	51 (84)	45 (75)	0.09	
Años de infección por VHC <sup>‡</sup>	20 $\pm$ 4	20 $\pm$ 6	0.8	
ARN VHC				
• Media (log <sub>10</sub> U//mL)	6.1 $\pm$ 0.96	6.4 $\pm$ 0.8	0.28	
• >800,000 UI/mL –no. (%)	43 (70)	46 (77)	0.44	
HCV genotype [No (%)]				
1	29 (48)	29 (48)	0.78	
2	0	1 (2)		
3	21 (34)	20 (33)		
4	11 (18)	10 (17)		
ALT UI/L	136 $\pm$ 102	104 $\pm$ 69	0,140	
Albumin (g/L)	40.9 $\pm$ 4	41.7 $\pm$ 3.8	0.27	
$\gamma$ -Glutamil Transpeptidase (UI/L)	150 $\pm$ 109	146 $\pm$ 149	0.23	
Plaquetas (x 10 <sup>9</sup> /L)	174 $\pm$ 65	187 $\pm$ 62	0.28	
Media CD4+ (células/mm <sup>3</sup> )	608 $\pm$ 315	575 $\pm$ 254	0.53	
Media ARN VIH (log <sub>10</sub> copias/mL)	3.1 $\pm$ 0.6	2.9 $\pm$ 0.6	0.67	
ARN VIH < 80 copias/mL –no. (%)	54 (89)	56 (93)	0.95	
Tratamiento antiretroviral –no. (%)	55 (90)	55 (92)	0.97	
ITIAN	54 (89)	53 (88)	0.98	
	Zidovudina	20 (36)	15 (27)	
	Estavudina	24 (47)	26 (47)	
	Didanosina	10 (18)	10 (18)	
	Lamivudina	36 (59)	33 (55)	
	Abacavir	12 (20)	17 (28)	
ITINAN	37 (61)	33 (55)	0.66	
Inhibidores de proteasa	15 (25)	16 (27)	0.96	



### Notas de pié de página de la tabla 1

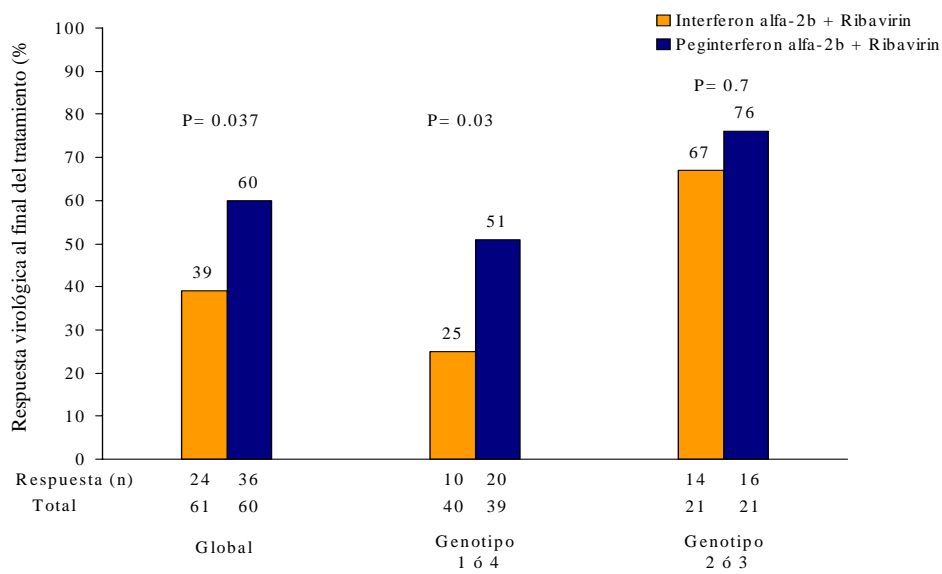
\* Las variable continuas se expresan como media  $\pm$  desviación estándar

‡ Intervalo transcurrido desde el inicio de la adicción a drogas por vía parenteral o la administración de factores de coagulación

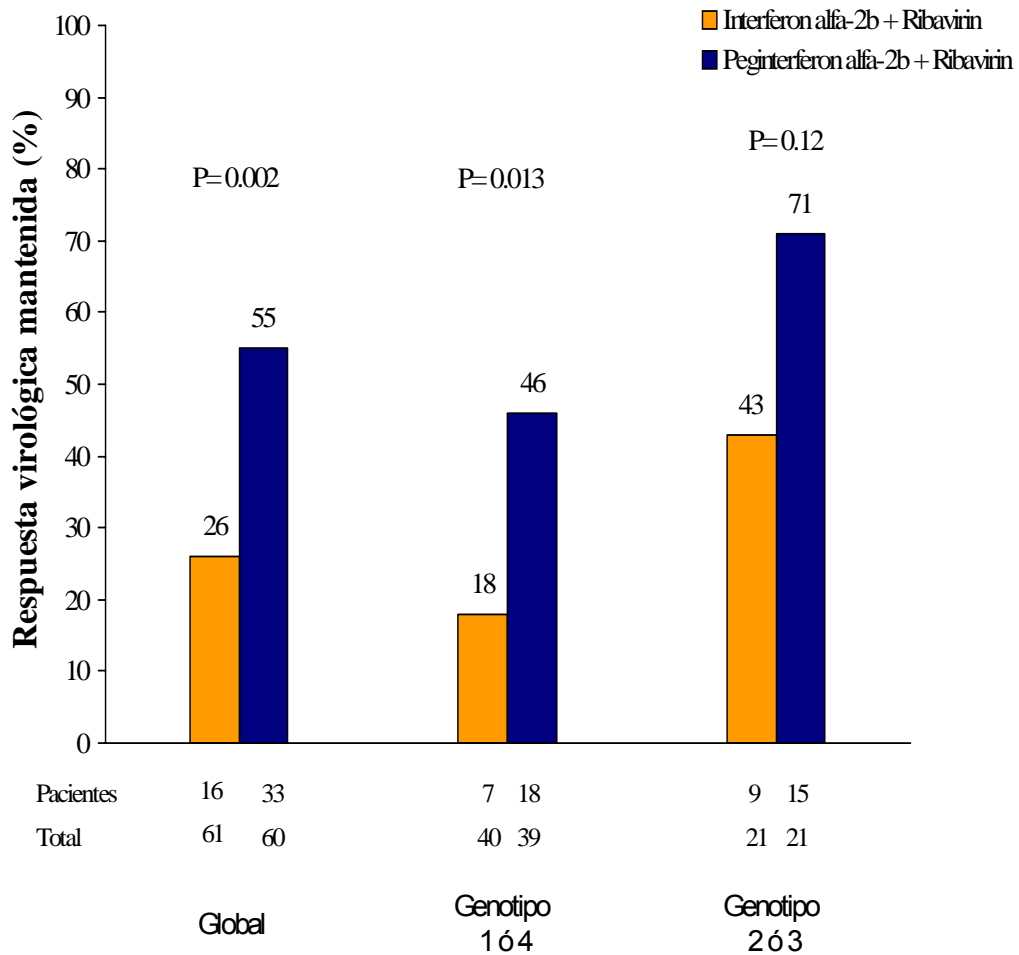
ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa, análogos de nucleósido

ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa, no análogos de nucleósido

**Figura 2.** Respuesta virológica al final del tratamiento

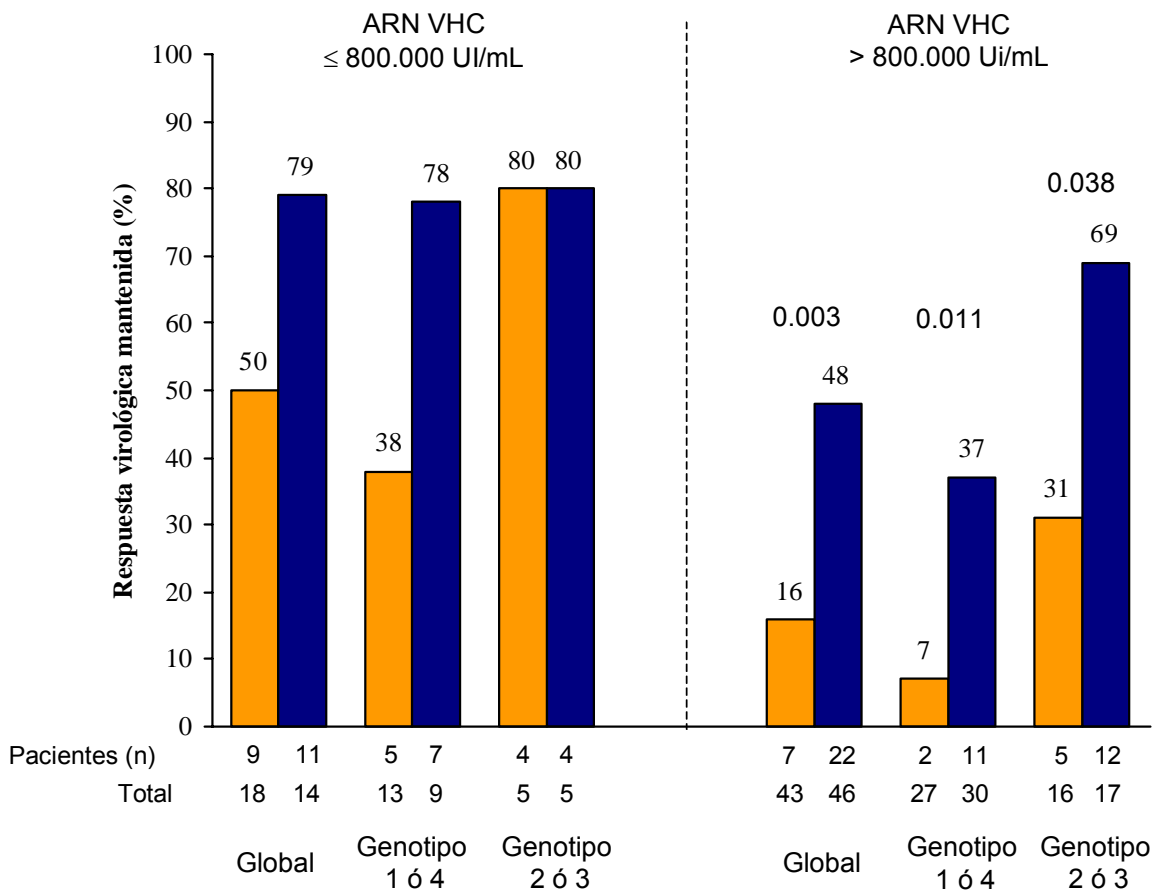


**Figura 3.** Respuesta virológica mantenida en los dos grupos de tratamiento, global y en función del genotipo



En el análisis estratificado por el ARN VHC previo al tratamiento, las diferencias de RVM entre ambos grupos de tratamiento fueron estadísticamente significativas solo en los pacientes con ARN VHC > 800.000 UI/mL (Figura 4).

**Figura 4.** Respuesta virológica mantenida en función del genotipo del VHC y de la carga viral (ARN VHC) pre-tratamiento



Con la finalidad de analizar la capacidad de la respuesta virológica observada en las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> para discriminar entre pacientes con y sin RVM, con los descensos de la carga viral obtenidos en dichas semanas, construimos curvas ROC obteniendo unas áreas bajo la curva: 0,889 (IC 95%, 0,830 – 0.950) en la semana 4<sup>a</sup>; 0.875 (IC 95%, 0,810 – 0.940) en la semana 8<sup>a</sup> y 0.859 (IC 95%, 0,785 – 0.933) en la semana 12<sup>a</sup>. En cada una de dichas semanas de valoración obtuvimos unos puntos de corte con una sensibilidad del 100% para la identificación de los pacientes con RVM (Tabla 2).

**Tabla 2.** Puntos de corte del descenso de la carga viral ( $\Delta$ ARN VHC) en las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento, obtenidos mediante curvas ROC, con una sensibilidad del 100% para la identificación precoz de los pacientes no respondedores

Semana	$\Delta$ ARN VHC	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
4	> 1 log	100% (49/49)	45% (22/49)	64% (49/76)	100% (22/22)
8	> 1.9 log	100% (49/49)	51% (25/49)	67% (49/73)	100% (25/25)
12	> 3 log	100% (49/49)	59% (29/49)	71% (49/69)	100% (29/29)

VPP: valor predictivo positivo

VPN: valor predictivo negativo

En la Tabla 3 se resume la relación entre la respuesta virológica rápida (ARN VHC < 100 UI/mL) en la semana 4ª de tratamiento y la respuesta virológica al final del tratamiento y la RVM.

**Tabla 3.** Respuesta virológica al final del tratamiento (RFT), respuesta virológica mantenida (RVM) y riesgo de recidiva (RR) en función de la respuesta observada en la semana 4ª de tratamiento.

Genotipo VHC	Semana 4ª ARN VHC	N (%)	P	RFT (%)	P	RVM (%)	P	RR (%)
1 ó 4 N=66	< 100 IU/mL	16 (24%)	<0.001	13 (81%)	<0.001	13 (81%)	< 0.001	0
	> 100 IU/mL	50 (76%)		13 (26%)		8 (16%)		38%
2 ó 3 N=36	< 100 IU/mL	20 (56%)	0.48	19 (95%)	0.069	18 (90%)	< 0.001	5%
	> 100 IU/mL	16 (44%)		11 (69%)		6 (38%)		46%

### Variables asociadas con la respuesta virológica mantenida

En el análisis univariante, el grupo de tratamiento, el genotipo del VHC, el ARN VHC previo al tratamiento, la AST y la albúmina sérica se asociaron con la RVM (Tabla 4). Por el contrario, el índice de masa corporal y la dosis de RBV ajustada al peso del paciente, variables basales con diferencias estadísticamente diferentes entre ambos grupos de tratamiento, no se asociaron con la RVM en ninguno de los dos grupos de tratamiento. En el análisis de regresión logística se incluyeron como variables independientes en

diferentes modelos exploratorios: edad, índice de masa corporal, dosis de RBV (mg/kg), brazo de tratamiento (Peg-IFN alfa-2b y RBV vs. IFN alfa-2b y RBV), número de linfocitos CD4+ (bien como variable continua o categórica  $< \text{ó} \geq 350$  células/mm<sup>3</sup>), uso o no de inhibidores de proteasa para el tratamiento del VIH, años de evolución de la infección por VHC, AST, gGT, ALT, albúmina, genotipo del VHC (genotipo 2/3 vs. Genotipo 1/4) y ARN VHC ( $> \text{ó} \leq 800,000$  UI/mL. El modelo final incluyó sólo tres variables asociadas de modo independiente con una mayor probabilidad de obtener una RVM: el tratamiento con Peg-IFN alfa-2b (OR: 5.1; IC 95 %: 2.1 - 11.3;  $p < 0.001$ ); genotipo 2/3 (OR: 4; IC 95 %: 1.6 - 9.8;  $p = 0.002$ ) y ARN VHC  $\leq 800,000$  UI/mL (OR: 5.8; IC 95 %: 2.1 - 15.7;  $p = 0.001$ ). La inclusión en modelos independientes de la respuesta obtenida en las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento mostró que esta variable dinámica descenso respecto a la carga viral basal era el predictor más robusto de RVM en cada una de las semanas mencionadas.

**Tabla 4.** Variables asociadas con la respuesta virológica mantenida

Variable	OR (IC 95%)	OR Ajustado (IC 95%)
Peg-IFN vs. IFN *	3,44 (1,60 - 7,38)	5,05 (2,07 – 12,34)
Genotipo 2/3 vs.1/4 *	2,88 (1,33 – 6,24)	4,01 (1,63 – (9,85)
ARN VHC < 800.000 UI/ml *	3,45 (1,49 – 8,00)	5,76 (2,12 – 15,68)
AST	0,990 (0,980 – 0,997)	0,988 (0,979 – 1,001)
Albúmina	3,18 (1,105 – 9,150)	1,47 (0.369 – 5,884)

\* Variables asociadas de forma independiente con la respuesta virológica mantenida

## **Efectos adversos y modificaciones de la dosis**

En la tabla 5 se resumen las retiradas prematuras del estudio, las reducciones de dosis y los efectos adversos en ambos grupos de tratamiento. La mayoría de los pacientes, en ambos grupos, presentaron efectos adversos sistémicos de intensidad leve-moderada (cefalea, astenia, fiebre, mialgia). El 40% de los pacientes presentó manifestaciones neuropsicológicas, y 19 pacientes precisaron tratamiento antidepresivo (9 pacientes en el grupo de IFN alfa-2b y 10 pacientes en el grupo de Peg-IFN alfa-2b). Un paciente fue retirado del estudio tras presentar un episodio de psicosis aguda.

La disminución media máxima del número de neutrófilos y plaquetas se observó entre la semana 12<sup>a</sup> y 24<sup>a</sup> de tratamiento y fue significativamente superior en los pacientes tratados con Peg-IFN alfa-2b ( $1573 \pm 175$  versus  $597 \pm 132$  células/mm<sup>3</sup> y  $59 \pm 6$  versus  $22 \pm 5 \times 10^9$  células/L, respectivamente;  $p < 0.001$ , para ambas comparaciones). Sólo un paciente recibió factor estimulador del crecimiento de colonias (C-CSF) por un episodio de neutropenia de grado 4. En ningún otro caso se utilizaron factores hematopoyéticos. En ambos grupos de tratamiento, los parámetros hematológicos recuperaron los valores basales, en las 24 semanas posteriores a la finalización del tratamiento.

La disminución media de hemoglobina fue similar en ambos grupos de tratamiento ( $p = 0.58$ ) y significativamente superior en los pacientes tratados con zidovudina: descenso medio máximo en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento en los pacientes con AZT de  $3.3 \pm 1.2$  versus  $1.7 \pm 1.2$  en los pacientes que no tomaban AZT ( $p < 0.001$ ). (Figura 5)

**Tabla 5.** Efectos adversos, abandonos prematuros del tratamiento y reducciones de dosis en ambos grupos de tratamiento

	Interferon $\alpha$ -2b y Ribavirin (N=61)	Peginterferon $\alpha$ -2b y Ribavirin (N=60)	P
<b>Retirada prematura –no. (%)</b>			
Cualquier razón	14 (23)	10 (17)	0.52
Síndrome pseudogripal	5 (8)	5 (8)	0.76
Acidosis láctica	1 (2)	0	0.99
Fallo hepático	1 (2)	0	0.99
Manifestaciones psiquiátricas	0	1 (2)	0.99
Pérdida de seguimiento	0	1 (2)	0.99
Falta respuesta virológica precoz	7 (11)	3 (5)	0.34
<b>Reducción de dosis del Interferón –no. (%)</b>			
Cualquier razón	0	16 (27)	<0.001
Síndrome pseudogripal	0	13 (22)	<0.001
Neutropenia	0	3 (5)	0.24
<b>Reducción de dosis o retirada de la Ribavirin–no. (%)*</b>			
Cualquier razón	3 (5)	10 (17)	0.07
Anemia	1 (2)	3 (5)	0.6
Hiperlactatemia	2 (6)	7 (12)	0.16
<b>Efectos adversos específicos</b>			
Síndrome pseudogripal	49 (80)	53 (88)	0.34
Manifestaciones psiquiátricas †	21 (34)	27 (45)	0.32
Afectación muco-cutánea ‡	13 (21)	14 (23)	0.96
Neumonía	1 (2)	0	0.99
Recaída ADVP	1 (2)	1 (2)	0.48
Hiperlactatemia sintomática #	2 (3)	2 (3)	0.62
Acidosis láctica	1 (2)	0	0.99
Descompensación hepática †	2 (3)	0	0.48

† Irritabilidad, depresión, insomnio, psicosis

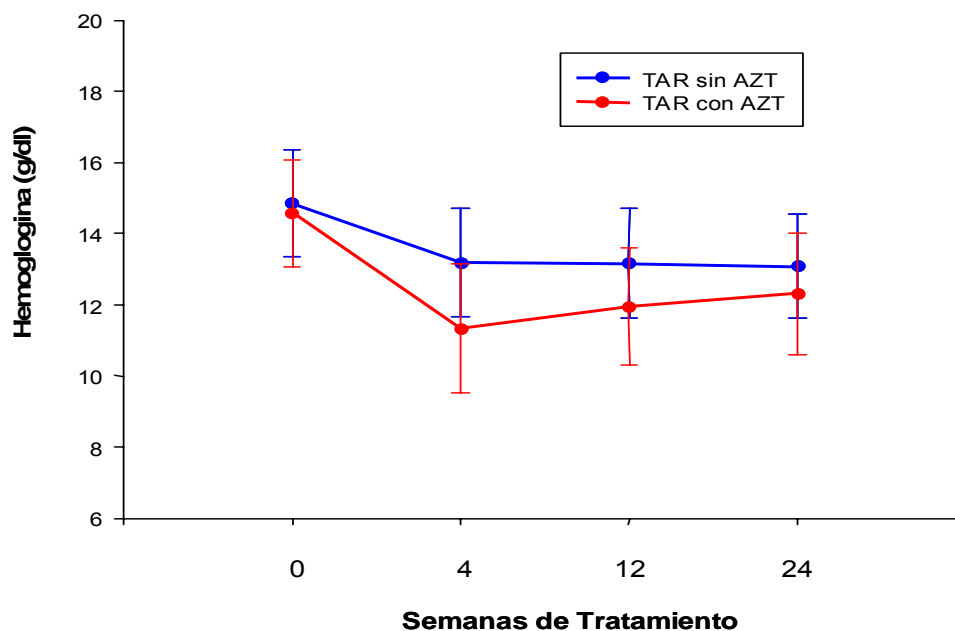
‡ Exantema, mucositis, caída de cabello

# Pacientes con hiperlactatemia sintomática sin acidosis ni descompensación hepática

† Un paciente falleció y otro presentó ascitis leve



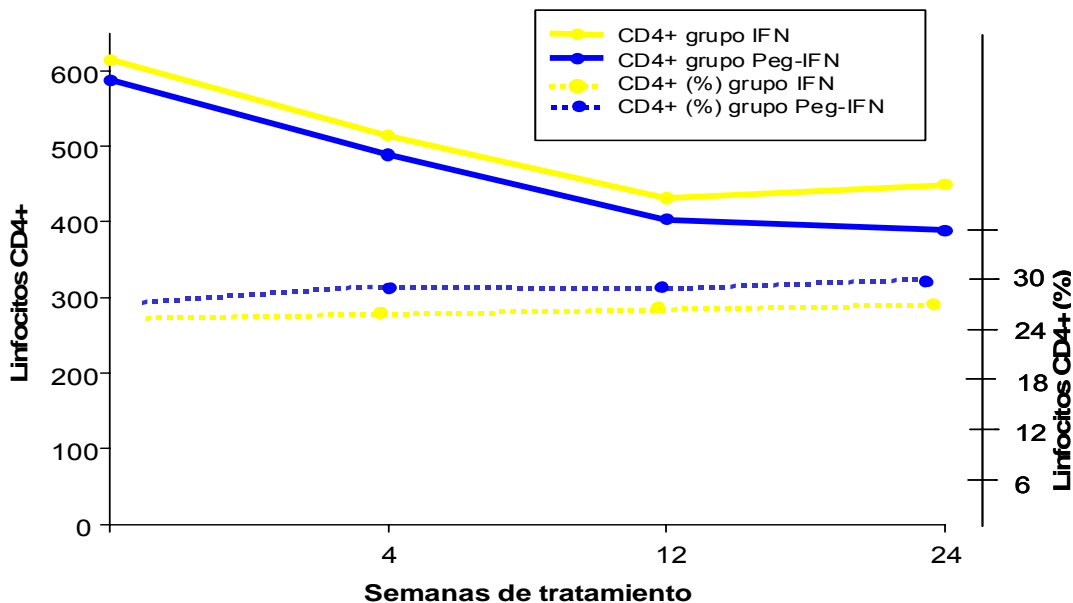
**Figura 5.** Descenso de la hemoglobina en el global de pacientes estudiados en función de la presencia o no de AZT en el tratamiento antiretroviral (TAR)



### ***Evolución de la infección por VIH***

Observamos un descenso significativo del número absoluto de linfocitos CD4+ en ambos grupos de tratamiento (descenso medio máximo de 208 y 172 células/mm<sup>3</sup> en la semana 24<sup>a</sup> de tratamiento en los paciente tratados con Peg-IFN alfa-2b e IFN alfa-2b, respectivamente;  $p < 0.001$ , para la comparación intragrupo), mientras que aumentó el porcentaje de linfocitos CD4+, con un incremento máximo del 3,8 y 3,1%, respectivamente, en la semana 24<sup>a</sup> de tratamiento. No se observaron infecciones oportunistas ni fracasos virológicos del VIH en ninguno de los dos grupos de tratamiento. En los pacientes sin tratamiento antiretroviral al inicio del estudio, el ARN VIH permaneció estable o indetectable durante el estudio.

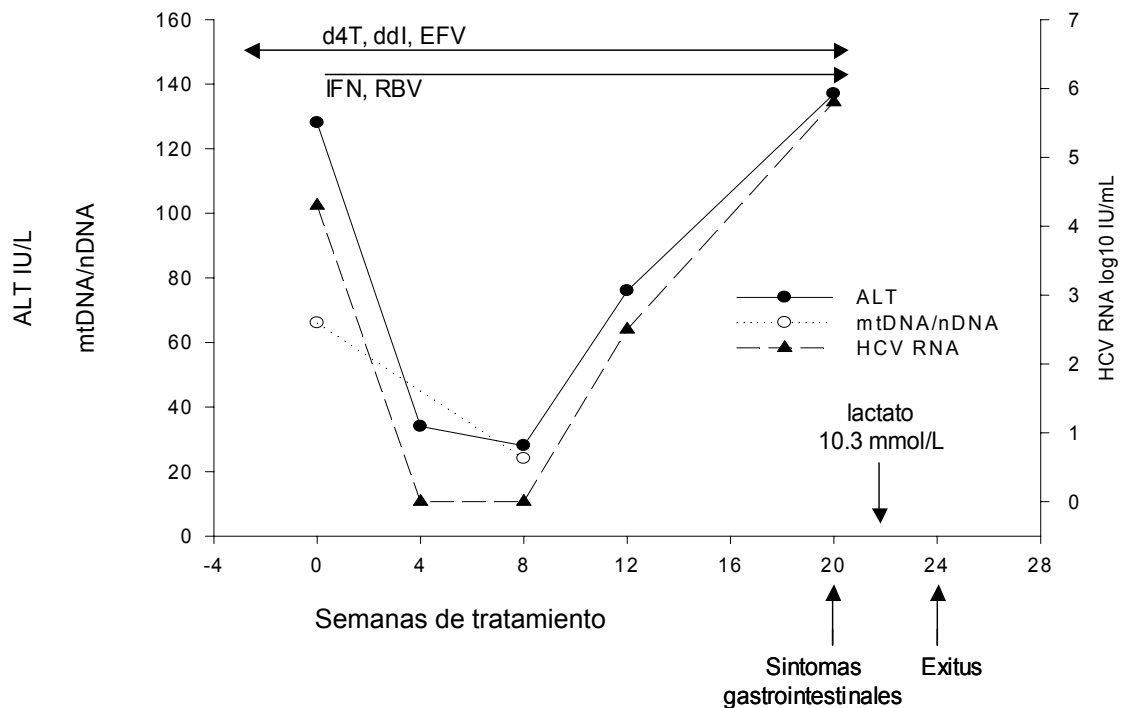
**Figura 6.** Evolución de la cifra de linfocitos CD4+, en valor absoluto y en porcentaje, durante el tratamiento en ambos grupos de estudio



Durante el estudio fallecieron dos pacientes. El primer paciente, una mujer de 47 años de edad, en tratamiento antiretroviral estable con ddI, d4T y efavirenz y con cirrosis compensada previa al inicio del tratamiento con IFN alfa-2b y RBV en enero de 2001. Tras negativizar inicialmente el ARN VHC sérico, se observó un rebrote en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento (Figura 7) En la semana 20<sup>a</sup>, ingresó en el hospital por un cuadro de astenia, dolor abdominal, náuseas y pérdida de peso de dos semanas de evolución. Se objetivó una acidosis láctica grave (pH 7.20; lactato 10,3 mmol/L), se suspendió el tratamiento anti-VHC y el TAR, y se inició sueroterapia y administración de co-factores enzimáticos (tiamina, riboflavina, L-carnitina). Como complicación sufrió una neumonía por *E.coli* y un shock séptico, con un pico de lactato de 36 mmol/L

Falleció por fracaso multiorgánico una semana después de su ingreso <sup>22</sup>. El análisis retrospectivo del mtDNA en CMSP mostró un descenso del 64% en la semana 8ª de tratamiento respecto al valor basal (Figura 7)

**Figura 7.** Evolución del ARN VHC, ALT y mtDNA tras el inicio de IFN alfa-2b y RBV, en una paciente en tratamiento antiretroviral con ddl, d4T que desarrolló una acidosis láctica y falleció

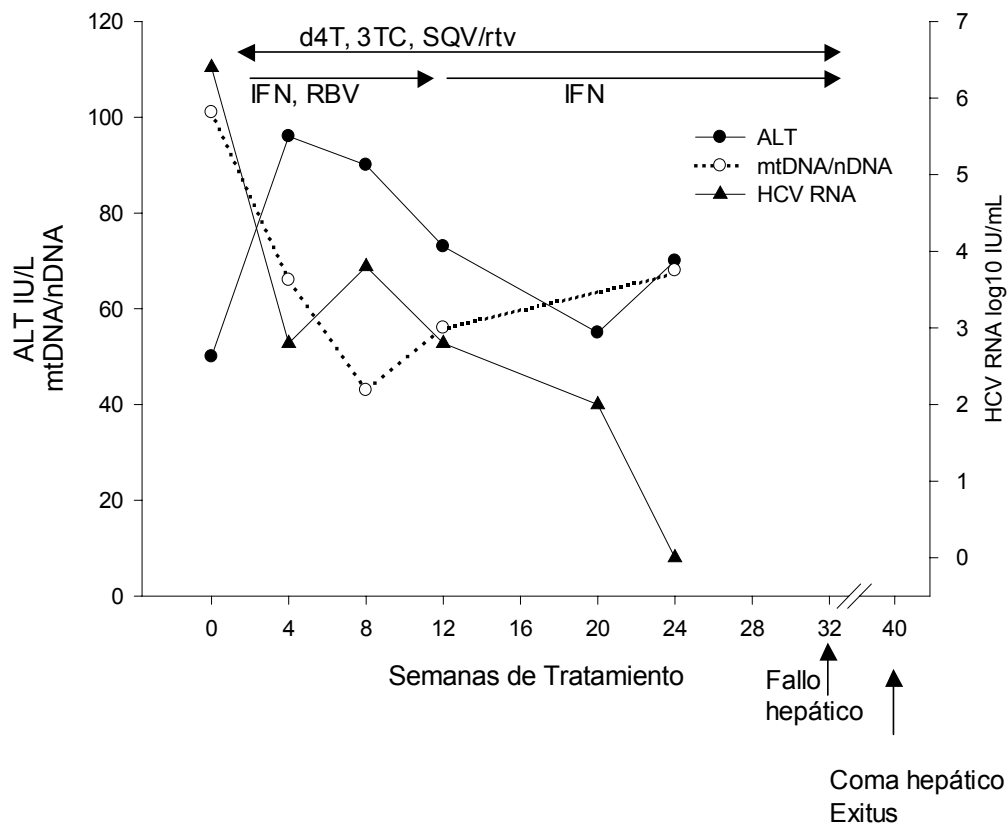


Tras el fallecimiento de esta paciente, añadimos el análisis de ácido láctico en sangre al protocolo de seguridad del estudio. Globalmente, obtuvimos una media de  $7.5 \pm 3.5$  determinaciones de lactato por paciente en un total de 104 pacientes. Detectamos hiperlactatemia (dos muestras consecutivas con lactato

> 2,4 mmol/L) en 22 pacientes (20%). El riesgo de desarrollar hiperlactatemia fue superior, aunque sin alcanzar significación estadística, en el grupo de pacientes en tratamiento con d4T y/o ddl (17/22) en comparación con los pacientes que no tomaban d-análogos de nucleósidos (52/82) (riesgo relativo: 1,96; IC95% 0,66 – 5,86). Aunque la hiperlactatemia cursó sin síntomas en 16 de los 22 pacientes, motivó la retirada de la RBV en tres pacientes. Observamos hiperlactatemia sintomática (definida como pérdida de peso, dolor abdominal, nauseas o vómitos y astenia asociados con niveles altos de lactato sin acidosis) en cuatro pacientes, tres de los cuales tomaban d4T y/o ddl. En todos ellos remitieron los síntomas y se normalizó el valor de lactato tras la retirada de la RBV.

El segundo paciente fallecido, una mujer de 35 años con cirrosis basal compensada, inició tratamiento en febrero de 2001. Como muestra la figura 8 la carga viral del VHC era indetectable en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento, aunque con persistencia de ALT elevada. En dicha semana, se retiró la RBV por anemia, y se retiró el IFN alfa-2b y el TAR en la semana 24<sup>a</sup> tras la aparición de ascitis e ictericia. Presentó un deterioro progresivo de la función hepática y falleció en situación de coma hepático dos meses más tarde.

**Figura 8.** Descompensación hepática durante el tratamiento con IFN y RBV



### Depleción del ADN mitocondrial asociada al tratamiento del VHC

De modo retrospectivo analizamos el contenido del mtDNA respecto al nDNA en CMSP mediante una técnica de PCR en tiempo real (ver métodos). La técnica se validó en muestras procedentes de 25 sujetos sanos, 20 pacientes infectados por VIH sin TAR y 68 pacientes infectados por VIH en TAR, incluidos en el presente ensayo clínico. No se observaron diferencias en la mediana del cociente mtDNA/nDNA entre los sujetos sanos y los pacientes VIH+ sin TAR. Por el contrario, la mediana basal del cociente mtDNA/nDNA fue significativamente inferior en los 68 pacientes con TAR en comparación con los controles sanos (124 vs. 193, respectivamente;  $p= 0.038$ ). En los pacientes con TAR, el cociente mtDNA/nDNA fue inferior en los 46 pacientes que recibían

d4T y/o ddl (mediana 103; rango 75-161) respecto a los 22 pacientes que no recibían d-análogos (mediana: 161; rango: 104-282;  $p= 0,016$ ). Los cambios en el contenido del mtDNA durante el tratamiento se analizaron en muestras de CMSP obtenidas antes del inicio y en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento, en 27 paciente pacientes con valores normales de lactato y en 17 de los 22 pacientes con niveles elevados de lactato. En este último grupo de pacientes se observó un mayor descenso del cociente mtDNA:nDNA en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento significativo en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento respecto al grupo de pacientes con cifras normales de lactato ( $p= 0,011$ ) (figura 9). En los seis pacientes que presentaron manifestaciones asociadas con toxicidad mitocondrial (hiperlactatemia sintomática, acidosis láctica o fallo hepático) el cociente mtDNA:nDNA descendió en promedio un 54%, desde una mediana basal de 107 (rango, 40 – 124) hasta una mediana de 49 (rango, 24 – 79), entre la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento.

**3. SEGUNDO ESTUDIO: UTILIDAD DE LA RESPUESTA VIROLÓGICA RÁPIDA PARA INDIVIDUALIZAR LA DURACIÓN DEL TRATAMIENTO DEL VHC, GENOTIPO 3, EN PACIENTES CO-INFECTADOS POR VIH**

### 3.1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL SEGUNDO ESTUDIO

La recomendación recogida en un documento de consenso de tratar a todos los pacientes coinfectados, durante al menos 48 semanas con independencia del genotipo <sup>15</sup> no está basada en estudios diseñados para establecer la duración óptima de tratamiento, y todavía no se ha demostrado que el tratamiento de los pacientes con genotipo 2/3 durante 48 semanas sea más eficaz que pautas más cortas de 24 semanas. En el estudio 1, el 71% de los pacientes tratados durante 24 semanas con Peg-IFN alfa-2b y RBV obtuvieron una respuesta virológica mantenida, porcentaje similar al obtenido en otros estudios con pautas de 48 semanas<sup>23-25</sup>. Además, observamos que el 85 % los pacientes con una respuesta virológica rápida (ARN-VHC < 100 UI/mL en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento) obtuvo una respuesta virológica mantenida, y sólo un 6% de ellos recidivaron tras 24 semanas de tratamiento, con independencia de la rama de tratamiento asignada, Peg-IFN alfa-2b ó IFN alfa-2b convencional.

#### *Objetivos:*

1. Estudiar la utilidad de la respuesta virológica observada en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento como guía para individualizar la duración del tratamiento en pacientes con genotipo 3.
2. Analizar mediante una técnica comercializada de PCR cuantitativa en tiempo-real el descenso del ARN-VHC en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento y establecer el punto de corte con mayor capacidad para discernir entre pacientes con y sin respuesta virológica mantenida



### **3.2. METODOLOGÍA DEL SEGUNDO ESTUDIO.**

#### **Selección de pacientes**

Se incluyeron en el análisis los pacientes con genotipo 2/3 incluidos en el estudio 1 que habían completado las 24 semanas de tratamiento con Peg-IFN y RBV establecidas en el protocolo con la condición de que se conservasen congeladas a -80° C muestras de suero obtenidas en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento.

#### **Análisis de laboratorio**

En las muestras obtenidas en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento del subgrupo de pacientes con genotipo 2/3 , analizamos el ARN VHC mediante una técnica comercializada de PCR en tiempo real combinada con una plataforma de extracción del ARN automatizada (COBAS AmpliPrep-COBAS-TaqMan 48™; Roche Diagnostics), con una sensibilidad de 15 UI/mL y un rango de linealidad de 43 a 68.000.000 UI/mL.

#### **Análisis estadístico**

A partir de la respuesta virológica obtenida en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento analizamos mediante curvas ROC el punto de corte (descenso del ARN VHC respecto al valor basal) más apropiado para discernir entre pacientes con y sin RVM. La identificación de las variables pre-tratamiento asociadas con la respuesta virológica en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento y con la RVM se llevó a cabo mediante análisis de regresión logística multivariante. Para ello, las variables con distribución no normal se sometieron previamente a transformación logarítmica. Se construyeron modelos de regresión adicionales en los que se incluyó como variable independiente predictora de la RVM la respuesta virológica obtenida en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento, tanto en forma

de variable categórica ( $< 50$  UI/mL;  $< 600$  UI/mL ó descenso  $\geq 2 \log_{10}$ ) o como variable continua

### **3.3. RESULTADOS DEL SEGUNDO ESTUDIO**

De los 42 pacientes con genotipo 2/3 incluidos en el primer estudio, disponíamos la muestra congelada de suero obtenido en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento en 35 pacientes. Las características pre-tratamiento de estos 35 pacientes están resumidas en la tabla 1.

La mayoría de los pacientes eran varones, en tratamiento antiretroviral con ARN VIH indetectable y una media de linfocitos CD4 superior a  $500/\text{mm}^3$ . El 80% de los pacientes tenía un ARN VHC  $> 800.000$  UI/mL.

**Tabla 1.** Características pre-tratamiento de los 35 pacientes coinfectados VHC/VIH, con genotipo 3, incluidos en el estudio.

Variable *	
Edad (años)	39 ± 3.9
Varones, n (%)	30 (86)
Uso parenteral de drogas –no. (%)	29 (83)
Duration of infection (yrs) †	20 ± 5
Body-mass index ‡	24 ± 3
Serum HCV RNA	
• Mean (log <sub>10</sub> IU/mL)	6.36 ± 0.78
• >800,000 IU/mL –no. (%)	28 (80)
Treatment group	
• Peg-Interferon-α2b –no. (%)	18 (51)
• Interferon-α2b –no. (%)	17 (49)
Ribavirin dose (mg/kg)	11.5 ± 1.8
ALT (IU/L)	123 ± 73
AST (IU/L)	99 ± 65
γ-Glutamil Transpeptidase (IU/L)	99 ± 73
Serum albumin (g/L)	41 ± 4
Leukocytes (x 10 <sup>3</sup> cells/μL)	6.5 ± 1.9
Haemoglobin (gr/dL)	15.1 ± 1.6
Platelets (x 10 <sup>9</sup> /L)	187 ± 45
Mean CD4+ count /mm <sup>3</sup>	555 ± 218
HIV RNA < 80 c/mL –no. (%)	28 (80)
Antiretroviral treatment –no. (%)	31 (89)
2 ITIAN + 1 ITINAN	22 (63)
2 ITIAN + 1PI	5 (14)
3 ITIAN	1 (3)
Other	3 (9)
Nucleoside RT inhibitors	30 (86)
Zidovudina	13 (37)
Estavudina	14 (40)
Didanosina	5 (14)
Lamivudina	24 (69)
Abacavir	4 (11)

## Notas de pié de página de la tabla 1

\* Las variables continuas se expresan como media  $\pm$  desviación estándar

† Intervalo transcurrido desde el inicio de la adicción a drogas por vía parenteral o la administración de factores de coagulación

‡ Calculado como cociente entre el peso (Kg) y el cuadrado de la altura ( $m^2$ )

ITIAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa, análogos de nucleósido

ITINAN: Inhibidores de la transcriptasa inversa, no análogos de nucleósido

Tres pacientes abandonaron el tratamiento por intolerancia o se desconoce la respuesta al final del seguimiento. La dosis de RBV se redujo en tres casos por anemia y se suspendió definitivamente en otros tres pacientes por hiperlactatemia sintomática. En cuatro pacientes se redujo la dosis de Peg-IFN alfa-2b por síndrome gripal. En el análisis por intención de tratamiento, 23 pacientes (66%) obtuvieron una RVM; 78% (14/18) en el grupo de tratamiento de Peg-IFN alfa-2b y el 53% (9/17) en el grupo tratado con IFN alfa-2b convencional (RR 1,47; IC 95% 0,88 – 2,45;  $p=0,164$ ).

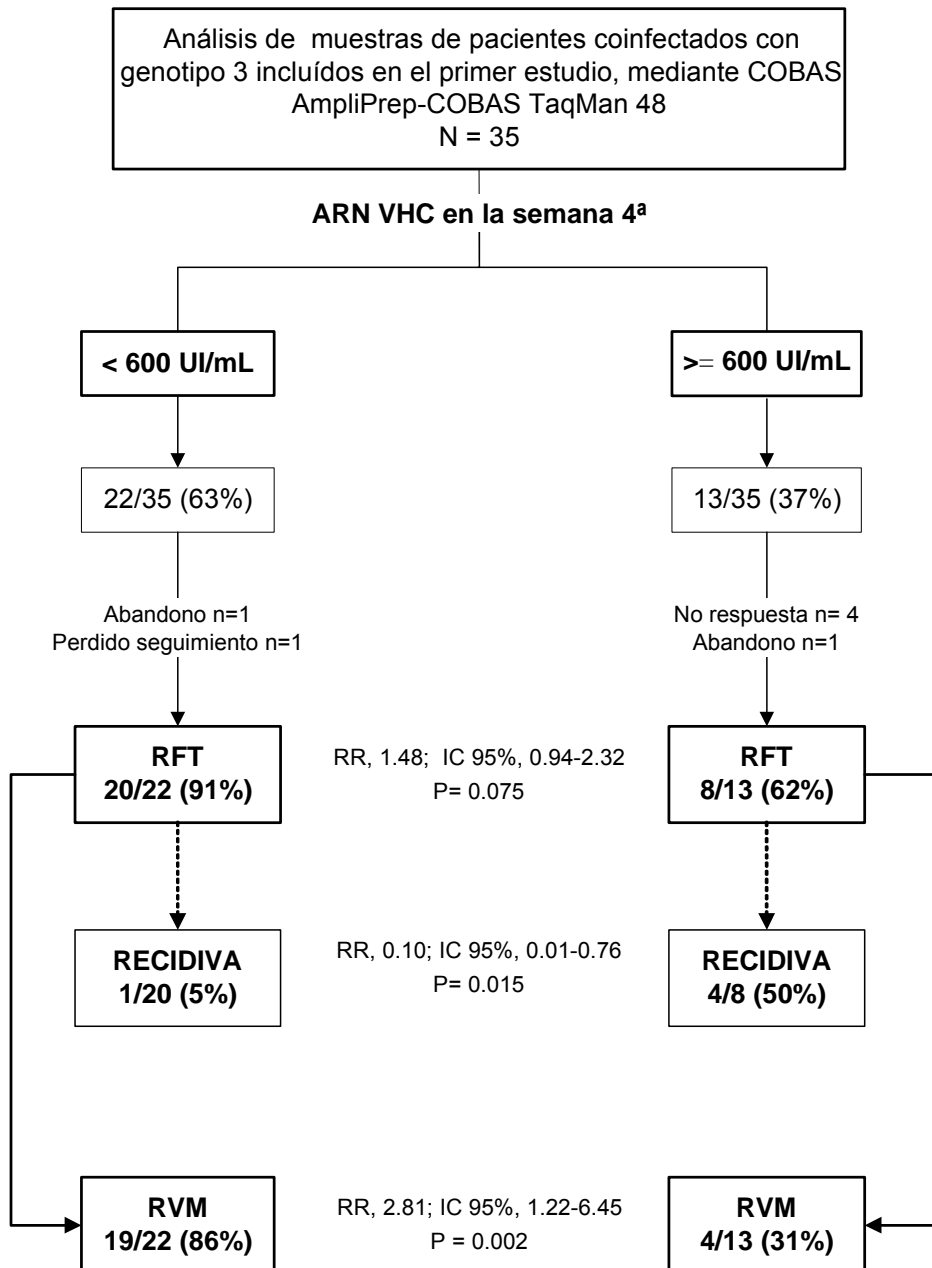
Globalmente, con independencia del grupo de tratamiento, en el 49% (17/35) de las muestras de suero re-analizadas tenían un ARN VHC  $< 50$  UI/mL en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento. De estos respondedores rápidos (RVR), el 88% (15/17) obtuvieron una RVM, y solo un paciente (6%) de los 16 respondedores rápidos con carga viral indetectable al final del tratamiento, recidivó. Por el contrario, 12 (67%) de los 18 pacientes con ARN VHC  $\geq 50$  UI/mL en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento obtuvo respuesta virológica al final del tratamiento (RFT) y cuatro de estos pacientes (33%) recidivaron (RR 2,0; IC 95% 0,28 – 14,2);  $p=0,85$ ). En consecuencia, la RVM en el subgrupo de pacientes sin respuesta rápida fue del 44% (8/18) (Respecto a los pacientes con respuesta

rápida: RR 0,50; IC 95% 0,29 – 0,87;  $p= 0,012$ ). En la figura 1, se resumen los valores obtenidos utilizando como punto de corte de respuesta virológica rápida ARN VHC < 600 UI/mL.

Con los valores de ARN VHC obtenidos en la semana 4<sup>o</sup> de tratamiento, se construyó una curva ROC cuyo área bajo la curva fue 0,812 (IC 95% 0,650 – 0,973). La sensibilidad, especificidad, el valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para la obtención de una RVM fueron 0,65; 0,83; 0,88 y 0,56 respectivamente empleando una carga viral < 50 UI/mL como punto de corte para la definición de respuesta rápida, y 0,83; 0,75; 0,86 y 0,69 respectivamente, cuando se empleó como punto de corte de respuesta rápida una carga viral < 600 UI/mL en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento.

En el análisis de regresión logística, ninguna de las variables basales introducidas en el modelo (edad, sexo, grupo de tratamiento, ARV VHC, ALT, AST, GGT, peso, número de linfocitos CD4+) se asoció con la respuesta virológica observada en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento (utilizando ARN VHC < 50UI/mL ó < 600 UI/mL como variables independientes), mientras que los pacientes con valores más elevados de AST obtuvieron un porcentaje inferior de RVM (OR 0.987; IC 95% 0.976 – 0,998;  $p= 0,026$ ). Cuando incluimos la respuesta virológica observada en la semana 4<sup>a</sup> en el modelo de regresión multivariante, ambas variables la AST y la respuesta virológica rápida se asociaron con la RVM. El mejor modelo para la predicción de RVM incluía el valor de AST pre-tratamiento (OR: 0,983; IC: 0,969 – 0,997;  $p= 0,020$ ) y ARN VHC < 600 UI/mL en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento (OR: 11,3; IC: 1,70 – 75.0;  $p= 0,012$ ).

**Figura 1.** Respuesta virológica al final del tratamiento (RFT), respuesta virológica mantenida (RVM) y riesgo de recidiva en función de la respuesta observada en la semana 4ª de tratamiento ( $< 600$  ó  $\geq 600$  UI/L)



**4. TERCER ESTUDIO: UTILIDAD DE LA MONITORIZACIÓN PRECOZ DE LOS NIVELES SÉRICOS DE RIBAVIRINA EN LA OPTIMIZACIÓN DEL TRATAMIENTO DEL VHC EN PACIENTES CO-INFECTADOS POR VIH**

#### **4.1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL TERCER ESTUDIO**

La RBV en combinación con el peginterferon alfa aumenta el porcentaje de pacientes que obtienen una respuesta virológica mantenida, sobre todo mediante la reducción de las recidivas virológicas<sup>17, 26, 27</sup>. Sin embargo, el papel que juega la RBV en la respuesta virológica en las primeras semanas de tratamiento<sup>28-30</sup> y su mecanismo de acción no se conoce con certeza<sup>31</sup>. Además, la RBV muestra una gran variabilidad interindividual en su biodisponibilidad<sup>32-34</sup> y su principal efecto adverso es la anemia hemolítica que puede condicionar la disminución de la dosis o su retirada precoz, comprometiendo la eficacia del tratamiento<sup>35</sup>. En este contexto, la monitorización precoz de los niveles séricos de RBV podría resultar útil en la optimización del tratamiento en pacientes coinfectados por VHC/VIH.

##### **Objetivos:**

1. Analizar los factores asociados con la concentración sérica de RBV en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento.
2. Estudiar la influencia de los niveles séricos de RBV en la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento sobre la cinética de respuesta virológica, globalmente y en el análisis estratificado por genotipos del VHC.
3. Analizar la correlación entre los niveles en suero de RBV y el descenso de hemoglobina en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento.



## **4.2. METODOLOGÍA DEL TERCER ESTUDIO**

Se incluyeron en el estudio los pacientes coinfectados por VHC/VIH de los que se conservaban congeladas muestras de suero obtenidas en la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento con peginterferon alfa-2b y RBV. Todos los pacientes estudiados formaban parte del estudio 1 o de un estudio exploratorio en curso en nuestro centro en el que los pacientes reciben tratamiento con Peg-IFN alfa-2b y RBV ajustada al peso del paciente (800-1200 mg/día), individualizando la duración (24 a 60 semanas) en función de la respuesta virológica observada en la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento. Los criterios de inclusión en este estudio fueron iguales a los empleados en el estudio 1

### **Análisis de laboratorio**

Las muestras de sangre se obtuvieron antes de la primera dosis de RBV en tubos Vacutainer sin aditivos y el suero obtenido por centrifugación de la muestra se conservó congelada a  $-80^{\circ}$  C. La concentración sérica de RBV se analizó por HPLC, mediante una modificación de un método previamente descrito<sup>36</sup> La separación cromatográfica se obtuvo mediante una columna Symmetry 300TM 150 x 4.6 mm con una tamaño de partícula. Como estándar interno se utilizó 3-methylcytidine methosulfate. Los tiempos de retención de la RBV y del estándar interno fueron 3.28 and 4.65 minutos, respectivamente. El límite inferior de detección se estableció en 0.25  $\mu$ g/mL. La variabilidad intra e inter-análisis fue 5.8 y 9.3% para una concentración de RBV de 1  $\mu$ g/mL. Con la finalidad de estudiar la estabilidad de la RBV en las muestras congeladas, se re-analizaron 15 muestras separadas un intervalo de 6 meses.

Con la finalidad de corregir los niveles séricos de cada paciente en función de la dosis recibida de RBV, normalizamos los niveles séricos de RBV, dividiendo

la concentración de cada paciente entre la dosis de RBV recibida por Kg. de peso. El clearance de creatinina basal se estimó mediante la ecuación de Cockcroft-Gault <sup>37</sup>

La monitorización del ARN VHC en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento se realizó mediante un test de PCR en tiempo real acoplado con una plataforma de extracción (COBAS AmpliPrep-COBAS<sup>®</sup>TaqMan 48; Roche Molecular Diagnostic, Pleasanton, California, USA) con un límite de detección de 15 UI/mL y un intervalo de linealidad de 43 - 68.000.000 IU/mL. Definimos respuesta virológica rápida como ARN VHC indetectable en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento y respuesta virológica precoz como ARN VHC indetectable en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento

### **Análisis estadístico**

Los resultados se expresan en porcentaje, en caso de variables categóricas, y como mediana (amplitud intercuantílica) o media  $\pm$  desviación estándar en caso de variables continuas. Para comparar variables cuantitativas se empleó el test t de Student o, en caso de distribución no normal de la variable analizada, con un test no paramétrico como el test U de Man-Whitney o el test de Wilcoxon. Para estudiar los factores asociados con la concentración sérica de RBV se realizó un análisis de regresión lineal multivariante, incluyendo en el modelo inicial todas las variables pre-tratamiento potencialmente relacionadas con la biodisponibilidad de la RBV. El modelo final conserva las variables estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Mediante una aproximación similar se estudió el descenso de la hemoglobina en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento, incluyendo como covariable en el modelo la concentración de RBV. Las variables relacionadas con la respuesta virológica en la semana 4<sup>a</sup> y

12<sup>a</sup> de tratamiento se analizaron mediante análisis univariante y un modelo de regresión logística multivariante. La correlación entre la concentración sérica de RBV y el descenso de hemoglobina se realizó mediante el test de Spearman. Con los valores de RBV obtenidos en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento construimos curvas ROC (Receiver operating characteristics) con la finalidad de encontrar el punto de corte con mayor capacidad de discriminación entre los pacientes con y sin respuesta virológica

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 12.0 (SPSS, IL)

#### **4. 3. RESULTADOS DEL TERCER ESTUDIO**

Desde enero de 2001 hasta junio de 2006, 110 pacientes coinfectados por VHC/VIH iniciaron tratamiento con Peg-IFN alfa 2-b y RBV, de los cuales 94 tenían muestra de suero obtenida en la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento congelada. Las características de los pacientes están resumidas en la tabla 1. La mayoría de los pacientes eran varones, con historia previa de ADVP, el 90% recibía TAR y el 85% tenía ARN VIH < 50 copias/mL.

La dosis mediana de RBV administrada fue 13.5 mg/kg (10.5-15.3mg/kg). Aunque la dosis de RBV se redujo por anemia (n = 6) o hiperlactatemia (n = 1) en 7 pacientes (7.4 %) durante las primeras 12 semanas de tratamiento, observamos un aumento en la concentración valle de RBV en suero desde 1.7 µg/mL (1.26–2.34µg/mL en la semana 4<sup>a</sup> hasta 1.97 µg/mL (1.43–2.75µg/mL) en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento. Un aumento similar se produjo en la concentración de RBV ajustada a la dosis de RBV (mg/kg): 0.14µg/mL/dosis (0.10-0.17µg/mL) en la semana 4<sup>a</sup> y 0.16 µg/mL (0.11-0.19 µg/mL) en la semana 12<sup>a</sup>. El coeficiente de variación de la RBV normalizada fue 28.5% y

36.2%, respectivamente. En el análisis de regresión lineal multivariante, la dosis de RBV (mg/kg) y la co-administración de tenofovir se asociaron con una concentración más alta de RBV, mientras la edad, el sexo, el clearance basal de creatinina, el índice de masa corporal y otros fármacos antiretrovirales no influyeron en la concentración de RBV (tabla 2)

En la semana 4<sup>a</sup> el descenso medio de hemoglobina fue 2.22 mg/dL (IC 95%, 1.93- 2.50mg/dL) y posteriormente se estabilizó. La co-administración de zidovudina se asoció con un mayor descenso de hemoglobina (OR, 1.74; IC 95%, 0.97–2.51;  $p < 0.001$ ), mientras que la concentración de RBV y las otras variables basales no influyeron en el descenso de la hemoglobina.

En los pacientes que no recibían zidovudina, observamos una débil correlación entre la concentración sérica de RBV y el descenso de hemoglobina en la semana 4<sup>a</sup> ( $r = 0.32$ ;  $p = 0.006$ ) y en la semana 12<sup>a</sup> ( $r = 0.35$ ;  $p = 0.004$ ). En el análisis de regresión lineal multivariante, en pacientes sin tratamiento concomitante con zidovudina, ni la concentración de RBV ni ninguna variables pre-tratamiento se asociaron con el descenso de hemoglobina.

El 36.2 % (34/94) y el 75.5% (71/94) de los pacientes obtuvieron respuesta virológica (ARN VHC  $< 50$  UI/mL) en la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento, respectivamente (tabla 3).

**Tabla 1.** Características basales de los 94 pacientes incluidos en el estudio

Parámetro <sup>a</sup>	
Edad (años)	39.7 (35.4-43.0)
Varones	67 (71%)
UDVP	74 (78.7%)
IMC <sup>b</sup> (Kg/m <sup>2</sup> )	22.9 (20.7-24.9)
Aclaramiento de creatinina (mL/min)	100.7 (86.6-115.6)
Peg-IFN alfa-2b (μg/kg)	1.45 (1.38 – 1.50)
ARN VHC sérico Mediana (log <sub>10</sub> IU/mL) ≥800,000 IU/mL	6.3 (5.9-6.8) 71 (75.5%)
Genotipo VHC 1 3 4	41 (43.6%) 32 (34.0%) 21 (22.3%)
Cirrosis hepática <sup>c</sup> (F5-F6)	16/38 (42.1%)
Ribavirina (mg/kg)	13.5 (10.5 - 15.3)
ALT (UI/L)	80 (53 - 121)
AST (UI/L)	58 (43 -91)
γ-glutamil Transpeptidasa (UI/L)	85 (46 – 175)
Hemoglobina (gr/dL)	14.8 (14.0 – 15.8)
Plaquetas (x 10 <sup>9</sup> /L)	177 (144 – 16)
Linfocitos CD4+ /mm <sup>3</sup>	515 (407 – 682)
Tratamiento antiretroviral	82 (87.2%)
ITINN	48 (51.1%)
IP	26 (27.7%)
Zidovudine	13 (13.8%)
Stavudine	30 (31.9%)
Lamivudina/Emtricitabina	48 (51.1%)
Abacavir	26 (27.7%)
Didanosina	10 (10.6%)
Tenofovir	39 (41.5%)

### Notas de pié de página Tabla 1

UDVP: usuario de drogas por vía parenteral

ITINN: Inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósido.

IP: Inhibidor de la proteasa.

<sup>a</sup>, Las variables continuas se expresan como mediana (amplitud intercuantílica)

<sup>b</sup>, IMC, índice de masa corporal

<sup>c</sup>, La valoración histológica se realizó de acuerdo con la escala de Ishak modificada; los estadios F5-F6 corresponden a cirrosis

**Tabla 2.** Variables predictores de la concentración sérica de ribavirina (RBV) en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento

Parámetro	Análisis multivariante <sup>a</sup> Beta (IC 95%)	P
<b>Semana 4<sup>a</sup></b>		
Dosis RBV (mg/kg)	0.21 (0.12 – 0.29)	< 0.001
Tenofovir	0.55 (0.19 – 0.92)	0.004
<b>Semana 12<sup>a</sup></b>		
Dosis RBV (mg/kg)	0.14 (0.03 – 0.26)	0.018
Tenofovir	0.64 (0.15 – 1.14)	0.012

<sup>a</sup> Análisis de regresión lineal multivariante por pasos hacia atrás. El modelo inicial incluía además edad, sexo, filtrado glomerular de creatinina, IMC y fármacos antiretrovirales.

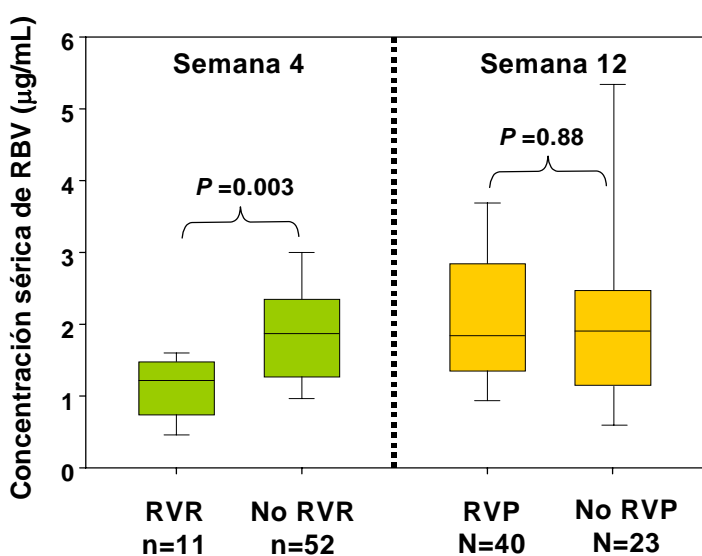
**Tabla 3.** Respuesta virológica <sup>a</sup> observada en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento con peginterferon alfa-2b y ribavirina

Pacientes	Semana 4 <sup>a</sup> (%)	Semana 12 <sup>a</sup> (%)
Global	34/94 (36.2)	71/94 (75.5)
Genotipo 1	9/42 (21.4)	27/42 (64.3)
Genotipo 3	23/31 (74.2)	31/31 (100)
Genotipo 4	2/21 (9.5)	13/21 (61.9)

<sup>a</sup> Definida como ARN VHC indetectable en muestras analizadas mediante un test de PCR en tiempo real con un límite de detección de 15 copias (COBAS AmpliPrep-COBAS<sup>®</sup>TaqMan 48; Roche Molecular Diagnostic, Pleasanton, California, USA)

La concentración mediana de RBV en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento fue menor en los pacientes con respuesta virológica rápida (1.43 µg/mL; IQR, 1.22-2.16 µg/mL) que en aquellos con ARN VHC detectable en este punto del tratamiento (1.87 µg/mL; IQR, 1.29-2.52 µg/mL; p=0.054) y las diferencias fueron estadísticamente significativas en pacientes con genotipo 1 ó 4 (1.22 µg/mL; IQR, 0.75-1.48 µg/mL vs. 1.87; IQR,1.27–2.35 µg/mL; p= 0.003) (Figura 1)

**Figura 1.** Correlación de los niveles de RBV en suero en la semana 4ª y 12ª de tratamiento con la respuesta virológica rápida (RVR, definida como ARN VHC < 50 IU/mL en la semana 4ª) y la respuesta virológica precoz (RVP, definida como ARN VHC < 50 UI/mL en la semana 12ª)



En pacientes con genotipo 1/4, el análisis de regresión logística mostró que el ARN VHC pre-tratamiento < 800.000 UI/mL y una menor concentración sérica de RBV se asociaron con una mayor probabilidad de alcanzar ARN VHC indetectable en la semana 4ª de tratamiento, mientras que la carga viral basal baja fue la única variable asociada con ARN VHC indetectable en la semana 12ª (tabla 4). El tratamiento con abacavir (n=26; 27,7%) o cualquier otro fármaco o combinación de fármacos antiretrovirales, no influyó en la respuesta



viroológica en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento. En los pacientes con genotipo 3, ni la concentración de RBV ni ninguna variable basal se asociaron con la respuesta virológica en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento

**Tabla 4.** Variables<sup>a</sup> asociadas con la respuesta virológica (ARN VHC < 50 UI/mL) en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento con peginterferon alfa-2b y ribavirina, en pacientes con VHC genotipo 1/4

Variable	Análisis univariante OR (IC 95%)	P	Análisis multivariante OR (IC 95%)	P
<b>Semana 4<sup>a</sup></b>				
ARN VHC ≥ 800.000 UI/mL	0.22 (0.05 – 0.80)	0.034	0.06 (0.003 – 1.05)	0.054
Concentración de RBV sérica	0.12 (0.24 – 0.62)	0.011	0.07 (0.01 – 0.03)	0.026
<b>Semana 12<sup>a</sup></b>				
ARN VHC ≥ 800.000 UI/mL	0.11 (0.01 – 0.88)	0.038	0.11 (0.01- 0.93)	0.043
Concentración de RBV sérica	0.93 (0.59 – 1.43)	0.705	0.76 (0.41 – 1.45)	0.423

<sup>a</sup>Variables pre-tratamiento analizadas: edad, sexo, IMC, ARN VHC basal, genotipo VHC, dosis de ribavirina (mg/kg), AST, ALT,  $\gamma$ -glutamyl-Transpeptidasa, cirrosis hepática, tratamiento antiretroviral, concentración de RBV en la semana 4<sup>a</sup> y semana 12<sup>a</sup> (en modelos de regresión logística independientes)

Globalmente, en el análisis mediante curvas ROC, la concentración sérica de RBV mostró baja capacidad para diferenciar entre pacientes con y sin respuesta virológica en la semana 4<sup>a</sup> (área bajo la curva, 0.63; IC 95%, 0.5 – 0.74) y en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento (área bajo la curva, 0.54; IC 95%, 0.39 – 0.69). La capacidad de la concentración de RBV para discriminar entre pacientes con y sin respuesta virológica en la semana 4 aumentó notablemente en el subgrupo de pacientes con genotipo 1 ó 4 (área bajo la curva 0.82; IC 95%, 0.7 – 0.94). En los pacientes con genotipo 1/4, el punto de corte con mayor capacidad de discriminación entre pacientes con y sin ARN VHC indetectable en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento fue RBV < 1.63 µg/mL (sensibilidad, 1; especificidad, 0.64; valor predictivo positivo, 0.35; valor predictivo negativo, 1).

**5. CUARTO ESTUDIO: EFICACIA DE LA COMBINACIÓN PEGINTERFERON ALFA-2B Y RIBAVIRINA EN EL TRATAMIENTO DEL VHC EN PACIENTES CO-INFECTADOS POR VIH CON FRACASO PREVIO A INTERFERON Y RIBAVIRINA**

## 5.1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL CUARTO ESTUDIO

Los resultados de los diversos ensayos clínicos publicados recientemente, incluidos los resultados obtenidos en el primer estudio, han demostrado que la combinación de interferón pegilado y RBV es más eficaz que el tratamiento combinado con interferón alfa convencional y RBV frente al VHC en pacientes coinfectados por VIH <sup>23-25, 38, 39</sup>. Sin embargo, disponemos de escasa información respecto a la eficacia del interferón pegilado alfa y RBV en pacientes coinfectados por VHC/VIH con fracaso viral previo a IFN alfa convencional y RBV<sup>40</sup>. Además, no existen en las guías terapéuticas recomendaciones específicas de tratamiento de estos pacientes <sup>15, 41</sup>

### **Objetivos:**

1. Analizar la eficacia del tratamiento combinado con Peg-IFN alfa-2b y RBV en el re-tratamiento de pacientes VHC/VIH con historia de fracaso viral previo a IFN alfa-2b y RBV.
2. Estudiar las variables pre-tratamiento asociadas con la respuesta virológica mantenida.
3. Analizar la sensibilidad de la respuesta virológica precoz para detectar a los pacientes no respondedores.

## **5.2. METODOLOGÍA DEL CUARTO ESTUDIO**

Estudio abierto, no controlado, llevado a cabo en nuestro hospital, en el que se incluyeron 21 pacientes coinfectados por VHC/VIH que habían presentado ausencia de respuesta vírica o recidiva vírica al tratamiento previo con IFN convencional (1.5 MUI/ 3 veces por semana) y RBV (800 mg/día). Dieciocho de estos pacientes había sido incluidos en el estudio 1. Se aplicaron, además, el resto de criterios de selección especificados para el estudio 1. A los pacientes se les ofreció la posibilidad de realizar una biopsia hepática antes de iniciar el estudio, aunque la ausencia de biopsia hepática no fue un criterio de exclusión. El grado de inflamación y el estadio de fibrosis en las muestras hepáticas se estableció mediante la clasificación modificada de Ishak <sup>42</sup>. Los pacientes elegidos fueron tratados con Peg-IFN (PegIntron, Schering-Plough, Kenilworth, NJ) 1.5 µg/kg/semana y RBV (Rebetol; Schering-Plough) ajustada al peso del paciente, < 65 Kg/d, 800 mg/día; 65 – 85, 1000 mg/día; >85 Kg, 1200 mg/día, dividido en dos dosis. Las modificaciones de la dosis de RBV y de Peg-IFN en caso de aparición de efectos adversos se realizaron siguiendo los mismos criterios especificados en el estudio 1. Se contempló la administración de eritropoyetina a una dosis necesaria para mantener una cifra de Hemoglobina ≥ 10 mg/dL, y de G-CSF para mantener una cifra de neutrófilos > 500 µL.

### **Análisis de laboratorio**

El análisis del ARN VHC se realizó mediante una técnica cualitativa de PCR comercializada (Cobas Amplicor HCV v2.0; Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ) con un límite de detección de 50 UI/mL. La determinación del ARN VHC pre-tratamiento y del ARN VHC en la semana 12ª de tratamiento se realizó con una técnica de PCR comercializada (Monitor HCV Test v2.0, Roche

Diagnostics, Systems, Branchburg, NJ) con un límite de detección de 600 UI/mL UI/mL.

### **Valoración de la seguridad**

Se llevó a cabo un examen físico y análisis bioquímico y hematológico las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup>, 12<sup>a</sup>, 24<sup>a</sup>, 36<sup>a</sup> y 48<sup>a</sup> de tratamiento. En cada visita se recogió la incidencia de efectos adversos. Se le proporcionó al paciente un número de teléfono de acceso directo a una enfermera especializada y al médico responsable, con la finalidad de facilitar el cumplimiento terapéutico y evitar abandonos precoces por efectos adversos

### **Valoración de la eficacia**

La variable primaria de eficacia analizada fue la respuesta viral mantenida, definida como ARN VHC < 50 UI/mL 24 semanas después de finalizado el tratamiento. Analizamos el valor de la respuesta virológica en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento, definida como un descenso del ARN VHC  $\geq 2 \log_{10}$  respecto al valor pre-tratamiento en la predicción de la respuesta virológica mantenida.

### **Análisis estadístico**

El análisis de la eficacia se realizó de acuerdo con el principio de intención de tratamiento, considerando los abandonos precoces y la falta de evaluación en la semana 24<sup>a</sup> post-tratamiento como fallo terapéutico. Los resultados están expresados en porcentaje en el caso de variables categóricas y medianas (amplitud del intervalo) en el caso de variables continuas. Para la comparación de las variables continuas independientes utilizamos el test de Mann-Whitney y para comparar variables continuas apareadas el test de Wilcoxon. Las variables categóricas se compararon mediante el test de Fisher. No analizamos

los resultados mediante un análisis multivariante por el número limitado de pacientes incluidos en el estudio (n = 21).

Las diferencias obtenidas con las diferentes variables se consideraron estadísticamente significativas para valores de  $P < 0.05$ . El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS version 12.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL; USA).

### **5.3. RESULTADOS DEL CUARTO ESTUDIO**

Entre marzo de 2004 y mayo de 2005 se incluyeron en el estudio 21 pacientes de raza caucásica, cuyas características basales, se resumen en la tabla 1.

Entre los pacientes incluidos, 14 habían presentado un fracaso virológico y 7 habían recidivado a una pauta de tratamiento previo con IFN convencional y RBV. Además, entre los 14 pacientes sin respuesta virológica previa, en 4 casos se había producido una respuesta plana (descenso del ARN VHC  $< 2 \log_{10}$ ) mientras que los restantes 10 pacientes habían presentado una respuesta parcial (descenso del ARN VHC  $\geq 2 \log_{10}$ , sin alcanzar una carga viral indetectable).

**Tabla 1.** Características pre-tratamiento de los 21 pacientes

Variable	
Edad, años	43.9 (32-50.6)
Varones	18 (86%)
UDVP	15 (71%)
Peso, Kg.	78.2 (53-95)
ARN VHC sérico	
Mediana, log <sub>10</sub> UI/mL	6.2 (4.5-6.8)
≥800.000 UI/mL	15 (71%)
Genotipo VHC	
1	16 (76%)
3	4 (19%)
4	1 (5%)
Respuesta virológica previa	
Recidiva	7 (33.3%)
Fracaso virológico	14 (66.7%)
Cirrosis hepática, F5-F6 <sup>b</sup>	6/17 (35.3%)
Ribavirina (mg/kg)	13.5 (10.5 - 15.3)
ALT, UI/L	68 (41 - 142)
AST, UI/L	63 (28 - 216)
Plaquetas, x 10 <sup>9</sup> /L	173 (70 – 329)
CD4+ células/ mm <sup>3</sup>	527 (118 – 1290)
ARN VIH < 50 copias/mL	17 (81%)
Tratamiento antiretroviral	19 (90.5%)
2 ITIN + 1 ITINN	12 (57.1%)
2 ITIN + 1 IP	3 (14.3%)
3 ITIN	2 (9.5%)
Otros	2 (9.5%)
Naïve	2 (9.5%)
Nucleósido/Nucleótido inhibidor TI	18 (85.7%)
Zidovudina	1 (4.8%)
Estavudina	1 (4.8%)
Lamivudina	11 (52.4%)
Emtricitabina	1 (4.8%)
Abacavir	7 (33.3%)
Tenofovir	14 (66.7%)



### Notas de pié de página Tabla 1

UDVP: usuario de drogas por vía parenteral

ITIN: Inhibidor de la transcriptasa inversa (TI) análogo de nucleósido/nucleótido.

ITINN: Inhibidor de la transcriptasa inversa (TI) no análogo de nucleósido.

IP: Inhibidor de la proteasa.

<sup>a</sup>, Las variables continuas se expresan como mediana (valores extremos); <sup>b</sup>, se realizó biopsia hepática en 17 pacientes. La valoración histológica se realizó de acuerdo con la escala de Ishak modificada; los estadios F5-F6 corresponden a fibrosis

Durante las primeras 12 semanas de tratamiento, la dosis acumulada de Peg-IFN se redujo una mediana del 11% (valores extremos, 7% – 21%), respecto a la dosis completa prevista al inicio del tratamiento, en 15 (71%) pacientes, debido a la aparición de efectos adversos neuropsiquiátricos (n = 4), pérdida de peso > 10% respecto al basal (n = 3) o toxicidad hematológica (n = 5). Además, la dosis de RBV se redujo en tres pacientes por anemia hemolítica, uno de los cuales precisó además reducción de la dosis de Peg-IFN.

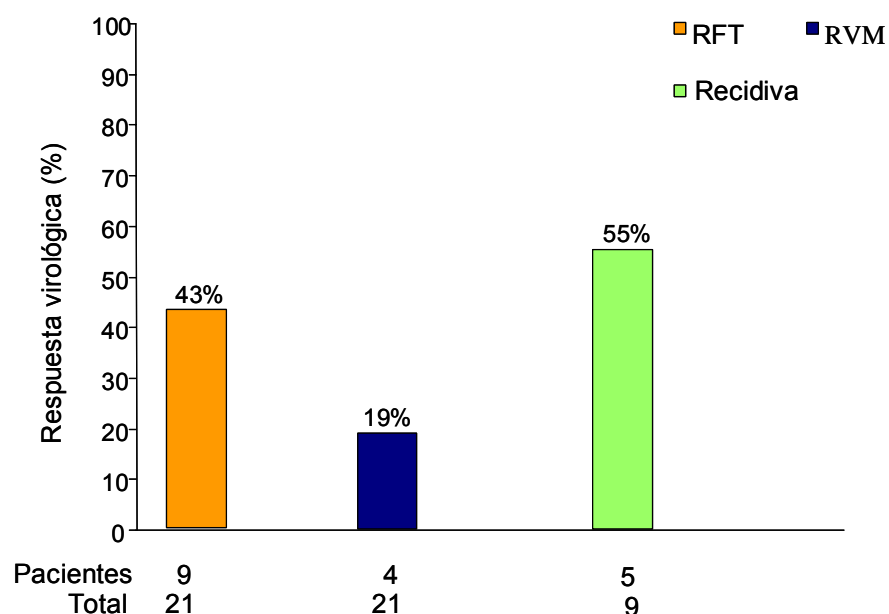
Un paciente recibió eritropoyetina por anemia y en otro caso se administró factor estimulante de granulocitos (G-CSF) por neutropenia. En ningún caso se suspendió el tratamiento por efectos adversos.

Respecto a la evolución de la infección por VIH, observamos un descenso medio máximo de 222 células/ mm<sup>3</sup> en la cifra absoluta de linfocitos CD4+ (IC 95%, 118–326 células/mm<sup>3</sup>; p<0.001) en la semana 24<sup>a</sup> de tratamiento, asociado con un aumento medio del 5% del porcentaje de linfocitos CD4+ en dicho punto del tratamiento (IC 95%, 2–8%; p=0.001). Ningún paciente presentó fracaso virológico ni progresión clínica del VIH durante el tratamiento del VHC. El descenso medio del peso corporal durante las primeras 12

semanas de tratamiento fue 3,3 Kg. (IC 95%, 2.1–4.5 Kg.;  $p < 0.001$ ), pero no se produjo ningún otro acontecimiento clínico asociado con toxicidad mitocondrial. Por falta de respuesta virológica, se suspendió el Peg-IFN y la RBV en la semana 24<sup>a</sup> de tratamiento en 12 casos (57%).

Diez pacientes (48%) obtuvieron respuesta virológica en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento (descenso del ARN VHC  $\geq 2 \log_{10}$  respecto al valor pre-tratamiento), de los cuales todos excepto uno presentaban, en dicha semana, carga viral indetectable (ARN VHC  $< 600$  UI/ml). Al final de las 48 semanas de tratamiento, de los 21 pacientes incluidos en el estudio nueve (43%) pacientes tenían carga viral indetectable (ARN VHC  $< 50$  UI/mL) (figura 1). Sin embargo, cinco de ellos (55 %) presentaron recidiva, por lo que solo cuatro (19%) pacientes obtuvieron una respuesta virológica mantenida (figura 1).

**Figura 1.** Respuesta virológica al final del tratamiento (RFT), respuesta virológica mantenida (RVM) y porcentaje de recidivas en pacientes con fracaso previo a IFN y RBV retratados con Peg-IFN y RBV



Los pacientes con genotipo 3 presentaron un porcentaje respuesta virológica mantenida del 50% (2/4), mayor que los pacientes con genotipo 1/4 12% (2/17), aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística (riesgo relativo: 4.2; IC 95%: 0.8-21.7) (tabla 2) Analizando la relación entre la respuesta previa y la respuesta al retratamiento, de los siete pacientes que habían recidivado tras el tratamiento con IFN y RBV, cinco alcanzaron respuesta virológica (ARN VHC < 50 UI/mL) durante el re-tratamiento con Peg-IFN y RBV, de los cuales dos obtuvieron una respuesta virológica mantenida. Por el contrario, de los 14 pacientes con respuesta parcial a IFN y RBV, cuatro respondieron durante el tratamiento con Peg-IFN y RBV, y dos persistieron con respuesta virológica mantenida; mientras que ninguno de los cuatro pacientes sin respuesta previa respondió al retratamiento. No obstante, no observamos diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con respuesta virológica mantenida y los pacientes sin respuesta al retratamiento con respecto a la respuesta al tratamiento previo con IFN y RBV ni a las características basales (tabla 2) Finalmente, ningún paciente con un descenso del ARN VHC en la semana 12<sup>a</sup> < 2 log<sub>10</sub> obtuvo una respuesta virológica mantenida con el retratamiento.

**Tabla 2.** Diferencias entre los pacientes con respuesta virológica mantenida (RVM) y los pacientes sin respuesta virológica (NR)

Variable <sup>a</sup>	NR (n = 17)	RVM (n = 4)	P
Edad, años	43.9 (32 – 50.6)	39.2 (35.2 – 50.4)	0.531
Sexo			0.912
Masculino	14 (82.4%)	4 (100%)	
Femenino	3 (17.6%)	0	
ARN VHC sérico			0.591
Mediana, log <sub>10</sub> UI/mL	6.2 (4.5 - 6.8)	6.3 (5.6 - 7.1)	
≥800.000	12 (70.6%)	3 (75%)	1
Genotipo VHC			0.308
1 ó 4	15 (88.2%)	2 (50%)	
3	2 (11.8%)	2 (50%)	
Respuesta virológica previa			0.848
Recidiva	5 (71.4%)	2 (28.6%)	
Fracaso virológico	12 (85.7%)	2 (14.3%)	
Cirrosis hepática, F5-F6 <sup>b</sup>	9/15 (60%)	2/2 (100%) <sup>c</sup>	0.753
Ribavirina (mg/kg)	13.6 (10.7 - 15.3)	13.1 (10.5 – 14.2)	0.420
ALT, UI/L	67 (41 - 142)	81 (60-99)	0.410
AST, UI/L	72 (28 - 216)	51 (34 – 69)	0.203
γ-GT, UI/L	99 (33 - 372)	84 (79 – 90)	0.897
Albúmina sérica, g/L	43 (32.4 - 49)	43.8 (41 – 44.6)	0.765
Hemoglobina, gr/dL	15 (12.3 – 16.5)	14.7 (14.1 – 14.9)	0.479
Plaquetas, x 10 <sup>9</sup> /L	173 (88 – 329)	219 (70 – 220)	0.965
CD4+ células /mm <sup>3</sup>	552 (118 – 1290)	510 (302 – 534)	0.362
ARN VIH < 50 copias/mL	13 (76.5%)	4 (100%)	0.718
Tratamiento antiretroviral	15 (88%)	4 (100%)	1

<sup>a</sup>, Las variables continuas se expresan como mediana (valores extremos)

<sup>b</sup>, se realizó biopsia hepática en 17 pacientes. La valoración histológica se realizó de acuerdo con la escala de Ishak modificada; los estadios F5-F6 corresponden a fibrosis;

<sup>c</sup>, no se realizó biopsia hepática en dos pacientes hemofílicos que alcanzaron respuesta virológica mantenida

## **6. DISCUSIÓN**

## 6. DISCUSIÓN

En el ensayo clínico llevado a cabo en nuestro centro el porcentaje de pacientes que obtuvo una respuesta virológica mantenida fue significativamente superior en los pacientes tratados con Peg-IFN alfa 2-b y RBV que en el grupo de pacientes tratado con IFN alfa 2-b y RBV. Este porcentaje de respuesta virológica mantenida es superior al obtenido en otros ensayos clínicos realizados en pacientes co-infectados publicados recientemente <sup>23-25, 39</sup>. Diferencias en las características de los pacientes (raza, porcentaje de pacientes con cirrosis), el diseño unicéntrico del estudio y la frecuente monitorización clínica y de la respuesta virológica, que probablemente contribuyó a mejorar el cumplimiento terapéutico, podrían explicar las discrepancias en los resultados observados.

En todos estos estudios, el genotipo 3 y el ARN VHC pre-tratamiento inferior a 800.000 UI/mL fueron, de modo consistente, las variables pre-tratamiento asociadas con mayor probabilidad de obtener una respuesta virológica mantenida <sup>23-25, 38, 39</sup>. Además, destaca el elevado valor de la dinámica de respuesta virológica observada en las primeras semanas de tratamiento para la predicción de la respuesta virológica mantenida. Así, en los diversos estudios llevados a cabo en pacientes con coinfección VHC/VIH, la monitorización de la respuesta en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento, ha mostrado una sensibilidad similar a la observada observado en pacientes mono-infectados para la detección precoz de los pacientes no respondedores <sup>23-25, 38</sup>, confirmándose que la regla del descenso de los 2 log<sub>10</sub> en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento es igualmente aplicable en pacientes coinfectados.

En nuestro estudio el análisis mediante curvas ROC de los valores de ARN VHC observados en las semanas 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento nos permitió obtener unos puntos de corte con un valor predictivo negativo del 100% que confirman e incluso refuerzan el valor práctico de la monitorización de la respuesta virológica en pacientes coinfectados para la detección precoz de pacientes con escasa-nula probabilidad de obtener una respuesta virológica mantenida aún manteniendo el tratamiento durante 48 semanas<sup>38</sup>. Estos datos resultan de gran interés ya que la identificación precoz de los pacientes no respondedores nos permite la retirada del tratamiento, evitando así los efectos secundarios y el coste adicional en aquellos pacientes sin posibilidad de eliminar la infección.

Asimismo, la respuesta virológica durante las primeras semanas de tratamiento nos permite identificar precozmente a los pacientes con una elevada probabilidad de alcanzar una respuesta virológica mantenida. Así, en nuestro estudio el 81% de los pacientes con genotipo 1/4 y el 90% de los pacientes con genotipo 3 con ARN VHC indetectable en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento obtuvieron una respuesta virológica mantenida<sup>38</sup>. Este elevado valor predictivo positivo de la respuesta virológica observada en semana 4<sup>a</sup> de tratamiento proporciona al médico un instrumento útil en la monitorización de la respuesta, facilita el cumplimiento terapéutico del paciente y, además, podría ser utilizada para individualizar la duración del tratamiento.

Basándose en un mayor porcentaje de recidivas en los pacientes coinfectados con genotipo 3 tratados durante 24 semanas en comparación con los pacientes tratados durante 48 semanas, un documento elaborado recientemente en una Conferencia de Consenso Europea recomienda tratar a todos los pacientes

coinfectados, durante al menos 48 semanas, con independencia del genotipo del VHC <sup>15</sup>. Sin embargo, esta recomendación no está basada en estudios diseñados para establecer la duración óptima del tratamiento en este grupo de pacientes. En nuestro estudio, el 71% de los pacientes con genotipo 3 tratados con Peg-IFN alfa-2b y RBV durante 24 semanas obtuvo una respuesta virológica mantenida, resultado similar al obtenido en pacientes coinfectados en otros ensayos clínicos con pautas de tratamiento de 48 semanas<sup>23-25</sup>. Aunque el número de pacientes estudiado es limitado, queremos resaltar este resultado por la implicación práctica que puede tener: una pauta combinada de Peg-IFN y RBV durante 24 semanas puede ser suficiente para un porcentaje significativo de pacientes con genotipo 3, que constituye aproximadamente un tercio del total de pacientes coinfectados. En este sentido, la respuesta virológica obtenida en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento podría ser utilizado como guía para llevar a cabo un tratamiento individualizado. Así, en nuestra experiencia, de los 18 pacientes con genotipo 3 y respuesta rápida (ARN-VHC < 100 UI/mL en la semana 4 de tratamiento) solo uno (5.5%) recidivó tras completar 24 semanas de tratamiento combinado con Peg-IFN alfa 2-b ó IFN alfa 2-b y RBV. Por el contrario, observamos una recidiva del 46% entre los 16 pacientes que consiguieron un ARN VHC indetectable en suero después de la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento.

Con la finalidad de encontrar el mejor punto de corte para definir la respuesta virológica rápida y poder extrapolar a la práctica clínica la utilidad de la dinámica de respuesta en la individualización del tratamiento en los pacientes con genotipo 3, re-analizamos muestras de suero congeladas de estos pacientes obtenidas en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento mediante una técnica



comercializada de PCR cuantitativa en tiempo real dotada de gran sensibilidad y un amplio intervalo de linealidad (COBAS AmpliPrep-COBAS TaqMan 48; Roche Molecular Diagnostic, Pleasanton, California, USA). Los resultados de este segundo estudio, confirman los hallazgos previos. Los pacientes con ARN VHC < 600 UI/mL en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento tienen un riesgo de recidiva muy bajo (5%) y obtienen una respuesta virológica muy alta (86%) tras 24 semanas de tratamiento. Un punto de corte más restrictivo, 50 UI/mL (límite de sensibilidad de las técnicas cualitativas de amplio uso) para definir la respuesta virológica rápida, mostró un valor predictivo positivo similar (88%) y una menor sensibilidad (0.65 vs. 0.83) en comparación con 600 UI/mL. Aunque el estudio tiene algunas limitaciones como el pequeño número de pacientes con genotipo 3 incluido, el análisis post-hoc y la ausencia de datos histológicos (que nos impide analizar el impacto de la cirrosis hepática en el valor predictivo de la de la dinámica de respuesta virológica) nuestros datos, a los que se suman resultados similares obtenidos recientemente por otros grupos de investigadores en estudios observacionales<sup>43</sup> muestran que los pacientes con genotipo 3 y respuesta virológica rápida, que representan aproximadamente un 20-25% del total de pacientes tratados, tienen un riesgo de recidiva muy bajo tras completar 24 semanas de tratamiento, y confirman el valor de la respuesta virológica rápida en el tratamiento individualizado de los pacientes con genotipo 3.

En nuestra experiencia, la tolerancia al tratamiento combinado con Peg-IFN alfa-2b y RBV fue similar a la observada en otros estudios en pacientes mono infectados<sup>17, 26</sup>. Sin embargo, la incidencia de acidosis láctica y otras manifestaciones clínicas asociadas a toxicidad mitocondrial constituyen una

peculiaridad del tratamiento en pacientes co-infectados en los que la RBV se asocia con determinados análogos de nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa del VIH<sup>23-25, 39, 44,45-48</sup> Sobre todo, la didanosina y la estavudina se han asociado con una depleción del contenido ADN-mitocondrial en pacientes infectados por VIH<sup>49</sup>; además, la RBV incrementa la fosforilación de la didanosina incrementado su efecto inhibitor de la ADN-polimerasa gamma<sup>50</sup>. La mayoría de los casos de toxicidad mitocondrial comunicados a la FDA ocurrieron en pacientes que recibían concomitantemente didanosina y RBV<sup>51</sup> Nuestros datos respecto al contenido de ADN-mitocondrial en células mononucleares de sangre periférica refuerzan los hallazgos previos y apoyan la restricción del uso de RBV en combinación con didanosina. Además, la descompensación hepática en pacientes con cirrosis basal aparece como otra posible manifestación clínica de la toxicidad mitocondrial en pacientes coinfectados. En uno de los pacientes fallecidos en nuestro estudio, la descompensación hepática y el posterior fallo hepático fulminante se asociaron con un marcado descenso del ADN mitocondrial en células mononucleares de sangre periférica. De hecho, en el estudio APRICOT<sup>23</sup> más del 10% de los pacientes con cirrosis sufrió una descompensación hepática durante el tratamiento, con una mortalidad del 43%<sup>52</sup>. Este porcentaje de descompensación hepática es de tres a cinco veces superior al porcentaje de descompensación espontánea observado en pacientes mono infectados con cirrosis<sup>53, 54</sup> y es una complicación excepcional durante el tratamiento del VHC en la población general. Resultados similares se observaron en un análisis del estudio RIBAVIC<sup>25</sup> En ambos estudios, el tratamiento con didanosina y la baja reserva funcional hepática se asociaron con un mayor riesgo de

descompensación hepática<sup>52, 55</sup> El análisis conjunto de estos datos sugiere que en los pacientes coinfectados existe una depleción basal del contenido en ADN-mitocondrial<sup>49</sup> secundario a la infección por VIH y el uso de análogos de nucleósido, a lo cual se añade la toxicidad de la RBV (sobre todo en combinación con didanosina) y el efecto inhibitorio del IFN sobre la transcripción del ADN-mitocondrial<sup>56</sup>. Los pacientes con una hepatopatía más evolucionada carecen de mecanismos compensadores para estas vías múltiples de disfunción mitocondrial y son susceptibles de presentar acidosis láctica o de entrar en un estado irreversible de insuficiencia hepática

Conviene destacar asimismo la seguridad del tratamiento con interferon y RBV respecto al control de la infección por VIH. En nuestro estudio, al igual que en los diversos ensayos clínicos publicados, aunque se ha observado un descenso en el número absoluto de linfocitos CD4+, el porcentaje de linfocitos CD4+ aumenta y no se han descrito fracasos virológicos. Además, el estado inmunológico basal se recupera una vez finalizado el tratamiento

Respecto a la toxicidad hematológica, el máximo descenso de hemoglobina se produjo en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento y fue significativamente superior en el grupo de pacientes que recibían zidovudina, lo que apoya la recomendación de evitar la co-administración de zidovudina y RBV<sup>15</sup>. Algunos autores han sugerido que la monitorización de los niveles séricos de RBV durante las primeras semanas de tratamiento podría permitir ajustar la dosis de RBV administrada y, en consecuencia, disminuir la toxicidad asociada<sup>34</sup> Sin embargo, en nuestra experiencia existe una débil correlación entre los niveles de RBV el descenso de hemoglobina. Además, los valores de hemoglobina se estabilizan a partir de la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento por lo que en el manejo de

la anemia inducida por RBV parece razonable el uso de eritropoyetina y reducciones de la dosis de RBV si es preciso<sup>32</sup>.

Por tanto, al igual que en pacientes mono infectados por VHC, la combinación de interferon pegilado alfa y RBV constituye el tratamiento estándar del VHC en pacientes coinfectados. Sin embargo, el diseño de los estudios clínicos previamente citados, incluido el nuestro, no nos permite conocer la dosis óptima de RBV. En este sentido, a pesar de la elevada eficacia obtenida en nuestro estudio con una dosis fija de RBV (800 mg/día), considerando el incremento de eficacia obtenida en pacientes mono infectados por VHC con genotipo 1/4 con dosis de RBV ajustada al peso corporal<sup>57</sup> y datos preliminares que sugieren que el efecto inhibitor de la RBV sobre la ARN-polimerasa y su potencial efecto mutagénico sobre el VHC son dosis-dependiente<sup>31</sup> parece razonable, también en pacientes coinfectados, ajustar la dosis RBV administrada al peso corporal, al menos en pacientes con genotipo 1/4 y ARN VHC pre-tratamiento elevado.

En relación con la dosis óptima de RBV en pacientes coinfectados, datos recientes obtenidos en estudios observacionales con un número pequeño de pacientes mono infectados por VHC, mostraron asociación entre una concentración más elevada de RBV en plasma y la probabilidad de obtener una respuesta virológica mantenida<sup>32, 33, 58</sup>. Asimismo, concentraciones más elevadas de RBV se asociaron con una mayor probabilidad de alcanzar un descenso del ARN VHC sérico mayor a  $2 \log_{10}$  en la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento, en pacientes coinfectados<sup>34</sup>, aunque esta correlación se observó sólo en pacientes con genotipo 1 ó 4 en otro estudio<sup>59</sup>. En base a estos resultados, se ha sugerido que la monitorización precoz de la concentración de

RBV sérica podría ser utilizada para individualizar la dosis de RBV con la finalidad de alcanzar una concentración diana asociada con una mayor eficacia<sup>34</sup>. Para verificar el impacto de la concentración sérica de RBV en la respuesta virológica precoz, en el estudio 3, analizamos la concentración de RBV en muestras obtenidas en la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento, en 94 pacientes coinfectados. Comprobamos que la concentración de RBV sérica en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento presenta una amplia variabilidad interindividual y, al igual que en estudios previos<sup>32, 34</sup>, se asoció con la dosis administrada de RBV ajustada al peso del paciente y no con la dosis absoluta de RBV ni con la función renal. Además, los pacientes que recibían tenofovir en su régimen de tratamiento antiretroviral presentaron concentraciones de RBV significativamente más elevadas. El mecanismo por el que ocurre esta interacción es desconocido. En sujetos sanos, la co-administración de tenofovir y una única dosis de RBV no modificó el perfil farmacocinético de ninguno de los dos fármacos<sup>60</sup>. Análisis *in vitro* han mostrado que los metabolitos mono y difosforilados del tenofovir son inhibidores de la purin-nucleósido fosforilasa implicada en el metabolismo del ddl<sup>61</sup>, lo que podría explicar el aumento de la concentración plasmática de ddl observada en la práctica clínica cuando se administran ambos fármacos<sup>62</sup>. La RBV es asimismo un análogo nucleósido de las purinas con una gran distribución intraeritrocitaria. La potencial interferencia de los metabolitos fosforilados del tenofovir, que alcanzan una elevada concentración intraeritrocitaria<sup>63</sup>, en el metabolismo de la RBV podría explicar los niveles más elevados en suero de RBV en aquellos pacientes que recibían simultáneamente ambos fármacos en nuestro estudio. Por otra parte, el tenofovir puede disminuir el filtrado glomerular de creatinina<sup>64</sup> e,

hipotéticamente, interferir con la eliminación renal de la RBV. Sin embargo, en nuestro estudio, el filtrado glomerular de creatinina era similar en los pacientes con y sin tenofovir. Por tanto, la interferencia del tenofovir en el metabolismo o la eliminación renal de la RBV es un aspecto abierto a debate.

En contraste con los resultados obtenidos en los estudios previos<sup>32-34, 58,59</sup> Dahari et al. en 24 pacientes coinfectados, el 91% con genotipo 1, en el que la concentración de RBV plasmática en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento fue significativamente inferior en 6 pacientes que alcanzaron una respuesta virológica mantenida que en 18 pacientes sin respuesta virológica<sup>65</sup>. La hipótesis de los autores es que la incorporación intracelular precoz de la RBV puede estar aumentada en los pacientes que obtienen respuesta virológica. En teoría, la acumulación intracelular precoz de la RBV podría favorecer su efecto mutagénico, sobre todo en aquellos pacientes en los que el efecto antiviral del interferón es débil o moderado<sup>66</sup>. A favor de esta hipótesis, se observó una correlación negativa entre la concentración sérica de RBV y el descenso de hemoglobina en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento, que fue significativamente mayor en los pacientes con respuesta virológica mantenida<sup>67</sup>. La discrepancia observada entre estos resultados podría ser debida a un sesgo en los estudios previos: secundario al cumplimiento terapéutico (los pacientes con peor cumplimiento terapéutico tendrían niveles menores de RBV y una peor respuesta virológica); debido a un error en la recogida de la muestra (las muestras analizadas pueden no corresponder al nivel valle y haber sido obtenidas tras la toma de dosis en pacientes con buen cumplimiento terapéutico y por tanto con mayor probabilidad de alcanzar respuesta virológica); y/o interferencia de la hemólisis en las muestras analizadas (debido

a la elevada concentración intraeritrocitaria de la RBV, la hemólisis que puede ocurrir durante la manipulación de la muestra de sangre para obtener suero podría incrementar de modo facticio la concentración sérica de RBV).

En nuestro estudio, observamos una correlación inversa entre la concentración sérica de RBV y la respuesta virológica en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento, con diferencias estadísticamente significativas en el subgrupo de pacientes con genotipo 1/4. En el análisis multivariante, una concentración más baja de RBV en la semana 4<sup>a</sup> y el ARN VHC pre-tratamiento < 800.000 UI/mL se asociaron con la obtención de una respuesta rápida (ARN VHC < 50 UI/mL en la semana 4<sup>a</sup>) en los pacientes con genotipo 1/4. Sin embargo, en nuestro estudio, la concentración de RBV mostró una pobre capacidad para discriminar entre los pacientes con y sin ARN VHC indetectable en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento. Por tanto, aunque son necesarios nuevos estudios para verificar la relación entre la farmacocinética de la RBV y la dinámica de respuesta virológica precoz, nuestros datos no apoyan la utilidad de la monitorización de los niveles séricos de RBV en la optimización del tratamiento del VHC.

Como limitaciones de este estudio, los pacientes fueron incluidos con la condición de que dispusieran de muestra de suero de la semana 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento congelada, lo cual puede originar un sesgo de selección al excluir a pacientes con abandonos prematuros del tratamiento. Sin embargo, el 85% de los pacientes que iniciaron tratamiento con Peg-IFN alfa-2b y RBV en nuestro hospital desde 2001 fueron incluidos en este estudio, y los porcentajes de respuesta virológica fueron similares a los obtenidos en el ensayo clínico previamente mencionado<sup>38</sup>. Además, el análisis de la concentración de RBV se realizó en muestras congeladas durante un periodo de tiempo variable, hasta

un máximo de 5 años. Loregian A, et al. han comunicado la estabilidad de la RBV en muestras de plasma congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta 1 mes<sup>68</sup>. Aunque no podemos asegurar la estabilidad de la RBV en las muestras utilizadas en nuestro estudio, el análisis apareado de 15 muestras, con una mediana de 6 meses de diferencia, no mostró diferencias significativas en la concentración de RBV.

Finalmente, en el estudio 4 abordamos la valoración de la eficacia del tratamiento con Peg-IFN alfa-2b y RBV (800 – 1200 mg/día) en 21 pacientes con fracaso virológico (n = 14) o recidiva (n = 7) tras el tratamiento previo con IFN alfa-2b (3 MUI/3 días por semana) y RBV (800 mg/día). Aunque la interpretación de los resultados debe ser cautelosa, el 19% (4/21) de los pacientes obtuvo una respuesta virológica mantenida. En el único estudio previo publicado que aborda el re-tratamiento de pacientes coinfectados con fracaso a interferón convencional y RBV, el 13% de los pacientes tratados con Peg-IFN y RBV alcanzó una respuesta virológica mantenida<sup>40</sup>. Porcentajes de respuesta similares (16-20%) se obtuvieron en pacientes mono infectados<sup>69-71</sup> lo que subraya la dificultad del tratamiento de estos pacientes y suscita la necesidad de realizar una cuidadosa selección de los pacientes que se pueden beneficiar del retratamiento. A pesar de la limitación del tamaño de la muestra, los datos proporcionados por nuestro estudio pueden ser de utilidad práctica para los médicos que se enfrentan al retratamiento del VHC en pacientes coinfectados por VIH con fracaso a una pauta previa de interferon convencional y RBV. Aunque ninguna de las variables pre-tratamiento se asoció de forma independiente con la respuesta, los pacientes con genotipo 3 obtuvieron un mayor porcentaje de respuesta virológica mantenida. Además, ningún paciente



con respuesta nula al tratamiento previo (ARN VHC  $< 2 \log_{10}$ ) consiguió un ARN VHC indetectable durante el retratamiento. A destacar que de los 9 pacientes que obtuvieron respuesta al final de las 48 semanas de tratamiento, 7 tenían genotipo 1; 4 una carga viral pre-tratamiento alta y el 83% cirrosis. Estos datos sugieren que, probablemente con la excepción de los pacientes con respuesta virológica nula, no deberíamos descartar el retratamiento basándonos en las características pre-tratamiento asociadas con baja probabilidad de respuesta. Además, ningún paciente con descenso de la carga viral inferior a  $2 \log_{10}$  en la semana 12 de tratamiento obtuvo respuesta virológica, lo que sugiere que esta regla puede ser utilizada para la detección precoz de los pacientes no respondedores, también en pautas de retratamiento.

Aunque no se produjeron abandonos precoces, durante las primeras 12 semanas de tratamiento, el 71% de los pacientes precisó una reducción mediana del 11% en la dosis de Peg-IFN por intolerancia o efectos adversos y, además, en 3 pacientes se redujo la dosis de RBV por anemia (uno de ellos asociado con la reducción de Peg-IFN). A pesar de que la reducción de la dosis no se asoció con la recidiva virológica, no podemos descartar un error derivado del pequeño tamaño de muestra. En un estudio reciente con pacientes mono infectados por VHC, una reducción superior al 20% de la dosis acumulada de peginterferon durante las primeras 20 semanas de retratamiento redujo la eficacia casi un 50%<sup>72</sup>. Por tanto, son necesarias estrategias individualizadas (monitorización clínica y virológica frecuentes; tratamiento precoz con fármacos antidepressivos o factores hematopoyéticos) con la finalidad de evitar reducciones de dosis, sobre todo durante las primeras 20

semanas de tratamiento. Por otro lado, aunque la monitorización de la respuesta virológica rápida y precoz puede ser útil para individualizar la duración del tratamiento en pacientes naïve<sup>23-25, 73, 74</sup>, su utilidad en pautas de retratamiento no ha sido confirmada.

En resumen, el 43% de los pacientes coinfectados VHC/VIH que había fracasado al tratamiento previo con interferon convencional y una dosis fija de RBV (800m/día) consiguieron un ARN VHC indetectable durante el retratamiento con Peg-IFN y RBV ajustada al peso. Sin embargo, sólo el 19% mantuvo la respuesta virológica debido al alta porcentaje de recidivas después de 48 semanas de tratamiento. Estos datos sugieren la utilización de pautas individualizadas de tratamiento más agresivas para mejorar la eficacia del retratamiento en estos pacientes.

## **7. CONCLUSIONES**

## 7.1. CONCLUSIONES DEL PRIMER Y SEGUNDO ESTUDIO

1. La combinación de Peg-IFN alfa-2b y RBV es más eficaz que IFN alfa-2b y RBV para el tratamiento del VHC en pacientes coinfectados por el VIH
2. La RBV aumenta riesgo de toxicidad mitocondrial por didanosina, por lo que esta asociación está contraindicada.
3. La respuesta virológica en la semana 4<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento permite identificar precozmente a los pacientes no respondedores
4. Los pacientes con genotipo 3 y ARN VHC < 600 UI/mL en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento tienen un riesgo de recidiva muy bajo tras 24 semanas de tratamiento combinado.

## 7.2. CONCLUSIONES DEL TERCER ESTUDIO

1. La co-administración de tenofovir y mayores dosis de RBV (mg/Kg) se asociaron con niveles séricos más elevados de RBV en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento
2. En pacientes con genotipo 1 ó 4, observamos una correlación inversa entre los niveles séricos de RBV y la respuesta virológica en la semana 4<sup>a</sup> de tratamiento, lo que sugiere una mayor incorporación celular de RBV en los pacientes con respuesta viral rápida.
3. La concentración de RBV mostró una escasa capacidad para discernir entre pacientes con y sin respuesta virológica en las semanas 4<sup>a</sup> y 12<sup>a</sup> de tratamiento

### 7. 3. CONCLUSIONES DEL CUARTO ESTUDIO

1. El 19% de los pacientes con fracaso virológico al tratamiento con interferon alfa-2b y RBV obtuvo una respuesta virológica mantenida tras re-tratamiento con Peg-IFN alfa-2b y RBV.
2. La probabilidad de obtener una respuesta virológica mantenida fue mayor en los pacientes con genotipo 3 y con recidiva viral previa
3. La ausencia de respuesta virológica precoz (descenso ARN VHC  $< 2 \log_{10}$  en la semana 12<sup>a</sup> de tratamiento) mostró una sensibilidad del 100% para la identificación precoz de los paciente no respondedores

## Bibliografía

1. Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, Lyles CM, Cohn S, Thomas DL. Incidence and risk factors for hepatitis C among injection drug users in Baltimore, Maryland. *J Clin Microbiol* 1997; 35(12):3274-3277.
2. Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L et al. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989; 2(8658):294-297.
3. Mocroft A, Brettle R, Kirk O et al. Changes in the cause of death among HIV positive subjects across Europe: results from the EuroSIDA study. *AIDS* 2002; 16(12):1663-1671.
4. Palella FJ, Jr., Delaney KM, Moorman AC et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 338(13):853-860.
5. Graham CS, Baden LR, Yu E et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 33(4):562-569.
6. Monga HK, Rodriguez-Barradas MC, Breaux K et al. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001; 33(2):240-247.
7. Bica I, McGovern B, Dhar R et al. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001; 32(3):492-497.
8. Martinez-Sierra C, Arizcorreta A, Diaz F et al. Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2003; 36(4):491-498.
9. Mohsen AH, Easterbrook PJ, Taylor C et al. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) infection on the progression of liver fibrosis in hepatitis C virus infected patients. *Gut* 2003; 52(7):1035-1040.
10. Goedert JJ, Eyster ME, Lederman MM et al. End-stage liver disease in persons with hemophilia and transfusion-associated infections. *Blood* 2002; 100(5):1584-1589.
11. Alberti A, Chemello L, Benvegna L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31 Suppl 1:17-24.
12. Sulkowski MS, Thomas DL, Mehta SH, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing

- antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections. *Hepatology* 2002; 35(1):182-189.
13. Martinez E, Blanco JL, Arnaiz JA et al. Hepatotoxicity in HIV-1-infected patients receiving nevirapine-containing antiretroviral therapy. *AIDS* 2001; 15(10):1261-1268.
  14. Rosenthal E, Poiree M, Pradier C et al. Mortality due to hepatitis C-related liver disease in HIV-infected patients in France (Mortavic 2001 study). *AIDS* 2003; 17(12):1803-1809.
  15. Alberti A, Clumeck N, Gerlich W, Lundgren J, Palù G, Reiss P. Short statement of the first European Consensus Conference on the treatment of chronic hepatitis B and C in HIV co-infected patients. *Journal of Hepatology* 2005; 42:615-624.
  16. Brau N. Treatment of chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus-coinfected patients in the era of pegylated interferon and ribavirin. *Semin Liver Dis* 2005; 25(1):33-51.
  17. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358(9286):958-965.
  18. Martell M, Gómez J, Esteban J, Sauleda S, Quer J, Cabot B. High throughput real-time reverse transcription-PCR quantitation of hepatitis C virus RNA. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37:327-332.
  19. Nine JS, Moraca M, Virji MA, Rao KN. Serum-ethanol determination: comparison of lactate and lactate dehydrogenase interference in three enzymatic assays. *J Anal Toxicol* 1995; 19(3):192-196.
  20. Vila MR, Segovia-Silvestre T, Gamez J et al. Reversion of mtDNA depletion in a patient with TK2 deficiency. *Neurology* 2003; 60(7):1203-1205.
  21. Sauleda S, Esteban JI, Juarez, A. Preventing lactic acidosis in HCV-HIV coinfecting patients during interferon and ribavirin treatment. Development of a real-time PCR for mitochondrial DNA copy number in PBMCs. In: 53rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases: Boston, MA, USA, 1-5 November 2002 (Abstract 256). *Hepatology* . 2002.  
Ref Type: Abstract
  22. Sauleda S, Juarez A, Esteban JI et al. Interferon and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus-infected patients with congenital coagulation disorders. *Hepatology* 2001; 34(5):1035-1040.



23. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2004; 351(5):438-450.
24. Chung RT, Andersen J, Volberding P et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med* 2004; 351(5):451-459.
25. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S et al. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 292(23):2839-2848.
26. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347(13):975-982.
27. Bronowicki JP, Ouzan D, Asselah T et al. Effect of ribavirin in genotype 1 patients with hepatitis C responding to pegylated interferon alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006; 131(4):1040-1048.
28. Layden-Almer JE, Ribeiro RM, Wiley T, Perelson AS, Layden TJ. Viral dynamics and response differences in HCV-infected African American and white patients treated with IFN and ribavirin. *Hepatology* 2003; 37(6):1343-1350.
29. Neumann AU, Lam NP, Dahari H et al. Differences in viral dynamics between genotypes 1 and 2 of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 2000; 182(1):28-35.
30. Herrmann E, Lee JH, Marinos G, Modi M, Zeuzem S. Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. *Hepatology* 2003; 37(6):1351-1358.
31. Pawlotsky JM, Dahari H, Neumann AU et al. Antiviral action of ribavirin in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2004; 126(3):703-714.
32. Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D, Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit* 2000; 22(5):555-565.
33. Larrat S, Stanke-Labesque F, Plages A, Zarski JP, Bessard G, Souvignet C. Ribavirin quantification in combination treatment of chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(1):124-129.
34. Rendon AL, Nunez M, Romero M et al. Early monitoring of ribavirin plasma concentrations may predict anemia and early virologic response in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 39(4):401-405.
35. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus

- ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38(3):645-652.
36. Svensson JO, Bruchfeld A, Schvarcz R, Stahle L. Determination of ribavirin in serum using highly selective solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Ther Drug Monit* 2000; 22(2):215-218.
  37. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16:31-41.
  38. Crespo M, Sauleda S, Esteban JI et al. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin vs interferon alpha-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients. *J Viral Hepat* 2007; 14(4):228-238.
  39. Laguno M, Murillas J, Blanco JL et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS* 2004; 18(13):F27-F36.
  40. Myers RP, Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, Mehri D, Poynard T. Pegylated interferon alpha 2b and ribavirin in HIV/hepatitis C virus-co-infected non-responders and relapsers to IFN-based therapy. *AIDS* 2004; 18(1):75-79.
  41. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39(4):1147-1171.
  42. Ishak K, Baptista A, Bianchi L et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis  
53. *J Hepatol* 1995; 22(6):696-699.
  43. Mira J, Valera-Bestard B, Aizcorreta A et al. Rapid virological response at week 4 predicts sustained response to pegylated interferon plus ribavirin among HIV/HCV co-infected patients. 14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections 25-28 February 2007, Los Angeles, CA, USA Abstract 891 2007.
  44. Perez-Olmeda M, Nunez M, Romero M et al. Pegylated IFN-alpha2b plus ribavirin as therapy for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS* 2003; 17(7):1023-1028.
  45. Lafeuillade A, Hittinger G, Chadapaud S. Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV coinfection. *Lancet* 2001; 357(9252):280-281.
  46. Salmon-Ceron D, Chauvelot-Moachon L, Abad S, Silbermann B, Sogni P. Mitochondrial toxic effects and ribavirin. *Lancet* 2001; 357(9270):1803-1804.
  47. Moreno A, Quereda C, Moreno L et al. High rate of didanosine-related mitochondrial toxicity in HIV/HCV-coinfected patients receiving ribavirin. *Antivir Ther* 2004; 9(1):133-138.

48. Laguno M, Milinkovic A, de LE et al. Incidence and risk factors for mitochondrial toxicity in treated HIV/HCV-coinfected patients. *Antivir Ther* 2005; 10(3):423-429.
49. Walker UA, Bauerle J, Laguno M et al. Depletion of mitochondrial DNA in liver under antiretroviral therapy with didanosine, stavudine, or zalcitabine. *Hepatology* 2004; 39(2):311-317.
50. Balzarini J, Lee CK, Herdewijn P, De CE. Mechanism of the potentiating effect of ribavirin on the activity of 2',3'-dideoxyinosine against human immunodeficiency virus. *J Biol Chem* 1991; 266(32):21509-21514.
51. Fleischer R, Boxwell D, Sherman KE. Nucleoside analogues and mitochondrial toxicity. *Clin Infect Dis* 2004; 38(8):e79-e80.
52. Mauss S, Valenti W, DePamphilis J et al. Risk factors for hepatic decompensation in patients with HIV/HCV coinfection and liver cirrhosis during interferon-based therapy. *AIDS* 2004; 18(13):F21-F25.
53. Fattovich G, Giustina G, Degos F et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997; 112(2):463-472.
54. Hu KQ, Tong MJ. The long-term outcomes of patients with compensated hepatitis C virus-related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. *Hepatology* 1999; 29(4):1311-1316.
55. Bani-Sadr F, Carrat F, Pol S et al. Risk factors for symptomatic mitochondrial toxicity in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients during interferon plus ribavirin-based therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40(1):47-52.
56. Lewis JA, Huq A, Najarro P. Inhibition of mitochondrial function by interferon. *J Biol Chem* 1996; 271(22):13184-13190.
57. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140(5):346-355.
58. Tsubota A, Akuta N, Suzuki F et al. Viral dynamics and pharmacokinetics in combined interferon alfa-2b and ribavirin therapy for patients infected with hepatitis C virus of genotype 1b and high pretreatment viral load. *Intervirology* 2002; 45(1):33-42.
59. Aguilar D, Gonzalez-Requena D, Veronese L et al. Cut-off values of RBV through concentration for sustained virological response and for hematological toxicity in HIV/HCV co-infected patients treated with ribavirin and pegylated interferon. 14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections. 25-28 February 2007, Los Angeles, CA, USA. Abstract 903. 2007.

60. Ramanathan S, Cheng A, Mittan A, Ebrahimi R, Kearney BP. Absence of clinically relevant pharmacokinetic interaction between ribavirin and tenofovir in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 2006; 46(5):559-566.
61. Ray AS, Olson L, Fridland A. Role of purine nucleoside phosphorylase in interactions between 2',3'-dideoxyinosine and allopurinol, ganciclovir, or tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48(4):1089-1095.
62. Kearney BP, Sayre JR, Flaherty JF, Chen SS, Kaul S, Cheng AK. Drug-drug and drug-food interactions between tenofovir disoproxil fumarate and didanosine. *J Clin Pharmacol* 2005; 45(12):1360-1367.
63. Durand-Gasselín L, Da SD, Benech H, Pruvost A, Grassi J. Evidence and possible consequences of the phosphorylation of nucleoside reverse transcriptase inhibitors in human red blood cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51(6):2105-2111.
64. Gallant JE, Parish MA, Keruly JC, Moore RD. Changes in renal function associated with tenofovir disoproxil fumarate treatment, compared with nucleoside reverse-transcriptase inhibitor treatment. *Clin Infect Dis* 2005; 40(8):1194-1198.
65. Dahari H, Markatou M, Zeremski M et al. Early ribavirin pharmacokinetics, HCV RNA and alanine aminotransferase kinetics in HIV/HCV co-infected patients during treatment with pegylated interferon and ribavirin. *J Hepatol*.doi:10.1016/j.jhep.2007.01.27 . 4-4-2007. Ref Type: Electronic Citation
66. Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, Perelson AS. Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection. *Nature* 2004; 432(7019):922-924.
67. Dahari H, Markatou M, Zeremski M et al. Early ribavirin pharmacokinetics, HCV RNA and alanine aminotransferase kinetics in HIV/HCV co-infected patients during treatment with pegylated interferon and ribavirin. *J Hepatol*.doi:10.1016/j.jhep.2007.01.27 . 4-4-2007. Ref Type: Electronic Citation
68. Loregian A, Scarpa MC, Pagni S, Parisi SG, Palu G. Measurement of ribavirin and evaluation of its stability in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007.
69. Shiffman ML, Di Bisceglie AM, Lindsay KL et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology* 2004; 126(4):1015-1023.
70. Jacobson IM, Gonzalez SA, Ahmed F et al. A randomized trial of pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin in the retreatment of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2005; 100(11):2453-2462.

71. Taliani G, Gemignani G, Ferrari C et al. Pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin in the retreatment of interferon-ribavirin nonresponder patients. *Gastroenterology* 2006; 130(4):1098-1106.
72. Shiffman ML, Ghany MG, Morgan TR et al. Impact of reducing peginterferon alfa-2a and ribavirin dose during retreatment in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2007; 132(1):103-112.
73. Ballesteros AL, Franco S, Fuster D et al. Early HCV dynamics on Peg-interferon and ribavirin in HIV/HCV co-infection: indications for the investigation of new treatment approaches. *AIDS* 2004; 18(1):59-66.
74. Crespo M, Esteban JI, Ribera E et al. Utility of week-4 viral response to tailor treatment duration in hepatitis C virus genotype 3/HIV co-infected patients. *AIDS* 2007; 21(4):477-481.

## **10. PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A CONGRESOS**

## **PUBLICACIONES**

- 1.** Crespo M, Esteban JI, Sauleda S, Juarez A, Ribera E Andreu AL, Falcó V, Quer J, Ocaña I, Ruiz I, Buti M, Pahissa A, Esteban R, Guardia J.. Peginterferon Alfa-2b plus ribavirin versus interferon Alfa-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients. *J Viral Hepatitis* 2007; 14:228-238.
- 2.** Crespo M, Esteban JI, Ribera E, Falcó V, Sauleda S, Buti M, Esteban R, Guardia R, Guardia J, Ocaña I, Pahissa A. Utility of the week-four viral response to predict sustained response to a 24-week course of interferon and ribavirin treatment in patients with genotype 3 chronic hepatitis C and HIV-coinfection. *AIDS* 2007; 21:477-481.
- 3.** Crespo M, Pou L, Esteban JI, Falcó V, Ribera E, Lopez R, Sauleda S, Curran A, Villar del Saz S, Feijóo M, Ocaña I, Pahissa A. Early Monitoring of Ribavirin Serum Concentration is not Useful to Optimise HCV Treatment in HIV-Coinfected Patients. *Antiviral Therapy*. Aceptado para publicación.

## COMUNICACIONES A CONGRESOS

1. Crespo M, Esteban JI, Sauleda S, Juárez A, Falcó V, et al. Early prediction of sustained virological response in patients with chronic hepatitis C and HIV infection treated with IFN plus RBV. *Hepatology* 2004; 40 (S1): 428A.
2. Crespo M, Esteban JI, Sauleda S, Juárez A, Ribera E, Falcó V, et al. Estudio aleatorizado, comparativo entre peginterferon alfa-2b (PEG) y ribavirina (RBV) versus interferon alfa-2b (IFN) y RBV para el tratamiento de la hepatitis crónica por VHC en pacientes VIH+. XI congreso de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica (SEIMC). Bilbao, 16-19 de mayo de 2004. Abstract 640.
3. Crespo M, Sauleda S, Esteban JI, Buti M, et al. Peginterferon Alfa-2b plus ribavirin versus interferon alfa-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients. *Hepatology* 2005; 42 (S1): 1276A.
4. Crespo M, Esteban JI, Ribera E, Falcó V. et al. Utility of the early viral response to individually-adjust the duration of treatment for chronic hepatitis C (CHC), genotype 2 or 3, in HIV-coinfected patients. 13th Conference on Retroviral and Opportunistic Infections. Denver, 2006, P-81.
5. Crespo M, Pou L, Esteban JI, Falcó V, Ribera E. et al Is serum ribavirin monitoring useful to optimise HCV treatment in HIV coinfecting patients. 3<sup>rd</sup> International Workshop on HIV and Hepatitis Coinfection, Abstract 7; 7-9 June 2007, Paris, France.
6. Crespo M, Esteban JI, Falcó V, Ribera E et al. Efficacy of Pegylated-Interferon Alfa-2b and Ribavirin for re-treatment of chronic HCV infection in HIV-coinfected patients failing a previous course of standard Interferon Alfa-2b plus Ribavirin. 3<sup>rd</sup> International Workshop on HIV and Hepatitis Coinfection, Abstract 5; 7-9 June 2007, Paris, France.



## Peginterferon alpha-2b plus ribavirin vs interferon alpha-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients

M. Crespo,<sup>1</sup> S. Sauleda,<sup>2</sup> J. I. Esteban,<sup>3</sup> A. Juarez,<sup>3</sup> E. Ribera,<sup>1</sup> A. L. Andreu,<sup>4</sup> V. Falco,<sup>1</sup> J. Quer,<sup>3</sup> I. Ocaña,<sup>1</sup> I. Ruiz,<sup>1</sup> M. Buti,<sup>3</sup> A. Pahissa,<sup>1</sup> R. Esteban<sup>3</sup> and J. Guardia<sup>3</sup> <sup>1</sup>Infectious Diseases Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; <sup>2</sup>Centre de Transfusió i Banc de Teixits, Institut Català de la Salut, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; <sup>3</sup>Liver Unit, Department of Medicine, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; and <sup>4</sup>Centre d'Investigació en Bioquímica i Biologia Molecular, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

Received January 2006; accepted for publication March 2006

**SUMMARY.** Treatment of chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients is associated with low response rates and high incidence of side effects. One hundred twenty-one hepatitis C virus (HCV)-HIV-coinfected patients were randomized to receive interferon alpha-2b (3 MU thrice weekly;  $n = 61$ ) or peginterferon alpha-2b (1.5 µg/kg/week;  $n = 60$ ), plus ribavirin (800 mg daily), for 24 (genotype 2 or 3) or 48 weeks (genotype 1 or 4). We assessed early virological response at 4, 8 and 12 weeks to predict sustained virological response (SVR). Safety assessment included frequent blood lactate measurement and relative quantitation of mitochondrial DNA (mtDNA) content in peripheral blood mononuclear cells. In intention-to-treat analysis, the SVR rate was higher in the peginterferon group (55% vs 26%;  $P = 0.002$ ). The difference for HCV genotypes 1 and 4 was 45% vs 14% ( $P = 0.009$ ) and 50% vs 27% ( $P = 0.387$ ), respectively, and for genotype 2 or 3, 71% vs 43% ( $P = 0.12$ ). Viral response at 4,

8 and 12 weeks of treatment was highly predictive of SVR. Among genotype 3 patients, 17 of 20 (85%) whose HCV RNA was already undetectable at 4 weeks had an SVR after 24 weeks of treatment. Hyperlactataemia occurred in 22 patients and was clinically significant in six, two of whom died. mtDNA decreased significantly 4–12 weeks after the start of treatment in patients developing clinically significant hyperlactataemia. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin was more effective than interferon alpha-2b plus ribavirin in HIV-coinfected patients. Frequent monitoring of virological response may be very helpful to optimize treatment compliance, to tailor treatment duration and to minimize side effects.

**Keywords:** hyperlactataemia and liver failure, mitochondrial DNA by real-time PCR, mitochondrial toxicity, treatment of chronic hepatitis C.

### INTRODUCTION

Coinfection with hepatitis C virus (HCV) and human immunodeficiency virus (HIV) is highly prevalent in patients who acquired HIV by the parenteral route [1,2].

The prolonged survival associated with the use of highly active antiretroviral therapy (HAART) and the increased

incidence of drug-related hepatotoxicity and a more rapid evolution towards end-stage liver disease has made treatment of chronic hepatitis C in these patients a priority [3–9]. Accordingly, it has been recommended that HIV-coinfected patients be considered candidates for treatment [10]. Recently, data from multicentre trials in coinfecting patients have shown a higher treatment efficacy with peginterferon and ribavirin over the standard interferon-ribavirin combination [11–14], although with response rates lower than those reported in HIV negative patients [15–17]. Furthermore, severe side effects associated with mitochondrial toxicity, attributed to the effect of ribavirin in combination with certain nucleoside analogues, have been reported [11–14].

Here we report the results of a randomized trial comparing the safety and efficacy of peginterferon  $\alpha$ -2b with those of interferon  $\alpha$ -2b both in combination with ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients.

Abbreviations: SVR, sustained virological response; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; HAART, highly active antiretroviral therapy; PBMCs, peripheral blood mononuclear cells; ROC, receiver operating characteristics; mtDNA, mitochondrial DNA; nDNA, nuclear DNA;  $\gamma$ GT, gammaglutamyl transpeptidase; ALT, alanine aminotransferase.

Correspondence: Juan I Esteban, Liver Unit, Department of Internal Medicine, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Passeig Vall d'Hebron 119–129, Barcelona-08035, Spain. E-mail: jiesteban@vhebron.net

## METHODS

### Patient selection

Eligibility criteria included age (18–60 years), serum alanine aminotransferase (ALT) >44 IU/L in men and >34 IU/L in women, serum HCV RNA > 1000 IU/mL, CD4+ T-cell count  $\geq 200$  cells/mm<sup>3</sup> and serum HIV RNA < 80 copies/mL for patients on HAART or <10 000 copies/mL for HAART-naïve patients. Exclusion criteria included prior interferon treatment, HBV coinfection, active drug or alcohol abuse (self-reported intake  $\geq 60$  g/day) and/or opportunistic infection within the previous 6 months, decompensated cirrhosis, serum creatinine  $\geq 1.5$  times the upper normal limit, haemoglobin < 11 g/dL in women or < 12 g/dL in men; neutrophil count < 1500/mm<sup>3</sup>, platelet count < 70 000/mm<sup>3</sup> and a history of major psychiatric illness or active autoimmune disease.

### Study design

This randomized, open-label study started in January 2001 at a single tertiary hospital. The study protocol was approved by the Institutional Review Board, and all participating patients provided written informed consent. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practices guidelines.

Eligible patients were stratified by HCV genotype (1 or 4 vs 2 or 3) and gender, and then randomly assigned, by a centralized, computer-generated group sequential design, to receive peginterferon alpha-2b (PegIntron; Schering-Plough, Kenilworth, NJ, USA) 1.5 µg/kg once a week or interferon alpha-2b (Intron A; Schering-Plough) 3 MU thrice weekly. All patients received 400 mg of oral ribavirin twice daily (Rebetol; Schering-Plough). Patients with HCV genotype 2 or 3 were treated for 24 weeks, while those with genotype 1 or 4, with HCV RNA <100 IU/mL at 24 weeks, completed 48 weeks. Patients with detectable HCV RNA at 24 weeks were considered nonresponders and treatment was stopped. Patients were followed for 24 weeks after the end of therapy (Fig. 1).

### Assessment of safety

Physical examination, standard laboratory tests (including, since July 2001, blood lactate level) and an adverse events questionnaire were performed weekly during the first month of treatment and monthly thereafter, with re-evaluation 8 and 24 weeks after therapy. Serum HCV and HIV RNA and CD4+ cell counts were tested at baseline and at weeks 4, 8, 12, 24 and 48 during treatment and 8 and 24 weeks after treatment. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were collected at these time points and cryopreserved.

Any life-threatening adverse event, severe adverse events persisting more than 4 weeks or progression to

AIDS prompted treatment withdrawal. Reduction of ribavirin to 600 or 400 mg and stepwise reductions of peginterferon to 1.0, 0.75 and 0.5 µg/kg, or interferon to 1.5 MU/tw were allowed to manage adverse events or laboratory abnormalities. Patients could continue on interferon if ribavirin had to be discontinued. Haemopoietic growth factor use was allowed to manage significant hematological toxicity.

### Assessment of efficacy

The primary efficacy end point was sustained virological response (SVR) defined as undetectable serum HCV RNA (< 50 IU/mL) 24 weeks after the end of treatment. Patients lacking HCV RNA measurement 24 weeks after treatment end were considered nonresponders.

### Laboratory testing

Hepatitis C virus RNA level was determined by real-time RT-PCR as reported [18] (detection limit: 100 IU/mL; dynamic range: 5 logs). A commercial PCR test with a detection limit of 50 IU/mL (Cobas Amplicor HCV v2.0; Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ, USA) was used at the end of follow-up. HCV genotyping was performed by line probe assay (INNO-LiPA; Innogenetics, Antwerp, Belgium). HIV RNA was determined by a commercial NASBA assay (Organon Teknica, Bostel, The Netherlands), with a detection limit of 80 copies/mL. CD4+ T cells were determined by flow cytometry (FACScan; Becton Dickinson, Erembodegem Aslst, Belgium), and blood lactate levels were analyzed as described [19].

### Relative mitochondrial DNA quantitation in peripheral blood mononuclear cells

Southern blot analysis for relative quantitation of mitochondrial DNA (mtDNA) in PBMCs was carried out as described previously [20]. Results in patient samples were compared with those in parallel samples from five healthy subjects.

Relative quantitation of mtDNA versus nuclear DNA (nDNA) was performed by real-time PCR in an ABI PRISM 7700 sequence detector (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) as described previously [21]. Briefly, total DNA was extracted from  $2 \times 10^6$  PBMCs with the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). For each sample, mtDNA and nDNA were quantitated in the same reaction tube. One set of primers (forward primer: 5'-CCA CGG GAA ACA GCA GTG ATT-3', reverse primer: 5'-CTA TFG ACT TGG GTT AAT CGT GTG A-3') and FAM-labelled TaqMan probe (minor groove binding probe: 5'-FAM-TGC CAG CCA CCG CG-MGB-3') was designed for the 12S ribosomal gene of mtDNA using the Primer Express software (Applied Biosystems). For nDNA detection, a set of primers and a

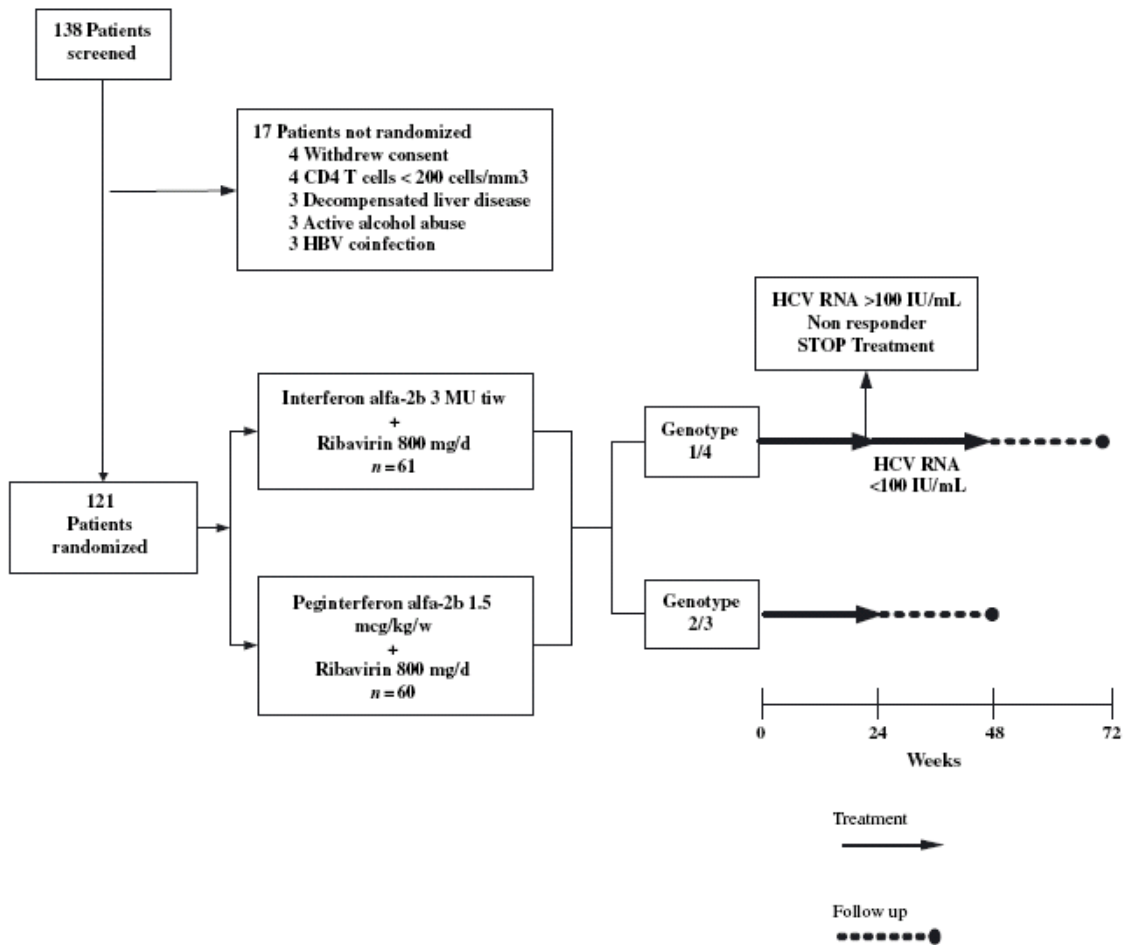


Fig. 1 Trial profile.

VIC-labelled probe targeting the RNase P nuclear gene were used (Human RNase P PDAR; Applied Biosystems). Thermal cyclor conditions were as follows: 50°C for 2 min, 95°C for 10 min, and 40 cycles of 95°C for 15 s and 60°C for 1 min. All samples were tested in duplicate. The relative quantitation of mtDNA vs nDNA was calculated using the formula 2-EXP(CtmtDNA - CtnDNA), where CtmtDNA and CtnDNA are the threshold cycles for the mitochondrial and nuclear targets, respectively.

*Statistical analysis*

A sample size of 116 patients (58 patients per treatment arm) was calculated on the assumption that patients receiving peginterferon would achieve a response rate 25% higher than those receiving standard interferon (50% vs 25%) with a power of 80% and a two-sided alpha value of 0.05.

Continuous variables were expressed as mean and standard deviations or median and range. Means were compared with Student's *t*-test, Mann-Whitney *U*-test or Wilcoxon signed rank test for paired samples. Categorical variables were compared by chi-square or Fischer's exact test. Response rates were calculated on an intention-to-treat basis (all patients who received at least one dose of study medication were included in the analyses). Analysis of predictors of SVR was performed by stepwise and backward logistic-regression model. Receiver operating characteristics (ROC) curves were constructed with every cut-off point of predicted probability of HCV RNA decline from baseline ( $\Delta$ HCV RNA) at treatment weeks 4, 8 and 12. The area under the ROC curves and their 95% confidence intervals were calculated.

Safety analysis was performed in all patients who were assessed at least once after the start of treatment onset. All *P* values are two-sided and differences were considered significant when *P* < 0.05. Data analyses were performed

Table 1 Baseline characteristics of patients\*

Characteristic	IFN alpha-2b + RBV (N= 61)	Peg-IFN alpha-2b + RBV (n = 60)	P
Age (years)	39 ± 4	37 ± 6	0.12
Sex [male/female (% male)]	50/11 (82)	43/17 (72)	0.20
Body-mass index†	25 ± 3	23 ± 3	0.004
Intravenous drug abuse, n (%)	51 (84)	45 (75)	0.09
Duration HCV infection (years)‡	20 ± 4	20 ± 6	0.8
Mean (log <sub>10</sub> IU/mL)	6.1 ± 0.96	6.4 ± 0.8	0.28
>800 000 IU/mL, no. (%)	43 (70)	46 (77)	0.44
Qualifying ALT quotient, n (%)§			
>1.0–1.5	17 (28)	16 (27)	0.26
>1.5–3.0	19 (31)	28 (47)	
>3.0–7.0	20 (33)	15 (25)	
>7.0	5(8)	1(2)	
Serum albumin (g/L)	40.9 ± 4	41.7 ± 3.8	0.27
γ-Glutamyl transpeptidase (IU/L)	150 ± 109	146 ± 149	0.23
Platelets (×10 <sup>9</sup> /L)	174 ± 65	187 ± 62	0.28
HCV genotype, n (%)			
1	29 (48)	29 (48)	0.78
2	0	1 (2)	
3	21 (34)	20 (33)	
4	11 (18)	10 (17)	
Mean CD4+ count (cells/μL)	608 ± 315	575 ± 254	0.53
Mean HIV RNA (log <sub>10</sub> copies/mL)	3.1 ± 0.6	2.9 ± 0.6	0.67
HIV RNA <80 copies/mL, n (%)	54 (89)	56 (93)	0.95
Antiretroviral treatment, n (%)	55 (90)	55 (92)	0.97
Nucleoside RT inhibitors	54 (89)	53 (88)	0.98
Zidovudine	20 (36)	15 (27)	
Stavudine	24 (47)	26 (47)	
Didanosine	10 (18)	10 (18)	
Lamivudine	36 (59)	33 (55)	
Abacavir	12 (20)	17 (28)	
Non-nucleoside RT inhibitors	37 (61)	33 (55)	0.66
Protease inhibitors	15 (25)	16 (27)	0.96

RBV, ribavirin.

\*Continuous variables are means ± SD.

†Calculated as the weight in kilograms divided by the square of the height in meters.

‡Interval since first intravenous drug use or administration of clotting factor concentrate.

§Serum ALT level divided by the upper limit of normal.

using the SPSS version 11.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## RESULTS

### Patient characteristics

Patients were randomized between January 2001 and April 2003. Enrollment was temporarily halted between July and December 2001 so that the death of one patient in June 2001 could be investigated and preventive measures

implemented. As shown in Fig. 1, 138 potential candidates were screened and 121 were randomized.

At baseline, characteristics were similar in both treatment groups (Table 1), except mean body mass index, which was higher in the standard interferon group.

### Virological response

Undetectable HCV RNA at the end of treatment was obtained in 36 and 24 patients in the peginterferon and standard interferon groups, respectively ( $P = 0.037$ ) (Fig. 2a).



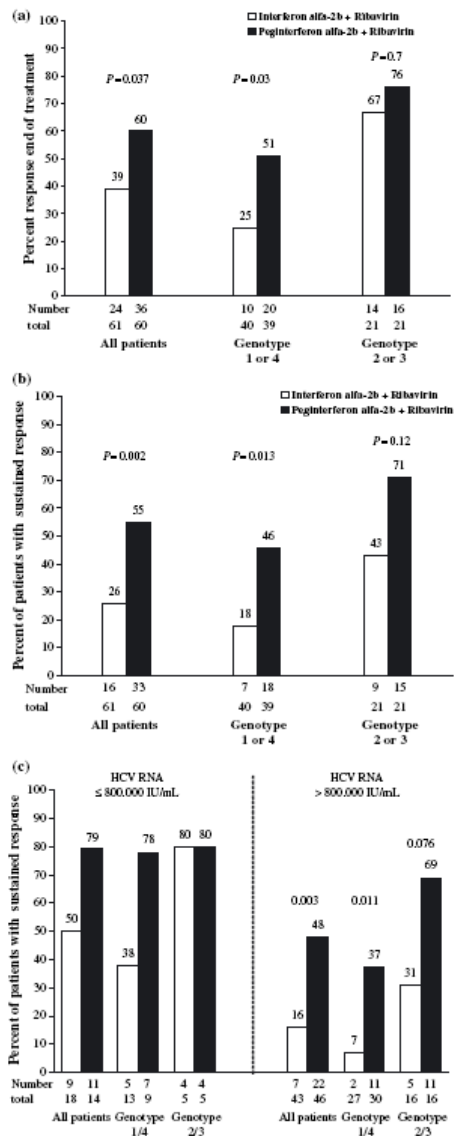


Fig. 2 (a) Virological response at the end of treatment according to treatment group and genotype. (b) Sustained viral response rates according to treatment group and genotype. Results for genotypes 1 and 4 are combined (see text for rates corresponding to each genotype). (c) Sustained response rates according to treatment group, HCV genotype and baseline viral load.

Subsequent relapse during follow-up occurred in 3 of 36 (8%) and 8 of 24 (33%) end-of-treatment responders, respectively ( $P = 0.02$ ).

Sustained viral response occurred in 55% and 26% in the peginterferon and standard interferon groups, respectively ( $P = 0.002$ ) (Fig. 2b). Among patients with HCV genotype 1 or 4, sustained response was 46% in the peginterferon group (genotype 1: 13 of 29, 45%; genotype 4: 5 of 10, 50%;  $P = 0.78$ ) and 18% (genotype 1: 4 of 29, 14%; genotype 4: 3 of 11, 27%;  $P = 0.33$ ) in the standard interferon group ( $P = 0.013$ ). Sustained response rates for HCV genotype 2 or 3 were 71% and 43%, respectively ( $P = 0.12$ ) (Fig. 2b). Differences between both groups of treatment were only significant for patients with baseline viral load >800 000 IU/mL who represented 74% of our patient population (Fig. 2c).

In both groups, early viral dynamics were markedly different between sustained responders and nonresponders. Table 2 summarizes the relationship between very early viral response (<100 IU/mL) at week 4 and end-of-treatment and sustained response rates according to HCV genotype, among the 102 patients who had available HCV RNA values at this time point. ROC curves constructed with values of viral load decline from baseline ( $\Delta$ HCV RNA) during the first 12 weeks, identified sensitivity peaks with 100% negative predictive value for sustained response at each time point, as summarized in Table 3.

*Pretreatment predictors of sustained virological response*

Treatment group, HCV genotype, viral load, gammaglutamyl transpeptidase ( $\gamma$ GT) and serum albumin level were the only variables significantly associated with final response in univariate analysis. Body mass index and ribavirin dose per kilogram, which differed significantly at baseline between treatment arms, were not associated with response in any group. Overall, mean doses of ribavirin among sustained responders were  $11.8 \pm 2.2$  mg/kg vs  $12.0 \pm 2.0$  mg/kg in nonresponders ( $P = 0.597$ ).

The following factors were included in stepwise logistic-regression analyses: age, body mass index, ribavirin dose (mg/kg), treatment arm, CD4 T-cell count (both as a continuous and as a categorical variable of < or  $\geq 350$  cells/mm<sup>3</sup>), use or nonuse of protease inhibitors, years of HCV infection, qualifying ALT quotient, HCV genotype 2 or 3 vs 1 or 4, serum albumin and  $\gamma$ GT level and a serum HCV RNA level > or  $\leq 800$  000 IU/mL. The final model included three variables independently associated with a higher likelihood of sustained response: treatment with peginterferon (OR: 5.1; 95% CI: 2.1–11.3;  $P < 0.001$ ), HCV genotype 2 or 3 (OR: 4; 95% CI: 1.6 to 9.8;  $P = 0.002$ ) and baseline HCV RNA  $\leq 800$  000 IU/mL (OR: 5.8; 95% CI: 2.1–15.7;  $P = 0.001$ ). However, when changes in HCV RNA level during the first 12 weeks of treatment were entered in the multivariate analysis, the only variables left in the model was the  $\Delta$ HCV RNA at 4, 8 or 12 weeks.

Table 2 End-of-treatment (ETR) sustained viral response (SVR) and relapse rates (RR) according to HCV RNA status at week 4

HCV genotype	Week 4 HCV RNA		P value	ETR (%)	P value	SVR (%)	P value	RR (%)
	RNA	n (%)						
1 or 4 N = 66	<100 IU/mL	16 (24)	<0.001	13 (81)	<0.001	13 (81)	<0.001	0
	>100 IU/mL	50 (76)		13 (26)		8 (16)		38
2 or 3 N = 36	<100 IU/mL	20 (56)	0.48	18 (90)	0.069	17 (85)	<0.001	6
	>100 IU/mL	16 (44)		11 (69)		6 (38)		46

Table 3 Maximum sensitivity peaks of  $\Delta$ HCV RNA for sustained response prediction identified by ROC curve analysis\*

Week	$\Delta$ HCV RNA	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
4	>1 log	100 (49/49)	45 (22/49)	64 (49/76)	100 (22/22)
8	>1.9 log	100 (49/49)	51 (25/49)	67 (49/73)	100 (25/25)
12	>3 log	100 (49/49)	59 (29/49)	71 (49/69)	100 (29/29)

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

\*ROC curves constructed with data from 98 patients treated for at least 24 weeks. Results shown as percentages with the actual number of patients in brackets. Areas under the ROC curves were 0.875 (95% CI: 0.831–0.947), 0.875 (95% CI: 0.810–0.947) and 0.859 (95% CI: 0.785–0.933) for weeks 4, 8 and 12  $\Delta$ HCV RNA, respectively.

#### Adverse events and dose modifications

Rates of premature withdrawal, dose reduction of study medications and side effects are summarized in Table 4. Most patients in both groups reported usually transient mild-to-moderate flu-like symptoms (headache, malaise, fever, myalgia), which were severe and prolonged enough in some patients to discontinue medication. Forty percent of patients had psychological side effects, including 19 cases of depression requiring antidepressant medication (9 in the standard and 10 in the peginterferon groups) and one case of psychosis, which prompted treatment withdrawal.

Absolute CD4+ T cells decreased significantly in both groups (with maximum decreases of 208 and 172 cells/mm<sup>3</sup> at 24 weeks in the peginterferon and standard interferon groups, respectively;  $P < 0.001$ , for the comparison within groups) while the percentage of CD4 T cells increased, reaching peak values of 3.8 and 3.1, respectively, at week 24 ( $P < 0.001$  for the comparison within groups; Fig. 3a). No opportunistic infections or HIV RNA rebound were observed in HAART-treated patients. Among HAART-naïve patients, HIV RNA load remained stable or became undetectable during the study.

Mean decrease in haemoglobin was similar in both treatment groups ( $P = 0.58$ ) and significantly higher among patients receiving zidovudine (maximum mean decrease:  $3.3 \pm 1.2$  vs  $1.7 \pm 1.2$ ;  $P < 0.001$ ). Maximum decreases in neutrophil and platelet counts were observed between week 12 and 24 of treatment and were significantly higher in the peginterferon group (mean  $\pm$  SE:  $1573 \pm 175$  vs  $597 \pm 132$  cells/mm<sup>3</sup> and  $59 \pm 6$  vs  $22 \pm 5 \times 10^9/L$ ,

respectively;  $P < 0.001$  for both comparisons). In both groups, blood cell counts returned to baseline values within 24 weeks of treatment end. One patient received granulocyte colony stimulating factor for grade 4 neutropenia ( $<500/\text{mm}^3$ ). No other haematopoietic growth factor was used.

Two patients died during the trial. The first patient, a 47-year-old woman, who was on didanosine, stavudine and efavirenz and had biochemical, ultrasonographic and endoscopic evidence of compensated cirrhosis, was started with standard interferon treatment in January 2001. After an initial response, breakthrough infection was observed at week 12. Twenty weeks after the start of treatment, she was admitted to the hospital after 2 weeks of abdominal pain, nausea, fatigue and weight loss. Severe lactic acidosis (pH 7.2, blood lactate 10.3 mmol/L) was detected and all medication was stopped. Intravenous fluids, bicarbonate and enzyme cofactors (thiamine, riboflavin and L-carnitine) were given. However, she developed *Escherichia coli* pneumonia and impending lactic acidosis (peak lactate: 36.6 mmol/L) and died with multiorgan failure 1 week later [22]. Retrospective estimate of mtDNA content in PBMCs showed a low baseline mtDNA:nDNA ratio, which had decreased by 64% at week eight, 12 weeks before development of full-blown lactic acidosis.

After the death of this patient, monthly determinations of blood lactate level were implemented as a surrogate marker of mitochondrial toxicity. Altogether, a mean of  $7.5 \pm 3.5$  serial blood lactate measurements per patient were obtained from 104 patients. Overall, hyperlactataemia ( $>2.4$  mmol/L on at least two consecutive samples) was detected in 22

	Interferon alpha-2b plus ribavirin (N = 61)	Peginterferon alpha-2b plus ribavirin (N = 60)	P value
Treatment withdrawal, n(%)			
Any reason	14(23)	10(17)	0.52
Influenza-like symptoms	5(8)	5(8)	0.76
Lactic acidosis	1(2)	0	0.99
Hepatic failure	1(2)	0	0.99
Psychiatric symptoms	0	1(2)	0.99
Loss to follow-up	0	1(2)	0.99
Insufficient viral response	7(11)	3(5)	0.34
Interferon dose reduction, n (%)			
Any reason	0	16 (27)	<0.001
Influenza-like symptoms	0	13 (22)	<0.001
Neutropenia	0	3 (5)	0.24
Ribavirin discontinuation or dose reduction, n (%)*			
Any reason	3 (5)	10 (17)	0.07
Anaemia	1 (2)	3 (5)	0.6
Hyperlactataemia	2 (6)	7 (12)	0.16
Specific adverse events			
Influenza-like symptoms	49 (80)	53 (88)	0.34
Psychiatric symptoms†	21 (34)	27 (45)	0.32
Mucocutaneous‡	13 (21)	14 (23)	0.96
Lower respiratory tract infection	1 (2)	0	0.99
Relapse drug abuse	1 (2)	1 (2)	0.48
Symptomatic hyperlactataemia§	2 (3)	2 (3)	0.62
Full-blown lactic acidosis	1 (2)	0	0.99
Hepatic decompensation¶	2 (3)	0	0.48

\*Patients could have more than one side effect and more than one reason for interferon or ribavirin dose reduction. Ribavirin stopped for hyperlactataemia in nine patients and anaemia in one.

†Irritability, depression, insomnia, psychosis.

‡Rash, mucositis, hair loss, tinea corporis.

§Include only patients with symptomatic hyperlactataemia without acidosis or liver decompensation.

¶Include the patient who died and one patient who developed mild ascites not requiring treatment withdrawal.

patients (20%). The proportion of patients receiving stavudine and/or didanosine was similar among those who developed hyperlactataemia and those who did not (17 of 22 vs 52 of 82;  $P = 0.33$ ). Although 16 cases were asymptomatic, increasing blood lactate level led to discontinuation of ribavirin in three patients. Symptomatic hyperlactataemia (defined as the appearance of weight loss, abdominal pain, nausea or vomiting and fatigue coinciding with elevated blood lactate in the absence of acidosis) occurred in four patients, three of them receiving stavudine and/or didanosine, 12–17 weeks after the start of treatment. In all four, symptoms disappeared, and lactate values normalized upon ribavirin discontinuation, along with temporary interruption of HAART in three patients and substitution of didanosine and stavudine for tenofovir and efavirenz in one case.

Figure 3 depicts the relationship between lactate levels, mtDNA:nDNA ratio and ribavirin administration in one of these patients.

The second patient who died, a 35-year-old woman with compensated cirrhosis, who was taking stavudine, lamivudine and saquinavir, started treatment in February 2001. Serum HCV RNA became undetectable at 12 weeks, although ALT elevation persisted. Ribavirin was discontinued at 12 weeks because of anaemia, and both interferon and HAART were stopped at week 24 because of ascites and jaundice. Despite treatment discontinuation and standard supportive measures, her clinical condition continued to worsen with the evidence of rapidly deteriorating liver cell function. Six weeks later she was admitted to the hospital with encephalopathy and died 2 weeks later in hepatic coma.

**Table 4** Frequencies of premature withdrawal, dose reduction and side effects of any grade according to treatment group

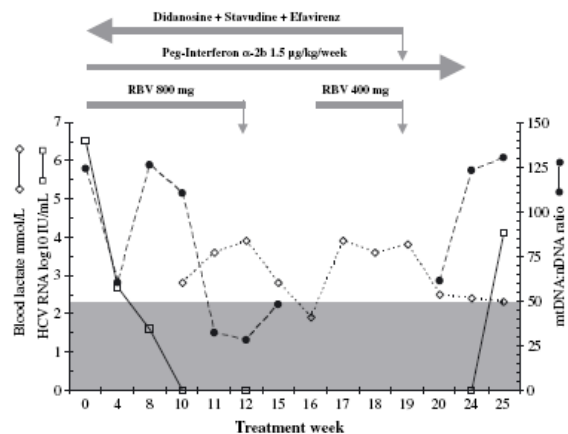


Fig. 3 Changes in blood lactate, HCV RNA levels, the mtDNA:nDNA ratio, and their temporal correlation with antiretroviral and study medications in one patient with symptomatic hyperlactataemia. Grey area represents normal lactate levels. Ribavirin was discontinued at week 12, restarted at half-dose (week 16) and finally withdrawn (week 19) along with the anti-retroviral medication.

#### Mitochondrial DNA: nuclear DNA ratio analysis by real-time PCR

A real-time RT-PCR technique was developed to retrospectively estimate mtDNA content in cryopreserved PBMC (see Methods section). The assay provided reproducible estimates of mtDNA:nDNA ratio with correlation coefficients of 0.99 in serial 10-fold dilutions of control lymphocytes within a range of  $10^3$ – $10^5$  cells [21], as also reported by others [23].

Assay performance was validated in PBMCs from 25 healthy subjects, 20 HIV-infected HAART-naïve (11 of them without HCV infection) patients and 68 HAART-treated patients enrolled in the current trial. While no significant difference in median mtDNA:nDNA ratio was observed between healthy controls (median: 131; IQR: 118–155) and HIV-infected antiretroviral-naïve patients (median: 125; IQR: 76–163), the median baseline ratio of the 68 HAART-treated patients was significantly lower than that of healthy controls (103; IQR: 75–153 vs 131; IQR: 118–155, respectively;  $P = 0.048$ ). Among HAART-treated patients, the ratio was lower in 46 receiving stavudine and/or didanosine (median 97; IQR 75–135) than in 22 treated with other antiretrovirals (median: 151; IQR: 104–282) ( $P = 0.031$ ).

Changes in the mtDNA:nDNA ratio were retrospectively estimated in PBMCs obtained before, during (at 4 and 12 weeks) and after treatment, in 27 of those whose lactate was always normal and in 17 of the 22 who developed hyperlactataemia. Significantly lower ratios were found among the latter at treatment week 4 (median: 83, IQR: 63–105 vs median: 136, IQR: 89–236;  $P = 0.011$ ). Within that group, a significant decrease from baseline (median: 103, IQR: 92–136) was observed at treatment week 4 (median: 83, IQR: 63–105;  $P = 0.031$ ).

Among the six patients who developed symptomatic hyperlactataemia, lactic acidosis or liver failure, the median baseline mtDNA:nDNA ratio dropped at an average of 54% (from a median of 107; range 40–124 to a median of 49; range 24–79) between 4 and 12 weeks of treatment and a mean of 13 weeks before the development of symptoms.

#### DISCUSSION

In this randomized trial, peginterferon alpha-2b plus ribavirin was more effective in inducing a SVR than standard interferon alpha-2b plus ribavirin. The difference did not reach statistical significance for patients infected with HCV genotype 2 or 3, probably because of the limited number of patients included. Although mean body mass index was higher and ribavirin dose per kilogram lower in the standard interferon group, and these factors might have decreased efficacy among these patients, none of these variables were found to be associated with final response in univariate and multivariate analyses. Nonetheless, as ribavirin has been shown to have a direct mutagenic effect on HCV and to inhibit the RNA polymerase in a dose-dependent manner [24,25], ribavirin dose should be given at doses according to the body weight and renal function also, in coinfecting patients in order to further improve sustained response rates. In this regard, a preliminary report of an ongoing trial using weight-adjusted ribavirin dose has shown that higher ribavirin dose was independently associated with an early virological response [26]. In any event, the overall response rate in our study was higher than those reported in previous trials in HIV-coinfecting patients [11–14]. Several reasons might help explain this observation, including differences in patient characteristics as well as the single-centre design and the frequent clinical and virological monitoring, which likely enhanced treatment compliance.



Importantly, a high sustained response rate was observed among patients infected with HCV genotype 3 treated with peginterferon alpha-2b for 24 weeks. This finding is noteworthy because relapse rates as high as 35% have been reported among genotype-3-coinfected patients treated for 24 weeks [14,27]. Furthermore, because relapse rates among patients with these genotypes have been found to be lower in trials using 48-week treatment schedules [11–14], a recent statement from the European Consensus Conference has recommended that coinfecting patients be treated for 48 weeks, irrespective of HCV genotype [28]. Although the number of patients in our study is small and cross study comparisons are impossible, our results suggest that a 24-week schedule of peginterferon and ribavirin might be sufficient for a significant proportion of genotype-3-coinfected patients. In this regard, it is noteworthy that in our study irrespective of treatment group, of the 20 patients with genotype 2 or 3 who had undetectable HCV RNA at week 4 and at the end of treatment, only one relapsed (6%), whereas relapse rate reached 46% among those end-of-treatment responders with detectable HCV RNA at week 4 ( $P = 0.016$ ). The potential utility of this very early viral response as a guide to individualize treatment duration in coinfecting patients with genotype 2 or 3 should be further investigated in prospective trials. In any event, optimal duration of treatment for coinfecting patients with HCV genotype 3 can only be established through randomized trials comparing 24-week courses with the currently recommended 48-week schedule.

Similar to those reported in previous studies [11–13, 29–32], early viral dynamics had a high predictive value for sustained response. In fact, ROC curves of HCV RNA decline identified cut-off levels with 100% negative predictive value for sustained response at weeks 4, 8 and 12 weeks. Hence, our data support and further refine the utility of current recommendations for monitoring early viral response also in coinfecting patients. This is especially helpful in the management of coinfecting patients. Prediction of nonresponse may allow early discontinuation of therapy, thus reducing adverse effects in those having no chance of a sustained response. On the contrary, early identification of likely responders might facilitate therapeutic decisions, such as modification of antiretroviral regimen, use of haematopoietic growth factors or adequate treatment of other side effects. Finally, timely information to patients of their likelihood of response should help maximize treatment compliance.

Lactic acidosis and other manifestations of mitochondrial toxicity have emerged as potentially life-threatening complications when ribavirin is administered in combination with certain nucleoside analogues [11–14,27,33–37]. Didanosine and stavudine have been associated with lower hepatic mtDNA content in HIV-infected patients [38] and ribavirin is known to increase phosphorylation of didanosine and enhance its inhibition of DNA polymerase gamma [39]. Indeed, most cases of serious mitochondrial toxicity reported to the FDA in coinfecting patients receiving ribavirin have

involved concomitant administration of didanosine [40]. Our own data on mtDNA content in PBMC are in agreement with these findings and further support that ribavirin should not be used in combination with these nucleoside analogues. Furthermore, hepatic decompensation appears to be yet another toxic mitochondrial side effect associated with anti-HCV treatment in coinfecting patients. In one of the patients who died in our trial, both decompensation and subsequent subfulminant liver failure occurred in association with a marked decrease in mtDNA and hyperlactataemia. In fact, hepatic decompensation with a high mortality rate has been recently reported in over 10% of coinfecting cirrhotic patients during anti-HCV treatment [11,13], specially in those with more advanced liver disease and taking didanosine [41]. This frequency is three- to fivefold higher than that of spontaneous decompensation among prospectively followed HCV-monoinfected cirrhotics [42,43] and has not been reported in large treatment trials of chronic hepatitis C in the general population. Taken together, these observations suggest that a state of relative mtDNA depletion in the liver associated with the use of nucleoside analogues may be aggravated by the addition of ribavirin, and the overall mitochondrial function be further impaired by the inhibitory effect of interferon on mtDNA transcription [44]. Patients with more advanced liver disease might be unable to compensate for these multiple mechanisms of mitochondrial dysfunction, eventually developing lactic acidosis and/or entering an irreversible state of liver failure.

In summary, in patients with controlled HIV infection, treatment with peginterferon alpha-2b and ribavirin induces SVRs close to those reported among monoinfected individuals. However, in patients with cirrhosis-associated life-threatening complications, mitochondrial toxicity may occur. Frequent monitoring of viral responses early during treatment might allow early identification of virological nonresponders and individualization of treatment duration in patients with genotype 2 or 3, and hence maximize the number of patients who benefit from treatment while decreasing costs and side effects.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported in part by grants from the Fundació Privada Catalana de l'Hemofília, Barcelona, Fondo para la Investigación y la Prevención del SIDA en España (FIPSE, 2002/36274) Madrid, Spain, Red Nacional de Investigación en Hepatología y Gastroenterología (RNIHG-CO3/02) and the Red de Investigación en SIDA (RIS-GO3/173).

#### REFERENCES

- 1 Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, Lyles CM, Cohn S, Thomas DL. Incidence and risk factors for hepatitis C among injection drug users in Baltimore, Maryland. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3274–3277.

- 2 Esteban JI, Esteban R, Viladomiu L *et al*. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Spain. *Lancet* 1989; 2: 294–297.
- 3 Palella F, Delaney K, Moorman A *et al*. Declining morbidity and mortality among patients with advanced HIV infection. *N Engl J Med* 1998; 338: 853–860.
- 4 Graham CS, Baden LR, Yu E *et al*. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 562–569.
- 5 Monga HK, Rodriguez-Barradas MC, Breaux K *et al*. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 240–247.
- 6 Bica I, McGovern B, Dhar R *et al*. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 492–497.
- 7 Martínez-Sierra C, Arizcorreta A, Días F *et al*. Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 491–498.
- 8 Sulkowski MS, Thomas DL, Mehta SH, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with nevirapine and efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections. *Hepatology* 2002; 35: 182–189.
- 9 Martínez E, Blanco JL, Arnaiz J *et al*. Hepatotoxicity in HIV-1-infected patients receiving nevirapine-containing antiretroviral therapy. *AIDS* 2001; 15: 1261–1268.
- 10 NIH Consensus Development Conference Statement: management of hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 123: 2082–2099.
- 11 Torriani FJ, Rodriguez Torres M, Rockstroh JK *et al*. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2004; 351: 438–450.
- 12 Chung RT, Andersen J, Volberding P *et al*. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med* 2004; 351: 451–459.
- 13 Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S *et al*. Pegylated-interferon-alfa-2b vs interferon-alfa-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. A randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 2004; 292: 2839–2848.
- 14 Laguno M, Murillas J, Blanco JL *et al*. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS* 2004; 18: 0F27.
- 15 Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC *et al*. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* 2001; 358: 958–965.
- 16 Fried MW, Shiffman ML, Reddy R *et al*. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975–982.
- 17 Hadziyannis SJ, Sette H, Morgan T *et al*. Peginterferon alfa-2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. A randomized study treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140: 346–355.
- 18 Martell M, Gómez J, Esteban JI *et al*. High throughput real-time reverse transcription-PCR quantitation of hepatitis C virus RNA. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 327–332.
- 19 Nine JS, Moraca M, Virji MA, Rao KN. Serum-ethanol determination: comparison of lactate and lactic dehydrogenase interference in three enzymatic assays. *J Anal Toxicol* 1995; 19: 192–196.
- 20 Vilà MR, Segovia-Silvestre T, Gámez J *et al*. Long-term survival of a patient with mtDNA depletion syndrome due to TK-2 deficiency. *Neurology* 2003; 60: 1203–1205.
- 21 Sauleda S, Esteban JI, Juarez A *et al*. Preventing lactic acidosis in HIV-HCV coinfecting patients during interferon and ribavirin treatment. Development of a real-time PCR for mitochondrial DNA copy number in PBMCs. In: 53rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, MA, USA, 1–5 November 2002. (Abstract 256).
- 22 Sauleda S, Juarez A, Esteban JI *et al*. Interferon and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus-infected patients with congenital coagulation disorders. *Hepatology* 2001; 34: 1035–1040.
- 23 Côte HCF, Brumme ZL, Craib KJP *et al*. Changes in mitochondrial DNA as a marker of nucleoside toxicity in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2002; 346: 811–820.
- 24 Vo NV, Young KC, Lai MM. Mutagenic and inhibitory effects of ribavirin on hepatitis C virus RNA polymerase. *Biochemistry* 2003; 42: 10462–10471.
- 25 Dixit N, Layden-Almer J, Layden T, Perelson A. Modeling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection. *Nature* 2004; 432: 922–924.
- 26 Núñez M, Camino N, Ramos B *et al*. Impact of ribavirin exposure on early virological response to hepatitis C therapy in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2005; 10: 657–662.
- 27 Perez Olmeda M, Nuñez M, Romero M *et al*. Pegylated IFN- $\alpha$ 2b plus ribavirin as therapy for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS* 2003; 17: 1023–1028.
- 28 Alberti A, Clumeck N, Collins S *et al*. Short statement of the first European Consensus Conference on the treatment of chronic hepatitis B and C in HIV co-infected patients. *J Hepatol* 2005; 42: 615–624.
- 29 Soriano V, Nuñez M, Camino N *et al*. Hepatitis C virus RNA clearance in HIV-coinfected patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon plus ribavirin. *Antivir Ther* 2004; 9: 505–509.
- 30 Castro FJ, Esteban JI, Juarez A *et al*. Early detection of non responders to interferon plus ribavirin combination treatment of chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2002; 9: 202–207.
- 31 Berg T, Sarrazin C, Herrmann E *et al*. Prediction of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C: significance of baseline parameters and viral dynamics during therapy. *Hepatology* 2002; 37: 600–609.
- 32 Davis G, Wong J, McHutchison J, Manns M, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 645–652.
- 33 Lefeuvre A, Hittinger G, Chadapaud S. Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV coinfection. *Lancet* 2001; 357: 280–281.

- 34 Salmon-Ceron D, Chauvelot-Moachon L, Abad S, Silbermann B, Sogni P. Mitochondrial toxicity effects and ribavirin. *Lancet* 2001; 357: 1803–1804.
- 35 Moreno A, Quereda C, Moreno L *et al*. High rate of didanosine-related mitochondrial toxicity in HIV/HCV-coinfected patients receiving ribavirin. *Antivir Ther* 2004; 9: 133–138.
- 36 Laguno M, Milinkovic A, de Lazzari E *et al*. Incidence and risk factors for mitochondrial toxicity in treated HIV/HCV-coinfected patients. *Antivir Ther* 2005; 10: 423–429.
- 37 Ogedegbe AEO, Thomas DL, Diehl AM. Hyperlactataemia syndromes associated with HIV therapy. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 329–337.
- 38 Walker UA, Bäuerle J, Laguno M *et al*. Depletion of mitochondrial DNA in liver under antiretroviral therapy with didanosine, stavudine or zalcitabine. *Hepatology* 2004; 39: 311–317.
- 39 Balzarini J, Lee CK, Herdewijn P, de Clercq E. Mechanism of the potentiating effect of ribavirin on the activity of 29, 39-dideoxyinosine against human immunodeficiency virus. *J Biol Chem* 1991; 266: 21509–21514.
- 40 Fleisher R, Boxwell D, Sherman KE. Nucleoside analogues and mitochondrial toxicity. *Clin Infect Dis* 2004; 38: e79–e80.
- 41 Mauss S, Valenti W, DePamphilis J *et al*. Risk factors for hepatic decompensation in patients with HIV/HCV coinfection and liver cirrhosis during interferon-based therapy. *AIDS* 2004; 18: 0F21–F25.
- 42 Fattovitch G, Giustina G, Degos F *et al*. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997; 112: 463–472.
- 43 Hu KO, Tong MJ. The long-term outcome of patients with compensated hepatitis C virus-related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. *Hepatology* 1999; 29: 1311–1316.
- 44 Lewis J, Huq A, Najarro P. Inhibition of mitochondrial function by interferon. *J Biol Chem* 1996; 271: 13184–13190.

## 13 TH CONFERENCE ON *Retroviruses and Opportunistic Infections*

Session 21 Oral Abstracts

Hepatitis Viruses Complicating HIV Infection

Session Day and Time: Tuesday, 10 am - 12:30 pm

Presentation Time: 10:00 am

Room: Ballroom 7-8

81

### **Utility of the Early Viral Response to Individually Adjust the Duration of Treatment for Chronic Hepatitis C, Genotype 2 or 3, in HIV-co-infected Patients**

M Crespo\*, J Esteban, E Ribera, V Falcó, A González, S Villar Del Saz, I Ocaña, and A Pahissa

*Vall d'Hebron's Hosp, Barcelona, Spain*

**Background:** Peginterferon plus ribavirin (RBV) for 24 weeks is the standard treatment for chronic hepatitis C, genotype 2 or 3, in mono-infected patients. Even shorter regimens (12 to 16 weeks) have been proven useful in patients with early response. Since relapse rates as high as 35 percent have been reported among HIV-co-infected patients treated for 24 weeks, longer regimens have been advocated in this population. However this recommendation might underestimate the risk of toxicity and the cost associated with unnecessary extended regimens. Our objective was to study the utility of the viral response at week 4 of treatment to predict the risk of viral relapse among HIV-co-infected patients with chronic hepatitis C, genotype 2 or 3, treated for 24 weeks.

**Methods:** We analysed the viral response at week 4 of treatment obtained by a subset of patients with genotype 2 or 3 enrolled in a open randomised trial, conducted in our hospital, aimed to compare the efficacy of interferon  $\alpha$ -2b (IFN) (3 MIU thrice weekly) vs peginterferon alfa-2b (PEG-IFN) (1.5  $\mu$ g/kg/week) for 24 weeks, both in combination with RBV (800 mg/day), for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-co-infected patients. HCV RNA level was determined by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) (detection limit: 100 IU/mL; dynamic range, 5 logs). The primary end-point was sustained viral response (SVR), defined as HCV RNA <100 IU/mL, 24 weeks after the end of treatment.

**Results:** We randomized 42 patients (86% men) from January 2001 to April 2003. The median age was 38.6 years and 83% had been former injecting drug users (IDU). At inclusion, 89% were on HAART. The median CD4 cells count was 505 (IQR 384 to 690) and 81% had HIV RNA <50 copies/mL. Rates of SVR (intention-to-treat) were 71% (15 of 21) in patients treated with PEG-IFN vs 43% (9 of 21) in those assigned to IFN ( $p = 0.06$ ). Table 1 summarizes the rates of viral response at the end of treatment (ETR) and at the end of follow-up (SVR), and the relapse rates according to the viral response obtained at week 4. Table 1

HCV RNA at Week 4	N (%)	ETR (%)	SVR	Relapse Rate (%)
<100 IU/mL	20/36 (55,6)	18/20 (90)	17/20 (85)	1/18 ( 5,5)
>100 IU/mL	16/36 (44.5)	11/16 (69)	6/16 (37,5)	5/11 (45,5)

**Conclusions:** Early viral response appears as a useful tool to individually adjust the duration of treatment for chronic hepatitis C, genotype 2 or 3, in HIV-co-infected patients. In our study, high SVR and low viral relapse rates were observed after 24 weeks of therapy among those patients with undetectable viral load at week 4.

## Utility of week-4 viral response to tailor treatment duration in hepatitis C virus genotype 3/HIV co-infected patients

Manuel Crespo<sup>a</sup>, Juan I. Esteban<sup>b</sup>, Esteban Ribera<sup>a</sup>, Vicenç Falco<sup>a</sup>, Silvia Sauleda<sup>c</sup>, María Buti<sup>b</sup>, Rafael Esteban<sup>b</sup>, Jaime Guardia<sup>b</sup>, Inma Ocaña<sup>a</sup> and Albert Pahissa<sup>a</sup>

**Objective:** To investigate the utility of a week-4 virological response for sustained response prediction in hepatitis C virus (HCV) genotype 3/HIV-co-infected patients treated with interferon and ribavirin for 24 weeks.

**Methods:** Using a real-time polymerase chain reaction-based quantitative assay (COBAS AmpliPrep-COBAS-TaqMan 48; Roche Diagnostics) we retrospectively analysed samples obtained at baseline and weeks 4 and 12 from a subset of 35 HCV genotype 3-HIV co-infected patients enrolled in a randomized comparative trial of peginterferon  $\alpha$ -2b versus interferon  $\alpha$ -2b both in combination with ribavirin.

**Results:** In an intention-to-treat analysis, 78% of patients treated with peginterferon and 53% of those receiving standard interferon achieved a sustained virological response (SVR). Overall, at 4 weeks, 49% of patients had HCV RNA  $< 50$  IU/ml and 63% had  $< 600$  IU/ml. Of these rapid responders 88 and 86% achieved a SVR, respectively, with only one patient relapsing among end-of-treatment responders. In contrast, only 44 and 31% of patients with a week-4 HCV RNA  $\geq 50$  or  $\geq 600$  IU/ml achieved an SVR, respectively, with relapse rates of 33 and 50%, respectively. In multivariate logistic regression analysis a serum HCV RNA level below 600 IU/ml at week 4 was the strongest independent predictor of SVR (odds ratio, 11.3; 95% confidence interval, 1.7 to 75.0;  $P=0.012$ ).

**Conclusion:** Monitoring early viral response may be useful to tailor the duration of treatment among patients with HCV genotype 3/HIV-co-infection. Patients whose HCV RNA falls below 600 IU/ml at 4 weeks are at low risk of relapse after 24 weeks of combination therapy.

© 2007 Lippincott Williams & Wilkins

*AIDS* 2007, 21:477–481

**Keywords:** hepatitis C virus/HIV co-infection, hepatitis C virus genotype 3, rapid viral response, week-4 viral response, viral response monitoring, hepatitis C virus short treatment

---

From the <sup>a</sup>Infectious Diseases Department, the <sup>b</sup>Liver Unit, Department of Medicine, and the <sup>c</sup>Centre de Transfusió i Banc de Teixits, Institut Català de la Salut, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain.

Correspondence to Manuel Crespo, Infectious Diseases Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Passeig Vall d'Hebron 119-129, Barcelona-08035, Spain.

E-mail: mcrespo@vhebron.net

Received: 4 August 2006; revised: 27 September 2006; accepted: 31 November 2006.

ISSN 0269-9370 © 2007 Lippincott Williams & Wilkins

477

Copyright © Lippincott Williams & Wilkins. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

## Introduction

Well-designed studies to assess the optimal duration of treatment for hepatitis C virus (HCV), genotypes 2 or 3, infection in HIV-co-infected patients have not yet been performed. Recently reported data, however, suggest higher relapse rates occur among co-infected patients with HCV genotypes 2/3 who have been treated for 24 weeks [1,2] than in those receiving 48-week treatment schedules [3–5]. On the basis of these data, a statement from a European Consensus Conference recommended that all HIV-co-infected patients be treated for 48 weeks, irrespective of the HCV genotype [6]. However, this recommendation might underestimate the higher risk of toxicity, the lower compliance and the cost associated with extended treatment regimens and ignores the fact that a significant number of HCV genotype 2/3 co-infected patients who clear the virus during the first month of treatment achieve a sustained viral response (SVR) with a 24-week treatment schedule [7]. In the present study we reanalysed the utility of the week-4 virologic response through retrospective testing of stored samples with a commercially available real-time polymerase chain reaction (PCR) quantitative test, to individualize treatment duration for HCV genotype 3 infection in HIV-co-infected patients.

## Methods

We have recently conducted a randomized trial in our hospital with the aim of comparing the efficacy of interferon (IFN) $\alpha$ -2b versus pegylated interferon (peg-IFN) $\alpha$ -2b both in combination with ribavirin (RBV) for the treatment of HCV/HIV-co-infected patients. The methodology has been reported elsewhere [7]. Briefly, 121 HCV/HIV-co-infected patients, naive for HCV treatment, were stratified by sex and genotype and randomized, between January 2001 and April 2003, to receive peg-IFN $\alpha$ -2b (1.5  $\mu$ g/kg per week) or IFN $\alpha$ -2b [3 million International Units/three times in a week (MU/tiw)], both in combination with a fixed dose of RBV (800 mg/day). Patients with genotype 2 ( $n=1$ ) or 3 ( $n=41$ ) were treated for 24 weeks. The study protocol was approved by the Institutional Review Board and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practices guidelines. Blood samples were handled and stored under optimal conditions for HCV RNA quantization as previously recommended [8]. Serum HCV RNA level at baseline and at 4, 8, and 12 weeks of treatment was determined with a non-commercial TaqMan-based real-time reverse transcriptase (RT)-PCR test, with a detection limit of 100 IU/ml and a dynamic range of 5 logs [9]. A commercial qualitative PCR test with a detection limit of 50 IU/ml (Cobas Amplicor HCV v2.0; Roche Molecular Systems, Branchburg, New Jersey, USA)

was used at end of treatment and end of follow-up to assess sustained response.

In order to investigate the most appropriate cut-off to define a rapid viral response (RVR) at week 4 of treatment and assess its utility for SVR prediction in genotype 3 HCV/HIV-co-infected patients treated with interferon and RBV combination therapy for 24 weeks, we have retested stored serum samples obtained at baseline, and at weeks 4 and 12 of treatment, with a commercially available real-time PCR test combined with an automated platform for RNA extraction (COBAS AmpliPrep-COBAS-TaqMan 48; Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, California, USA), with a detection limit of 15 IU/ml and a dynamic range of 43 to 68000 000 IU/ml.

Levels of HCV RNA at weeks 4 and 12 of treatment were used to construct receiver operating characteristic (ROC) curves, and establish the best cut-off point of predicted probability for SVR. Stepwise and backward multiple logistic regression analyses were used to identify baseline variables that were predictive of week-4 viral response and of SVR. Non-normally distributed baseline continuous variables underwent logarithmic transformation. Additionally, week-4 viral response was entered into the model both as a categorical value ( $< 50$ ,  $< 600$  or  $\Delta$ HCV RNA  $\geq 2 \log_{10}$  IU/ml) and as a continuous variable to assess it as independent predictor of SVR.

## Results

Trial results on both efficacy and safety for the entire cohort have been reported elsewhere [7]. Samples for the current testing were available from 35 of 42 genotype 3 patients enrolled in the trial. Baseline characteristics of these patients are summarized in Table 1. Most patients were on HAART regimens according to currently recommended guidelines. Remarkably, 80% of them had baseline viral loads above 800 000 IU/ml. Three patients withdrew from treatment because of intolerance or were lost to follow up. The RBV dose was reduced because of anaemia in three patients and was definitively stopped in another three because of symptomatic hyperlactataemia. The peg-IFN dose was reduced in four patients because of severe flu-like symptoms. In an intention-to-treat analysis SVR was achieved in 23 (66%) patients; 78% (14/18) of those in the peg-IFN $\alpha$ -2b group and in 53% (9/17) of those in the standard IFN $\alpha$ -2b group [relative risk (RR), 1.47; 95% confidence interval (CI), 0.88–2.45;  $P=0.164$ ].

Overall, irrespective of the treatment arm, 49% (17/35) of the patients retested had HCV RNA levels  $< 50$  IU/ml at week 4 of treatment. Of these rapid viral responders (RVR) 88% (15/17) achieved a SVR, and only one (6%) of 16 with an end-of-treatment response (ETR) relapsed.

**Table 1.** Baseline characteristics of 35 genotype 3 hepatitis C virus (HCV)/HIV-co-infected patients.

Characteristic <sup>a</sup>	N = 35
Age (years)	39 ± 3.9
Sex (male/female (% male))	30/5 (86)
Intravenous drug abuse [number (%)]	29 (83)
Duration of infection (years) <sup>b</sup>	20 ± 5
Body mass index <sup>c</sup>	24 ± 3
Serum HCV RNA	
Mean (log <sub>10</sub> IU/ml)	6.36 ± 0.78
> 800 000 IU/ml [number (%)]	28 (80)
Treatment group	
Peg-interferon-α-2b [number (%)]	18 (51)
Interferon-α-2b [number (%)]	17 (49)
Ribavirin dose (mg/kg)	11.5 ± 1.8
ALT (IU/l)	123 ± 73
AST (IU/l)	99 ± 65
γ-glutamyl transpeptidase (IU/l)	99 ± 73
Serum albumin (g/l)	41 ± 4
Leukocytes (× 10 <sup>3</sup> cells/μl)	6.5 ± 1.9
Haemoglobin (g/dl)	15.1 ± 1.6
Platelets (× 10 <sup>3</sup> /l)	187 ± 45
Mean CD4+ cell count/μl	555 ± 218
HIV RNA <80 copies/ml [number (%)]	28 (80)
Antiretroviral treatment [number (%)]	31 (89)
2 NRTI + 1 NNRTI	22 (63)
2 NRTI + 1 PI	5 (14)
3 NRTI	1 (3)
Other	3 (9)
NRTIs	30 (86)
Zidovudine	13 (37)
Stavudine	14 (40)
Didanosine	5 (14)
Lamivudine	24 (69)
Abacavir	4 (11)

ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; NRTI, nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor; NNRTI, non-nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor; PI, protease inhibitor; RT, reverse transcriptase.

<sup>a</sup>Continuous variables are means ± SD.

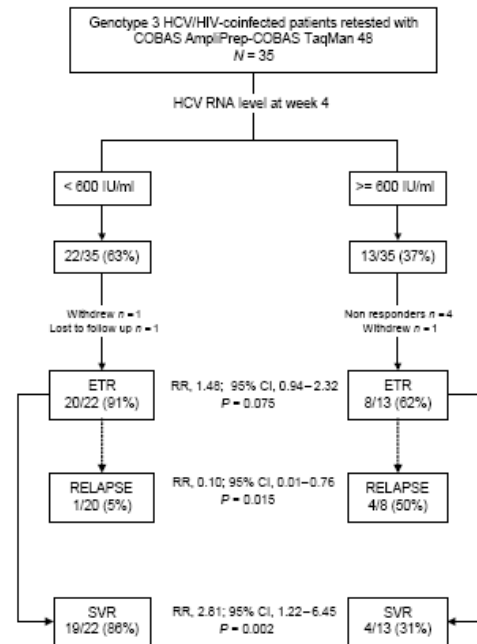
<sup>b</sup>Interval since first intravenous drug use or administration of clotting factor concentrate in 29 patients.

<sup>c</sup>Calculated as the weight (kg) divided by the square of the height (m).

In contrast, 12 (67%) of 18 patients with HCV RNA at week-4  $\geq 50$  IU/ml, achieved an ETR, and 4 (33%) of the latter relapsed (RR, 2.0; 95% CI, 0.28–14.2;  $P=0.85$ ) accounting for a significantly lower SVR rate of 44% (8/18) (RR, 0.50; 95% CI, 0.29–0.87;  $P=0.012$ ). The corresponding figures of ETR and SVR when RVR was defined using the cut-off value of 600 IU/ml, are shown in Fig. 1.

Sensitivity, specificity and positive and negative predictive values of the week-4 response for SVR prediction were 0.65, 0.83, 0.88 and 0.56, respectively, for the 50 IU/ml cut off value and 0.83, 0.75, 0.86 and 0.69, respectively, for the 600 IU/ml cut off. The area under the ROC curve constructed using the week-4 HCV RNA levels was 0.812 (95% CI, 0.650–0.973).

Of the baseline variables [age, sex, treatment group, HCV RNA level, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), γ-glutamyl transpeptidase, RBV dose in mg/kg body weight, and CD4 T-cell count]



**Fig. 1.** Rates of end of treatment responses (ETR), relapse or sustained virological response (SVR) according to the virologic response ( $\geq$  or  $<$  600 IU/ml) at week 4 of combination therapy. RR, relative risk; CI, confidence interval.

entered in a multiple logistic regression analysis none was a predictor of the viral response at week 4 of treatment (using both cut-off levels 50 and 600 IU/ml as dependent variables) whereas baseline AST level was a weak predictor of SVR [odds ratio (OR), 0.987; 95% CI, 0.976–0.998;  $P=0.026$ ]. When the week-4 viral response was included in the multivariate analysis, both AST level and week-4 viral response were independent predictors of SVR. The best final model included AST level (OR, 0.983; 95% CI, 0.969–0.997;  $P=0.020$ ) and week-4 viral response with the cut-off of 600 IU/ml (OR, 11.3; 95% CI, 1.70–75.0;  $P=0.012$ ).

## Discussion

Kinetics of early viral response to peg-IFN and RBV treatment among HIV-co-infected patients seem to be similar to those observed in mono-infected patients [10], and a 2-log drop at week 12 can be confidently used as stopping rule [3–5]. However, recommendations that co-infected patients be treated for 48 weeks irrespective of HCV genotype are based on cross comparisons between historical and prospective studies, which were not designed to address optimal treatment duration and it



remains to be proven to what extent HIV-positive patients with HCV genotypes 2 or 3 benefit from schedules longer than 24 weeks. In fact, in a recent Italian multicenter trial, which randomized 128 HCV genotype 2 or 3-co-infected patients to treatment with peg-IFN and weight-adjusted RBV for either 28 or 48 weeks, failed to show an increased efficacy of prolonging therapy to 48 weeks (Zanini B, *et al.* personal communication). Indeed, in this study, relapse rates were similar in both groups because of the high drop out rate among patients assigned to the longer treatment group, resulting in identical SVR rates (61%) in both arms. These data underline the importance of compliance in treatment outcome and that adherence may be especially relevant among co-infected patients. Hence, strategies favouring compliance and avoiding unnecessary extension of treatment in very early responders might decrease side effects associated with pharmacological interactions and might be more effective than currently recommended strategies. In this regard, several studies in HCV genotypes 2 or 3 mono-infected patients have shown that patients with an RVR, defined as undetectable HCV RNA at treatment week 4, achieve similar SVR rates with 12–16-week treatment schedules of peg-IFN and weight-adjusted RBV doses, than those treated for 24 weeks [11–13].

We have recently reported sustained viral response in 71% of HCV genotype 2/3 HIV-co-infected patients treated with peg-IFN $\alpha$ -2b plus RBV for 24 weeks [7], a proportion similar to those reported in large trials in which such patients received treatment for 48 weeks [3–5], and showed that HCV RNA clearance at treatment week 4, as assessed with a non-commercial real-time PCR technique, was highly predictive of SVR (Crespo M, *et al.*, personal communication).

Herein, we have confirmed our previous findings using a commercially available quantitative test. Co-infected patients with HCV genotype 3 showing an HCV RNA decrease below 600 IU/ml at 4 weeks of treatment, are at minimal risk for relapse and achieve a very high rate of sustained response after 24 weeks of therapy. Using the cut off value of commonly used qualitative tests (50 IU/ml) to define RVR was less sensitive with a similar positive predictive value. Consequently, in multivariate analysis, the best prediction model for SVR included, in addition to baseline AST level, the 600 IU/ml cut-off, which is the detection limit of a widely used quantitative test.

Our study has several limitations. First, we have performed a *post hoc* analysis in a small subset of patients from a randomized trial not designed to address the utility of the early viral response to individualize treatment duration. Second, because of lack of histological data, we were unable to evaluate the influence of fibrosis stage on the predictive value of the RVR. In this regard, it is possible that the negative correlation between higher

baseline AST values and SVR might be related to more advanced liver fibrosis, as recently reported [14]. Third, because of the limited number of patients studied, the most appropriate cut off to define a RVR in these patients cannot be established. Nonetheless, because of their high sensitivity and wide dynamic range, real-time PCR tests, such as the one used in the present study, should allow accurate determination of the predictive values of different cut offs in larger patient cohorts. Finally, because RBV appears to have a direct antiviral effect that synergizes with that of IFN [15,16] and higher RBV doses have been shown to increase RVR rates in co-infected patients [17], the utility of early monitoring of viral response might have been underestimated in our study where fixed RBV doses were used.

In summary, monitoring early viral response might be useful for the management of genotype 3 HCV infection in HIV-co-infected patients. Patients showing an HCV RNA decrease below 600 IU/ml at 4 weeks are at low risk of relapse after 24 weeks of combination therapy. The reduced exposure to treatment will probably translate into a better benefit–risk ratio among co-infected patients. Our results on the utility of an RVR as a guide to tailor treatment duration in these patients warrant further investigation through well-designed randomized trials.

## Acknowledgements

We are indebted to Roche Molecular Diagnostics, Barcelona, Spain, for their invaluable technical assistance.

*Sponsorship: Supported in part by grants from the Fundació Privada Catalana de l'Hemofília, Barcelona; Red Temática Cooperativa de Investigación en SIDA (Red de grupos 173) del FISS; Centro de Investigación Biomedica en Red en Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBER 06/040028).*

## References

1. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martinez E, Miquel R, Sanchez-Tapias JM, *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS* 2004; 18:F27–F36.
2. Perez-Olmeda M, Nunez M, Romero M, Gonzalez J, Castro A, Arribas JR, *et al.* Pegylated IFN-alpha2b plus ribavirin as therapy for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS* 2003; 17:1023–1028.
3. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-Garcia J, Lazzarin A, *et al.* Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2004; 351:438–450.
4. Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE, *et al.* Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med* 2004; 351:451–459.

5. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel-Fabiani F, Benzekri A, *et al.* Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 292:2839–2848.
6. Alberti A, Clumeck N, Gerlich W, Lundgren J, Palù G, Reiss P. Short statement of the first European Consensus Conference on the treatment of chronic hepatitis B and C in HIV co-infected patients. *J Hepatol* 2005; 42:615–624.
7. Crespo M, Sauleda S, Esteban JI, Juarez A, Ribera E, Andreu A, *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin versus interferon alfa-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfectd patients. *J Viral Hepatitis* doi:10.1111/j.1365-2893.2006.00779.x [Accessed:].
8. Halfon P, Khiri H, Gerolami V, Bourliere M, Feryn JM, Reynier P, *et al.* Impact of various handling and storage conditions on quantitative detection of hepatitis C virus RNA. *J Hepatol* 1996; 25:307–311.
9. Martell M, Gómez J, Esteban J, Sauleda S, Quer J, Cabot B. High throughput real-time reverse transcription-PCR quantitation of hepatitis C virus RNA [Abstract]. *J Clin Microbiol* 1999; 37:327–332.
10. Sherman KE, Shire NJ, Rouster SD, Peters MG, James KM, Chung RT, *et al.* Viral kinetics in hepatitis C or hepatitis C/human immunodeficiency virus-infected patients. *Gastroenterology* 2005; 128:313–327.
11. Mangia A, Santoro R, Minerva N, Ricci GL, Carretta V, Persico M, *et al.* Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 2005; 352:2609–2617.
12. von WM, Huber M, Berg T, Hinrichsen H, Rasenack J, Heintges T, *et al.* Peginterferon-alpha-2a (40KD) and ribavirin for 16 or 24 weeks in patients with genotype 2 or 3 chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005; 129:522–527.
13. Dalgard O, Bjoro K, Hellum KB, Myrvang B, Ritland S, Skaug K, *et al.* Treatment with pegylated interferon and ribavirin in HCV infection with genotype 2 or 3 for 14 weeks: a pilot study. *Hepatology* 2004; 40:1260–1265.
14. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, *et al.* Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* 2006; 43:1317–1325.
15. Vo NV, Young KC, Lai MM. Mutagenic and inhibitory effects of ribavirin on hepatitis C virus RNA polymerase. *Biochemistry* 2003; 42:10462–10471.
16. Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, Perelson AS. Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection. *Nature* 2004; 432(7019):922–924.
17. Nunez M, Camino N, Ramos B, Berdun MA, Barreiro P, Losada E, *et al.* Impact of ribavirin exposure on early virological response to hepatitis C therapy in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. *Antiviral Ther* 2005; 10:657–662.