



TÍTULO:

*Concentraciones plasmáticas de Peginterferón- α 2a y Ribavirina
y polimorfismo de la IL-28B en la cinética viral y respuesta al tratamiento
de la hepatopatía crónica por virus C en pacientes coinfectados por el
VIH y VHC genotipos 1-4.*

Memoria para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla

Presentada por:

Almudena Torres Cornejo

Dirigida por el Dr. Luis F. López-Cortés y el Dr. Jerónimo Pachón Díaz.

D. Luis F. López Cortés, profesor asociado, D. Jerónimo Pachón Díaz, catedrático del departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla y D. José Villar Ortiz, catedrático del departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla

CERTIFICAN:

Que el trabajo de investigación que lleva por título **“Concentraciones plasmáticas de Peginterferón- α 2a y Ribavirina y polimorfismo de la IL-28B en la cinética viral y respuesta al tratamiento de la hepatopatía crónica por virus C en pacientes coinfectados por el VIH y VHC genotipos 1-4”** ha sido realizado bajo su dirección por la licenciada Doña Almudena Torres Cornejo, y reúne las condiciones necesarias para ser leído y defendido como Tesis para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla.

Para que conste a los efectos oportunos, expiden la presente certificación en Sevilla a, 24 de Abril de 2013

Luis F. López Cortés

Jerónimo Pachón Díaz

José Villar Ortiz

Almudena Torres Cornejo

FINANCIACIÓN:

Para el desarrollo del proyecto de investigación “Concentraciones plasmáticas de Peginterferón- α 2a y Ribavirina y polimorfismo de la IL-28B en la cinética viral y respuesta al tratamiento de la hepatopatía crónica por virus C en pacientes coinfectados por el VIH y VHC genotipos 1-4”, los kits de ELISA para la determinación de las concentraciones plasmáticas de pegIFN-a 2a fueron financiados por Roche Farma, S. A. (España), la cual no tuvo acceso a los datos del estudio y no participó en el análisis y publicación de los resultados.

DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS:

Publicaciones:

Almudena Torres-Cornejo¹, Rosa Ruiz-Valderas¹, Luis Jimenez-Jimenez², Cristina Abad-Molina³, Alicia Gutierrez-Valencia¹, Pompeyo Viciano¹, Luis F. Lopez-Cortes¹.

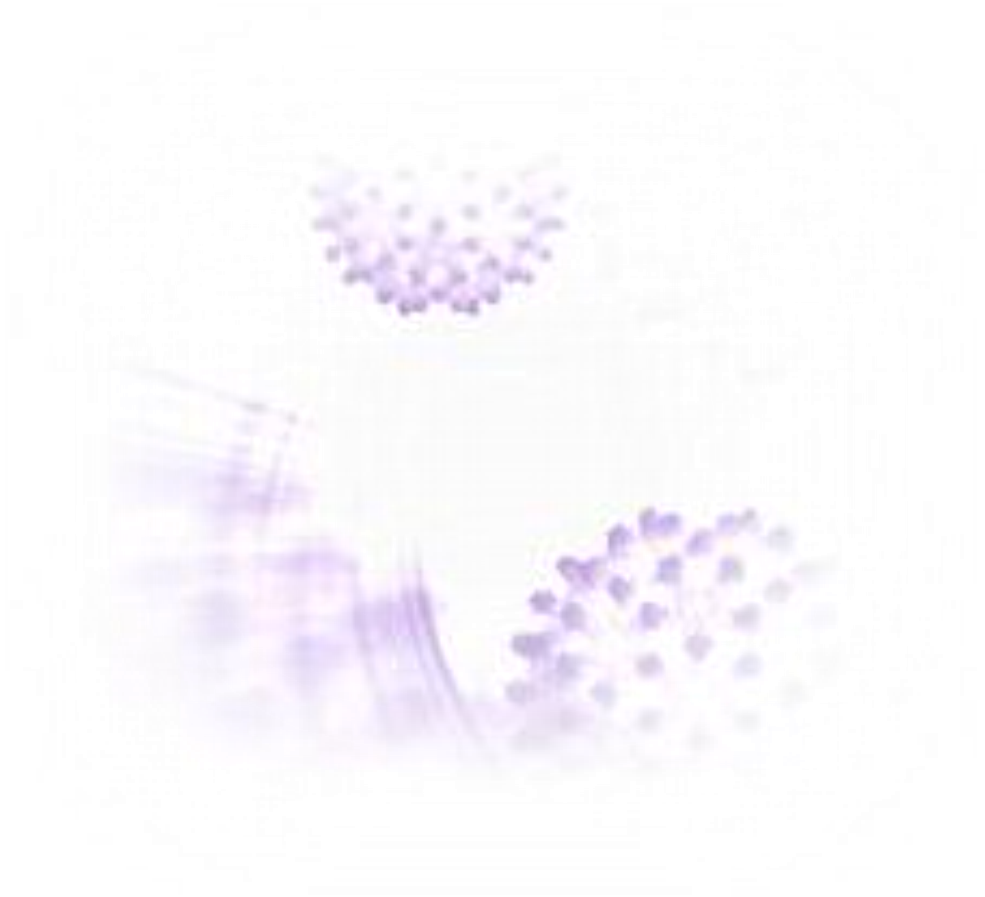
Impact of the peginterferon- α 2a and ribavirin plasma levels on viral kinetics and sustained virological response in genotype 1 HCV/HIV-coinfected patients with the unfavourable non-CC IL28B genotypes. Journal of Viral Hepatitis (Abril 2013, *In press*).

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
1.1 Virología de la Hepatitis C	1
1.1.1 Características generales del virus C	1
1.1.2 Estructura y organización genómica	2
1.1.3 Características moleculares y funcionales de las proteínas virales	3
1.1.4 Ciclo viral	6
1.1.5 Diversidad genética y evolución	8
1.2 Epidemiología e historia natural	11
1.2.1 Epidemiología	11
1.2.2 Transmisión	12
1.2.3 Patogénesis	12
1.2.3.1 Infección aguda.....	12
1.2.3.2 Inmunidad humoral y celular.....	14
1.2.3.3 Hepatitis C crónica y progresión de la enfermedad	15
1.3 Coinfección VIH-VHC	18
1.3.1 Epidemiología	18
1.3.2 Impacto del VIH en el curso de la infección por VHC	19
1.4 Manejo clínico de la infección por VHC	21
1.4.1 Hitos y estrategias terapéuticas en el tratamiento de la hepatitis C.....	21
1.4.1.1 Años 90: Monoterapia con IFN- α y biterapia de IFN- α y ribavirina	21
1.4.1.2 Año 2000: Monoterapia con pegIFN- α y biterapia de pegIFN- α y ribavirina.....	26
1.4.1.3 Año 2010: Desarrollo de nuevos antivirales	28
1.4.2 Factores predictores de respuesta al tratamiento con IFN- α y ribavirina	30
1.4.2.1 Factores predictores previos al tratamiento	30
- Factores generales del huésped	30
- Factores genéticos: Gen de la interleucina 28B (IL 28B)	30
- Factores virales.....	31
1.4.2.2 Factores predictores durante el tratamiento.....	32
- Cinética de la replicación viral	32
- Concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y ribavirina	33
1.5 Tratamiento de la coinfección por VIH y VHC	36
1.5.1 PegIFN- α y ribavirina	36
1.5.2 Nuevos fármacos antivirales en la coinfección por VIH y VHC	38
2. FUNDAMENTO, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	40

3. PACIENTES Y METODOLOGÍA	45
3.1 Diseño del estudio	46
3.2 Selección de pacientes	46
3.2.1 Criterios de inclusión	46
3.2.2 Criterios de exclusión	46
3.3 Tratamiento	46
3.4 Variables e instrumentos de medida	47
3.4.1 Demográficas	47
3.4.2 Factores de riesgo	47
3.4.3 Genotipado VHC y cuantificación de la carga viral del VHC y VIH	47
3.4.4 Tratamiento antirretroviral	47
3.4.5 Evaluación de la fibrosis hepática	47
3.4.6 Genotipo de la IL28B (SNP rs129679860)	47
3.4.7 Concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y ribavirina	48
3.4.8 Evaluación de la respuesta al tratamiento. Definiciones estándares	50
3.5 Análisis estadístico	51
3.6 Aspectos éticos	52
4. RESULTADOS	54
4.1 Características generales de la cohorte	55
4.1.1 Características basales de toda la cohorte	55
4.1.2 Características basales de genotipos 1 del VHC según genotipo de la IL28B	56
4.1.3 Características basales de genotipos 4 del VHC según genotipo de la IL28B	56
4.2 Seguridad y eficacia del tratamiento	60
4.2.1 Incidencia y severidad de efectos adversos	60
4.2.2 Administración y uso de eritropoyetina	60
4.2.3 Adherencia al tratamiento	60
4.2.4 Eficacia del tratamiento con pegIFN- α 2a y ribavirina	60
4.3 Farmacocinética de pegIFN-α 2a y ribavirina	66
4.3.1 Relación entre las concentraciones plasmáticas y otras variables	66
4.3.2 Análisis de curvas ROC	68
4.4 Cinética viral	71
4.4.1 Cinética viral según genotipo de la IL28B en toda la cohorte y en genotipos 1 y 4 del VHC	71
4.4.2 Cinética viral según genotipo de la IL28B en los diferentes subtipos del genotipos 1	72

4.5 Cinética viral y concentraciones plasmáticas de pegIFN-α 2a y ribavirina	73
4.5.1 Relación entre las C_p de pegIFN- α 2a y cinética viral temprana en G-1 VHC	74
4.5.2 Relación entre las C_p de pegIFN- α 2a, cinética viral temprana en G-1 y genotipo de la IL28B ...	75
4.5.3 Relación entre las C_p de ribavirina y cinética viral temprana en G-1 VHC	77
4.5.4 Relación entre las C_p de ribavirina, cinética viral temprana en G-1 y genotipo de IL28B	78
4.5.5 Relación entre las C_p de pegIFN- α 2a y ribavirina y cinética viral temprana en G-4 VHC	80
4.6 Factores asociados a la respuesta virológica	82
4.6.1 Análisis en la cohorte completa	82
4.6.2 Análisis en los diferentes genotipos del VHC	84
4.6.2.1 Genotipos 1 y diferentes genotipos de la IL28B	84
4.6.2.2 Genotipos 1 y diferentes genotipos de la IL28B	86
4.6.3 Análisis multivariante	88
4.6.3.1 Modelo multivariante genotipos 1 del VHC. <i>Curva ROC</i>	88
4.6.3.2 Modelo multivariante genotipos 1 del VHC y CC de la IL28B. <i>Curva ROC</i>	90
4.6.3.3 Modelo multivariante genotipos 1 del VHC y No-CC de la IL28B. <i>Curva ROC</i>	90
5. DISCUSIÓN	95
6. CONCLUSIONES	106
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107



INTRODUCCIÓN y **A**NTECEDENTES

1.1 Virología de la Hepatitis C.

1.1.1 Características generales del virus.

El virus de la hepatitis C (VHC) es de pequeño tamaño, aproximadamente 50 nm de diámetro, cuyo genoma es lineal, no segmentado, de unos 9,6 kilobases de longitud y está constituido por una sola cadena de ARN de polaridad positiva (ssARN+) ¹. Tanto por su estructura, como por su organización genómica y ciclo de replicación, se engloba dentro de la familia *Flaviviridae*, género *Hepacivirus* (única especie dentro de este género) ^{2, 3}. El VHC está envuelto por una doble capa lipídica, en la que se sitúan las glicoproteínas E1 y E2, implicadas en la entrada viral. Dicha envuelta rodea a una estructura, aún no bien conocida, formada por la proteína viral core, en cuyo interior se localiza el genoma viral. Actualmente, debido en gran medida a la heterogeneidad del virus, no existe un modelo detallado del mismo, de ahí que aún se desconozca si las proteínas core se organizan formando una nucleocápsida regular o si se encuentran formando una matriz amorfa que rodea el genoma viral ^{4, 5}.

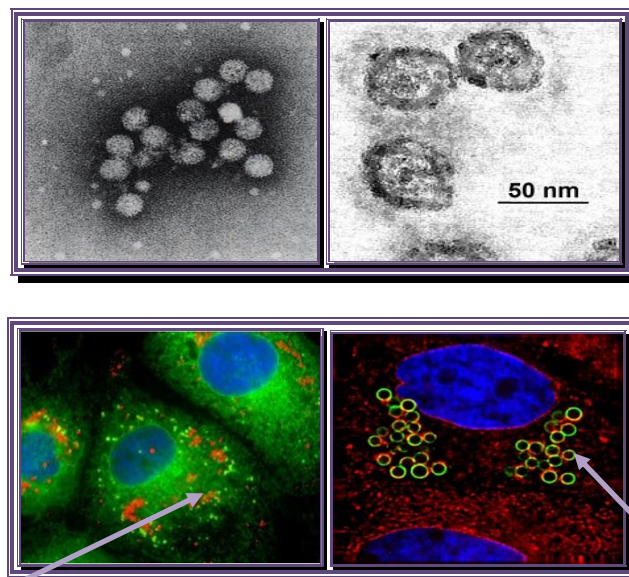


Figura 1. Virus de la hepatitis C.

Mr. Torsten Schaller

Immunology & Molecular Pathology.

Proteínas virales asociadas a gotas lipídicas

Mark Harris

Distribución de proteínas del VHC en células de hepatoma

Una característica importante del VHC es, que en los pacientes infectados, éste circula en el torrente sanguíneo asociado a lipoproteínas de baja (LDL) y muy baja densidad (VLDL). Por ello, las partículas virales circulantes también reciben el nombre de lipo-viropartículas (LVP), las cuales se caracterizan por presentar una estructura esférica con diámetros superiores a los 100 nm (**Figura 1**).

1.1.2 Estructura y organización genómica del virus.

Como apuntamos anteriormente, el genoma del VHC está formado por una única molécula de ARN de sentido positivo con una longitud de 9,6 kb. A diferencia de los ARNm de las células eucariotas, el genoma de ARN del virus C es idéntico a su ARNm, y por tanto puede ser directamente traducido por la célula huésped. Dicho genoma no contiene ni el “cap” en el extremo 5’ ni la cola de poly-A, típica de los ARNm de las células eucariotas, presentando una única pauta de lectura abierta y, por tanto, un único inicio de lectura (ORF), codificando una poliproteína precursora de unos 3.010 aminoácidos (Aa). Esta región codificante se encuentra flanqueada por dos regiones altamente conservadas no codificantes en los extremos 5’ y 3’ (UTRs) y que son fundamentales tanto en la traducción como en la replicación del ARN viral ⁶.

La región 5’ UTR, formada por unos 341 nucleótidos, es una región muy conservada entre los diferentes aislados del virus, con analogías superiores al 98% ⁷ y localizada junto a los primeros 30-40 nucleótidos de la región codificante del core. Su función principal es facilitar la unión de la subunidad 40S del ribosoma de la célula hospedadora al ARN vírico para iniciar la traducción del mismo de forma independiente ⁸⁻¹⁰.

La región 3’ UTR se agrupa en tres segmentos: una zona variable de entre 30-60 nucleótidos hacia el codón de terminación, seguido de una secuencia de poli-uracilo/polipirimidinas de longitud variable y la región terminal de 98 nucleótidos, la cual es la región más conservada del genoma del virus C y esencial para su replicación ^{11, 12} (**Figura 2**).

1.1.3 Características moleculares y funcionales de las proteínas virales.

El proceso de traducción del genoma del VHC da lugar a un polipéptido, el cual es procesado co- y post-traduccionamente en el retículo endoplásmico tanto por proteasas virales como celulares, dando lugar a la producción de 10 proteínas. Estas proteínas se clasifican en estructurales y no estructurales.

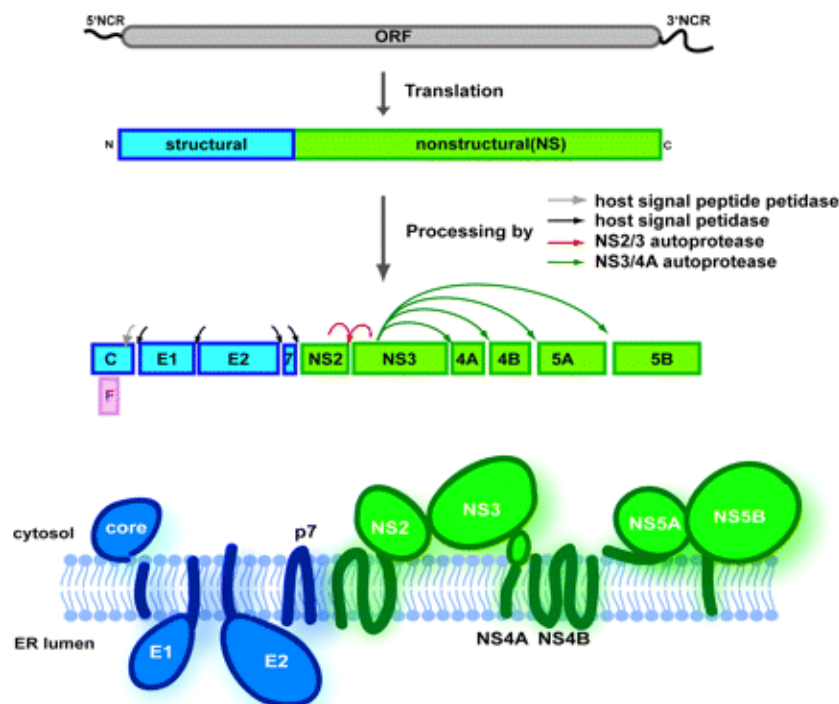


Figura 2. Organización genómica del VHC y tipos de proteínas ¹.

Proteínas estructurales

Core. Durante el proceso de traducción, la poliproteína es transportada al retículo endoplásmico, donde tiene lugar la maduración de la proteína core, resultando en una proteína de 171 Aa. Es la precursora de la cápside viral que contiene el genoma viral. Por otro lado, presenta funciones reguladoras y participa en el ensamblaje de los viriones, la unión del ARN viral y regulación de la traducción del ARN viral ¹³⁻¹⁵.

E1 (gp35) y E2 (gp70). Ambas son proteínas que dan lugar a la envoltura de la nucleocápside viral, las cuales se encuentran altamente glicosiladas ¹⁶. El complejo E1-E2 está implicado en la adsorción del virus hacia sus receptores CD18-tetraspanina y lipoproteínas de baja densidad (LDL-r), induciendo la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática de la célula huésped ^{17, 18}. Sin embargo, aún no se conoce con exactitud el mecanismo de entrada del virus, habiéndose identificado otros posibles factores del huésped implicados en éste proceso.

Proteínas p7 y NS2. Estas dos proteínas juegan un papel importante en el ensamblaje de las partículas virales y en la salida del virus desde la célula, si bien no son requeridas para la replicación viral. La p7 es una proteína de membrana que en el retículo endoplásmico forma un canal iónico esencial para la producción de viriones infectivos, pudiendo llegar a ser una posible diana terapéutica ¹⁹⁻²¹. Por su parte, la proteína no estructural NS2, junto con la región N-terminal de la proteína NS3, dan lugar a una auto-proteasa zinc-dependiente que induce la escisión entre NS2 y NS3.

Proteínas no estructurales

NS3. La proteína NS3 es una molécula funcional, que presenta tres actividades enzimáticas: serín-proteasa, ARN helicasa y NTPasa. Para llevar a cabo su actividad, requiere estar asociada a la proteína NS4A, responsable del procesamiento de la parte no estructural de la poliproteína. Gracias a las actividades NTPasa y ARN helicasa, facilita la traducción y replicación del genoma viral. La proteína NS3 podría tener un papel directo en la patogénesis del virus, ya que se ha demostrado que la expresión de NS3 transforma las líneas celulares NIH 3T3 e induce tumores en “nude mice” ²². Debido a este papel esencial en la infectividad del virus, esta proteína se convierte en una de las principales dianas terapéuticas para el diseño de los nuevos antivirales ^{23, 24}.

NS4A. Actúa como cofactor de la serín-proteasa NS3, además de estar involucrado en el anclaje de NS3 en el retículo endoplásmico aumentando así su estabilidad ²⁵.

NS4B. Es una proteína integral de membrana que en los hepatocitos se localiza en el retículo endoplásmico. Su dominio N-terminal es de naturaleza anfipática, facilitando su unión al

retículo endoplásmico. Este dominio es crucial para la replicación del virus y por tanto, una buena diana para el desarrollo de nuevos antivirales y/o vacunas ²⁶.

NS5A. Es una fosfoproteína anclada a membrana y de unión a ARN. A pesar de no conocerse con exactitud su función, parece tener un papel en la replicación del ARN, ya que su fosforilación está mediada por diferentes kinasas celulares. Una de las propiedades de mayor importancia es la presencia de un dominio llamado región determinante de la sensibilidad a IFN- α (ISDR), adquiriendo un papel de gran interés en la respuesta al tratamiento con IFN- α ²⁷. Por otro lado, se ha observado que la presencia de ciertas mutaciones en la región ISDR está estrechamente relacionada con tasas mayores de respuesta viral sostenida ^{28,29}.

NS5B. Representa la ARN-polimerasa ARN-dependiente viral (RdRp), clave para la síntesis de nuevos genomas virales de ARN. En la célula huésped, esta polimerasa se encuentra localizada en el citoplasma, presentando su centro activo en un dominio de típica estructura en forma de “mano derecha” ³⁰. A diferencia de las ADN y/o ARN polimerasas de mamíferos, el subdominio creado por los dedos y el pulgar forman un centro activo cerrado para la unión específica de nucleótidos trifosfatos.

La polimerasa NS5B induce la síntesis de la cadena negativa de ARN del virus, la cual es posteriormente utilizada como molde para la síntesis de la cadena positiva de ARN que servirá como genoma en los nuevos viriones. Esta estructura única hace que esta polimerasa del virus C se convierta en una diana clave para el desarrollo de nuevos fármacos antivirales, como inhibidores análogos de nucleósido y no análogos de nucleósido. Tanto NS5B como NS3 son enzimas claves para la replicación del virus y, por ello, actualmente se están desarrollando nuevas terapias específicas para el bloqueo de su actividad.

Proteína F. Además de las diez proteínas procedentes del ORF del VHC, en 2001 se descubrió una nueva proteína o marco de lectura F, localizada en la región del core de algunos aislados genotipos 1 del virus. Actualmente no se conoce el papel que desarrolla en el ciclo del virus ³¹.

1.1.4 Ciclo viral.

Debido a la ausencia de modelos animales experimentales y de sistemas de replicación eficientes tanto *in vitro* como *in vivo* del virus, hasta ahora, no se ha podido conocer con exactitud su ciclo, así como los mecanismos posibles implicados en la entrada del virus en la célula.

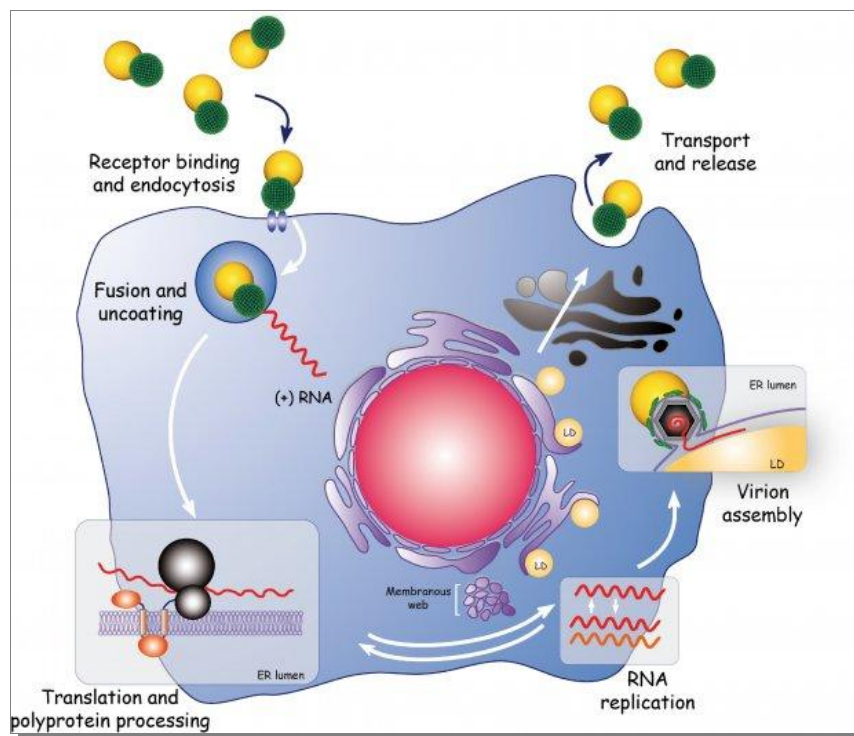


Figura 3. Modelo actual del ciclo vital del VHC.

EASL 43rd Annual Meeting of the European Association For The Study Of The Liver
Milan, Italy April 23-27, 2008

Unión y entrada del virus a la célula.

La unión del virus a la célula está facilitada por varias moléculas o receptores localizados en la superficie celular. El receptor hasta ahora más ampliamente estudiado es la tetraspanina (CD81). Esta molécula se expresa en una gran variedad de células, principalmente hepatocitos y células mononucleadas de sangre periférica (PBMCs). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que el receptor CD81 no es suficiente por sí mismo para la entrada viral y que requiere de otros cofactores, como el receptor “scavenger” (o receptor “barredor”) clase B tipo

I (SR-BI). El proceso de unión del virus a la célula se inicia tras la interacción de la glicoproteína E2 de la envoltura del virus y el glicosaminoglicano heparán sulfato (GAG) de la superficie celular^{32, 33}. Por otro lado, el VHC inicia la infección en el hepatocito a través de la interacción con los receptores LDL-r. Este proceso puede estar mediado bien por VLDL o LDL^{34, 35}. A su vez, la proteína SR-BI actúa como receptor tanto para el LDL como HDL resaltando así el papel de estas moléculas en la infectividad del virus^{36, 37}. En algunos estudios, se ha demostrado que la unión del virus a este receptor SR-BI es un requisito indispensable para su posterior interacción con el receptor CD81^{38, 39}. Otros factores relacionados con la célula e implicados en este proceso han sido identificados, tales como la claudina-1 (CLDN-1) y la ocludina (OCLN), proteínas fundamentales para las uniones entre hepatocitos⁴⁰.

Fusión con la membrana celular.

Tras la adhesión del virus a la superficie celular, la nucleocápsida del virus es liberada al citoplasma celular quedando libre el genoma viral como resultado del proceso de endocitosis llevado a cabo entre la membrana celular y la envuelta de origen lipídico del virus. La fusión es llevada a cabo por proteínas virales especializadas y tiene lugar mediante un proceso de internalización mediado por endosomas siguiendo un mecanismo pH-dependiente^{41, 42}.

Traducción del ARN y proceso post-transduccional.

Tras el proceso de fusión de la cápside viral, tiene lugar la liberación del ARN viral al citoplasma celular donde actúa como ARNm para la síntesis de la poliproteína del virus. La traducción del genoma está controlada por la región IRES (“Internal ribosome entry side”) localizada en la región 5' NTR del genoma. Dicha región media la iniciación de la traducción cap-dependiente de la poliproteína del VHC mediante el reclutamiento de dos proteínas celulares, factores de iniciación de eucariotas eIF2 y 3, y proteínas virales^{43 44}. IRES forma un complejo de pre-iniciación estable uniéndose a la subunidad 40S del ribosoma, facilitándose de este modo el inicio de la traducción del ARNm viral.

Replicación.

El proceso de replicación del virus C no se conoce por completo. La enzima clave de este proceso es la NS5B o ARN polimerasa ARN-dependiente (RdRp) ⁴⁵. La RdRp utiliza la cadena positiva de ARN del VHC como molde para la síntesis de su cadena intermedia de sentido negativo, con el fin de producir posteriormente numerosos genomas de ARN de cadena positiva, que serán utilizados para la traducción de la poliproteína, síntesis de nuevos mediadores de la replicación y/o formación de nuevas partículas virales.

Ensamblaje y liberación del virus.

Del mismo modo, debido a la falta de modelos de estudios, no se conoce con exactitud el mecanismo de este proceso. Hasta ahora se conoce que la proteína core desempeña un papel fundamental en este proceso. Las proteínas del core son capaces de ensamblarse consigo mismas dando lugar a partículas parecidas a la nucleocápside. El proceso de ensamblaje del virus tiene lugar en el retículo endoplásmico ⁴⁶, y pequeñas cadenas de lípidos también parecen estar involucradas en la formación de estas partículas ^{47, 48}. Mediante el uso de anticuerpos específicos, se ha podido comprobar que estas partículas virales presentan proteínas del core, como la glicoproteína E2, indicando que dichas estructuras podrían representar virus de la hepatitis C infectivos. ⁴⁷.

1.1.5 Diversidad genética y evolución.

Debido a la falta de mecanismos de corrección de error de la ARN polimerasa del virus C y su alta tasa de replicación (10^{11} nuevas partículas de VHC/día y una vida media del virión de 2 a 3 horas) ⁴⁹, tiene lugar el desarrollo de una rápida acumulación de mutaciones en el virus. La tasa promedio de fijación de mutaciones está entre 1.1 y 1.5×10^{-3} mutaciones por nucleótido por año ^{41, 42}. Podemos encontrar múltiples variantes del VHC tanto en plasma como en hígado de individuos infectados. Debido a esto, en cada paciente infectado por el virus de la hepatitis C pueden existir diferentes poblaciones o quasiespecies del virus, cuyos genomas están estrechamente relacionados pero presentan diferencias en las secuencias

(cambios de nucleótidos) ^{50, 51}. Cada mutante presenta una mayor o menor capacidad replicativa o “fitness”, de tal forma que todos ellos compiten por producir nuevos genomas y se encuentran sometidos a selección natural.

En el caso del VHC, la mutación y la recombinación son los dos mecanismos de variación conocidos que permiten la persistencia y adaptación del virus a cambios ambientales. Una de las mayores presiones selectivas a las que se encuentra sometido el virus es el sistema inmunológico del huésped al que infecta. Existen evidencias de que la respuesta inmune celular podría dirigir la selección de variantes específicas dentro de las quasiespecies. Por lo que las variantes del virus proveniente de sangre reflejarían la producción de virus, así como la selección a la que está sometido ^{52, 53}.

La extensa variabilidad genética del virus C varía a lo largo de su genoma, existiendo regiones de mayor variabilidad, como el segmento que codifica el dominio amino-terminal de la glicoproteína E2, llamado HVR-1, y a su vez, zonas de menor variación genética, como el gen core y los segmentos 5' y 3' UTR ^{54, 55}.

Genotipos y subtipos.

Además de la gran heterogeneidad existente entre las secuencias del virus presente en un mismo paciente, dando lugar a la generación de quasiespecies, hay que destacar la gran diversidad genética que podemos encontrar en las secuencias de diferentes individuos, apareciendo así los diferentes genotipos del VHC.

Actualmente se conocen al menos 6 genotipos mayores del virus C y hasta 11 subtipos diferentes entre sí, existiendo una variabilidad entre sus secuencias de hasta el 50% y, con ello, evidencias que demuestran diferencias tanto en la transmisibilidad y tasa de replicación, así como en la progresión de la enfermedad hepática y en la respuesta al tratamiento con interferón ⁵⁵.

Entre los diferentes genotipos del VHC, existen a su vez subgenotipos o bien llamados subtipos, los cuales presentan analogías entre sus secuencias en un 75-85% fundamentalmente en las regiones del core-E1 y NS5B del genoma ^{56, 57}. Sin embargo, cuando hablamos de las

variantes cuasiespecies, estas mismas regiones son idénticas en un 91-99% en un mismo paciente ⁵⁸. En cuanto a la distribución geográfica, es muy variable en todo el mundo, predominando algunos genotipos y subtipos en determinadas áreas geográficas. Dicho fenómeno podría explicarse debido a las diferentes vías de transmisión y los continuos movimientos de la población. Así, por ejemplo, los genotipos 1, 2 y 3 se distribuyen ampliamente por Europa occidental, EEUU y Japón, mientras que el genotipo 4 predomina en África del Norte y Central y Oriente Próximo (**Figura 4**) ^{59, 60}.

A su vez, los subtipos 1a y 1b son los más frecuentes y causan más del 40% de todas las infecciones por VHC en EE.UU ⁶¹. Estos subtipos son predominantes en Europa, especialmente el 1b, que es el más prevalente en el Sur y Este de Europa ⁶².

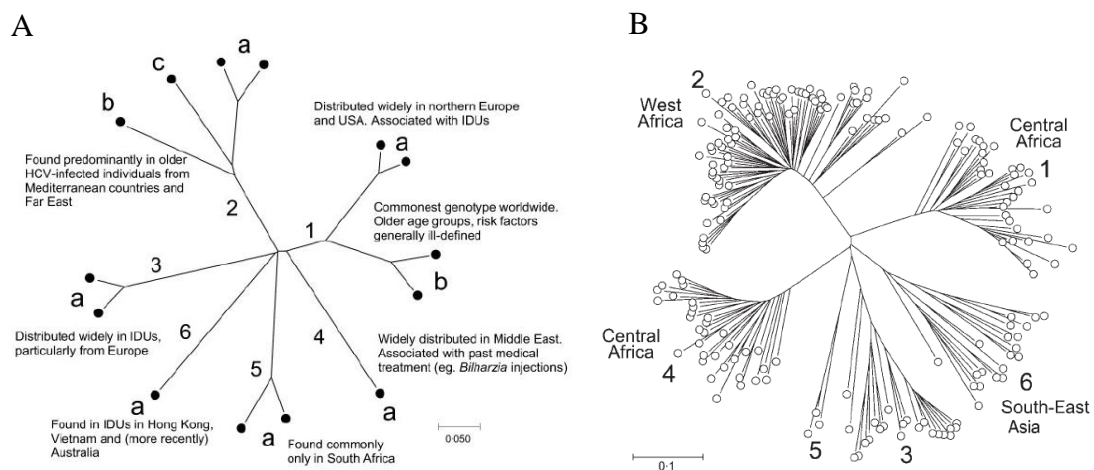


Figura 4. A) Principales genotipos en países industrializados y su principal asociación con grupos de riesgo específicos. B) Genotipos y subtipos VHC detectados en zonas endémicas ⁶³

1.2 Epidemiología e Historia Natural

1.2.1 Epidemiología.

La infección por el VHC es actualmente una de las enfermedades de mayor impacto a nivel mundial. En Europa y EEUU representa la principal causa de hepatitis crónica y una de las principales causas de muerte e indicación de trasplante hepático por insuficiencia hepática y/o hepatocarcinoma. La organización mundial de la salud (WHO), estimó en el año 2011 que el número de casos de infectados en todo el mundo alcanzaba entre 130-170 millones de personas, lo que supone entre un 2-2,5% de la población mundial ⁶⁴.

El VHC es uno de los siete virus hepatotrópicos conocidos hasta el momento (A, B, D, E, F y G), descubierto en 1989 y llamado previamente como virus de la hepatitis No A, no B ⁶⁵.

La prevalencia de la infección por VHC es diferente entre las distintas áreas geográficas de todo el mundo. Así, en países como Egipto la tasa de prevalencia es del 22%, mientras que en África o Asia la prevalencia es más elevada que en América del Norte y Europa. Un aspecto a destacar de la infección es que de todas aquellas personas con anticuerpos frente al VHC, el 80-90% de ellas son ARN-VHC positivas, asumiéndose por tanto que entre el 10-20% de éstas aclaran el virus espontáneamente. En Europa el número de personas con viremias positivas es de aproximadamente 2-5 millones.

Los grupos de mayor riesgo para contraer la infección son, en mayor grado, los usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP) y, en menor medida, aquellas personas que fueron sometidas a transfusiones sanguíneas antes de 1991. Resulta difícil conocer el tiempo de la infección al diagnóstico, sin embargo, el número de nuevas infecciones ha disminuido bastante durante las últimas décadas. Este descenso se asocia en gran medida a la disminución del número de UDVP, mientras que, por el contrario, en estos últimos años se ha observado un aumento considerable en la tasa de nuevas infecciones de hepatitis C aguda en pacientes homosexuales infectados por el VIH ^{66, 67}.

1.2.2 Transmisión.

La transmisión del VHC requiere el contacto entre viriones infectivos y células susceptibles y permisibles para su replicación, apartado detallado anteriormente en el ciclo viral. La exposición al virus de la hepatitis C por vía parenteral es el mecanismo de transmisión más eficiente. En Europa y EEUU, el uso de drogas vía parenteral o la exposición a transfusiones sanguíneas es la forma más común de contraer la enfermedad, aunque a partir de los años 90 gracias a los test de screening de rutina en sangre, la incidencia de infecciones debido a transfusiones ha disminuido drásticamente a índices de entre 0,1 y 2,33 por millón de donaciones ⁶⁸. Sin embargo, en países en vías de desarrollo, el alto coste económico de estas técnicas de screening impide el control necesario para asegurar una transfusión mucho más segura. Otras vías o rutas de transmisión conocidas son: la transmisión sexual, tratamientos con hemoderivados, infección nosocomial (hemodiálisis, cirugía, endoscopia, trasplante de órganos, tratamientos odontológicos, personal sanitario), transmisión materno-infantil, tatuajes y piercings.

1.2.3 Patogénesis.

1.2.3.1 Infección Aguda.

En el momento en el que el virus entra en contacto con el huésped por cualquiera de las vías anteriormente mencionadas, se disemina a través del torrente sanguíneo llegando al hepatocito, su principal célula diana, comenzando así su ciclo replicativo en el citoplasma. Es en esta fase inicial de la infección cuando hablamos, desde un punto de vista clínico, de infección aguda de la hepatitis C ⁶⁹. El marcador más precoz de infección es la presencia de ARN del VHC, que aparece en sangre entre 1 y 4 semanas antes de la elevación de las transaminasas ⁷⁰⁻⁷². El pico de viremia se alcanza entre las primeras 4-8 semanas de la infección y posteriormente cae a niveles inferiores, coincidiendo con la seroconversión de los pacientes (**Figura 5**) ⁷.

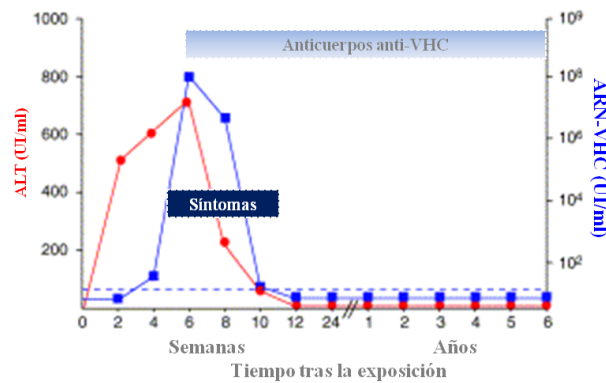


Figura 5. Curso de la infección aguda y aclaramiento viral del VHC.

En algunos casos, los niveles de ARN-VHC llegan a ser indetectables durante los primeros meses de la infección, permaneciendo indetectable indefinidamente, es a este fenómeno lo que llamamos “aclaramiento viral”, que tiene lugar en tan sólo el 15-25% de los pacientes con infección aguda. En otros casos, se desarrollan fluctuaciones en los valores de viremia que pueden durar hasta seis meses, y posteriormente permanecer constantes o persistentes^{70, 74-76}. La aparición de rebrotes virales podría representar un escape del virus a una respuesta inmune inicialmente satisfactoria^{52, 77-79}. En general, la persistencia de la viremia ocurre en el 75-85% de los casos de infección aguda desarrollándose la cronicidad de la infección con niveles de viremia inferiores a los que se alcanzan durante la infección aguda.

Los mecanismos involucrados en el proceso de aclaramiento viral son poco conocidos hasta el momento. Datos clínicos y epidemiológicos sugieren que algunos factores del huésped son críticos en este proceso. Aquellas personas con una mayor probabilidad de aclarar el virus desarrollan mayores síntomas clínicos, como por ejemplo ictericia, astenia y anorexia, lo cual se relaciona con una mayor respuesta inmunológica frente al virus. Aún así, es difícil de explicar los mecanismos inmunológicos involucrados en la respuesta frente a la infección por el VHC.

1.2.3.2 Inmunidad Humoral y Celular.

Inmunidad humoral.

En los primeros meses de la infección se detectan en sangre anticuerpos frente a múltiples antígenos correspondientes tanto a genes estructurales como no estructurales del virus. Como se puede observar en la **Figura 5**, la seroconversión de los pacientes coincide en el tiempo con un descenso en la carga viral del VHC, a pesar de ello, esto no supone la eliminación total del virus. Aún así, la respuesta inmune humoral podría estar involucrada en la neutralización de ciertas variantes del virus en determinados individuos. Se han descrito casos en los que tras la administración de inmunoglobulinas se alcanza la indetectabilidad viral en algunos receptores de trasplante hepático con anticuerpos anti-VHC.

En personas con aclaramiento viral, parece existir un descenso en la respuesta frente al VHC mediada por anticuerpos, mientras que la respuesta inmune celular mediada por linfocitos T CD4⁺ permanece constante. Todos estos datos sugieren que la respuesta mediada por anticuerpos podría tener un efecto neutralizante frente al virus e incluso limitar la severidad y riesgo de padecer infecciones recurrentes, aunque a pesar de ello, no es suficiente para una eliminación directa del virus ^{75, 80}.

Inmunidad Celular.

Existen numerosos estudios que señalan el papel crítico que la respuesta inmune mediada por células T ejerce en el control de la viremia. Se ha observado, que los pacientes con infección persistente por el VHC presentan en sangre periférica niveles altos de linfocitos T CD8⁺ específicos de VHC, superiores a los niveles de células T CD4⁺ ^{81, 82}. Una mayor respuesta mediada por linfocitos T citotóxicos (CTL) en sangre periférica e hígado parece estar asociada con menores niveles de ARN-VHC circulante. De hecho, se han encontrado CTLs específicos contra VHC en personas expuestas al virus pero que nunca desarrollaron anticuerpos ni viremias, si bien aún no se conoce la razón por la cual no tiene lugar la seroconversión en estos pacientes.

Los linfocitos T citotóxicos CD8⁺ activados (CD69⁺) reconocen a los hepatocitos infectados porque expresan antígenos virales en su membrana, destruyéndolos por citolisis directa o mediante inducción de apoptosis. Pero también las células NK, linfocitos T no específicos y otras células mononucleares reclutadas en el foco inflamatorio participan en la destrucción hepatocelular⁸³. Parte de estos linfocitos T CD8⁺ específicos para VHC son incapaces de producir interferón γ y expresan proteínas reguladoras como la proteína PD1 (“programmed death 1”) tanto en sangre periférica como en hígado. Dicha molécula PD1 se une a su receptor de superficie de membranas en las células T y B activadas, NK y macrófagos suprimiendo la respuesta inmunitaria, en este caso mediante la reducción de la proliferación de los linfocitos T CD8⁺, lo cual podría explicar la dificultad de erradicar la infección⁸⁴.

1.2.3.3 Hepatitis C Crónica y progresión de la enfermedad.

El desarrollo de la hepatitis C crónica (HCC) tiene lugar en un alto porcentaje de aquellos individuos que sufren una infección aguda (75-85%). Como hemos comentado anteriormente, la instauración de la HCC tiene lugar aproximadamente tras 6 meses de persistencia viral. Una vez establecida, la probabilidad de aclaramiento viral es sumamente baja⁷³ (**Figura 6**).

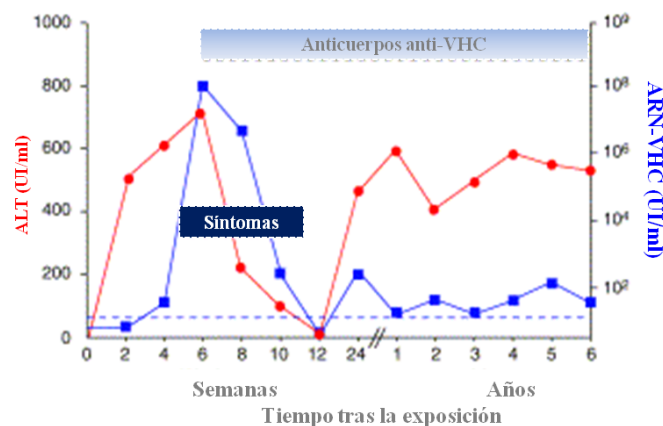


Figura 6. Curso de la cronicidad de la hepatitis C.

En aquellos pacientes con infección crónica podemos encontrar sujetos con niveles normales de enzimas hepáticas y sin evidencia de daño hepático, pacientes con transaminasas persistentemente elevadas pero sin progresión de la enfermedad hepática y, por otro lado,

pacientes que desarrollarán fibrosis hepática, destruyendo el tejido hepático y por tanto progresando a cirrosis ⁸⁵ (20-30%). En este grupo de pacientes, una vez instaurada la cirrosis, entre el 10% y el 20% de ellos presentarán descompensación hepática en los primeros 5 años, pudiendo manifestarse en forma de ascitis, varices esofágicas, coagulopatías o encefalopatías ⁸⁶. Si bien, un porcentaje de ellos evolucionaran hacia fallo hepático (6-10%) o hepatocarcinoma (5-10%) y el resto presentarán una enfermedad compensada ⁸⁷.

Es importante destacar, que existen notables diferencias en cuanto al grado de lesión hepática en pacientes con infección crónica. El estadio de la enfermedad se clasifica en función de la actividad y la fibrosis hepática, ambas evaluadas en la biopsia hepática y mediante otros métodos no invasivos como la elastografía transitoria (Fibroscan) ⁸⁸. Las lesiones histológicas de la HCC se evalúan con dos puntuaciones diferentes: una para la actividad necroinflamatoria (A0-A3) y otra para el estadio de fibrosis (F0-F4). La actividad no es muy buen predictor de fibrosis, en cambio, el estadio de fibrosis refleja, por un lado, la vulnerabilidad del paciente para la lesión hepática y, por otro, predice la probabilidad de progresión a cirrosis, así como la velocidad de la progresión de la fibrosis. ⁸⁹.

Existen factores que inciden en la progresión de la enfermedad, así como en el desarrollo y evolución de la fibrosis hepática.

• *Factores del huésped:*

Edad y Sexo. A igualdad en la duración de la infección, los pacientes que contraen la infección antes de alcanzar los 40 años presentan más probabilidades de desarrollar fibrosis. Igualmente los individuos de sexo masculino presentan un riesgo de progresión a fibrosis 10 veces más rápido que las mujeres, lo cual podría deberse a la acción de las hormonas femeninas ^{90, 91}.

Raza. Paradójicamente, siendo los afroamericanos el grupo racial que tiene una mayor tasa de infección junto con una alta tasa de progresión de hepatitis crónica y menor tasa de respuesta al tratamiento, existen evidencias que demuestran que la cirrosis es menor en este grupo ⁹².

Respuesta inmune celular específica frente al VHC. La respuesta inflamatoria está regulada por mecanismos complejos y probablemente dependerá de determinantes genéticos como la expresión de HLA ⁹³, aunque no está del todo estudiado.

Coinfección. La coinfección con otros virus que comparten mismas vías de transmisión (VIH y hepatitis B) agrava la progresión haciéndola más rápida, especialmente en aquellos en los que la inmunosupresión es mayor ⁹⁴.

Genética. Se han estudiado varios polimorfismos de algunos genes que podrían influir en la progresión a fibrosis, como por ejemplo el fenotipo del gen TGF B1, PNPLA3 y el recientemente estudiado gen de la IL28B ⁹⁵⁻⁹⁹.

• *Factores externos:*

Consumo de alcohol. El alcohol, incluso en cantidades moderadas, aumenta la replicación del VHC, permitiendo así un avance más rápido en la progresión de la enfermedad y en el riesgo de desarrollar fibrosis ¹⁰⁰.

Tabaco. En un estudio de 310 pacientes con HCC, se observó que los fumadores tenían más fibrosis que los no fumadores, sugiriendo que el tabaco podría contener algún producto hepatotóxico responsable de ello ¹⁰¹.

• *Factores virales:*

No se conoce muy bien la influencia de factores virológicos en la progresión de la enfermedad. No parece estar asociado ni el genotipo ni la carga viral con el grado de fibrosis. Tan sólo el genotipo 3 es el único que podría estar relacionado debido a la asociación entre la esteatosis hepática y este genotipo concreto ¹⁰².

1.3 Coinfección VHC/VIH

La HCC resulta especialmente relevante en pacientes coinfectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), ya que ambos comparten las mismas prácticas de riesgo para su transmisión. El VHC es hasta 10 veces más infectivo que el VIH a través de la exposición de sangre por vía intravenosa ^{73, 103}, siendo el uso de drogas por vía parenteral (UDVP) el principal modo de transmisión de la infección por VHC. La transmisión sexual del VHC es menos eficiente que para el VIH, no obstante, entre los hombres infectados por el VIH que tienen sexo con hombres (VIH-MSM) y que no son UDVP, la tasa de incidencia de nuevas infecciones agudas de VHC parece verse incrementada en los últimos años, lo cual indica, que la práctica de sexo de alto riesgo, como el no uso de protección durante el sexo anal o practicar el sexo en grupo bajo la influencia de drogas, son comportamientos de alto riesgo para la transmisión del VHC en aquellos pacientes VIH-MSM que se encuentran bajo supresión virológica gracias al tratamiento antiretroviral de gran actividad (TARGA) ¹⁰⁴⁻¹⁰⁷. Este hallazgo podría explicarse por una mayor carga viral del VHC en el semen de estos pacientes, que asociado a prácticas sexuales sin protección y presencia de enfermedades de transmisión sexual, facilitarían la transmisión del virus ¹⁰⁸.

1.3.1 Epidemiología.

La tasa global de infección por el VIH es de aproximadamente 33,3 millones de personas en todo el mundo. Se estima que además existe una alta tasa global de coinfección por ambos virus, de manera que en países como EEUU y Europa, aproximadamente el 33% de los pacientes VIH se encuentran coinfectados por el VHC ^{109, 110}. La infección por el VIH exacerba la historia natural de la infección por el VHC y desde la introducción del tratamiento antiretroviral el VHC ha emergido como causa importante de morbi-mortalidad en estos pacientes, apareciendo en ellos una progresión más rápida de la hepatopatía por VHC y una progresión de la fibrosis hepática más avanzada, acortándose el plazo hasta la aparición de

descompensación hepática siendo la supervivencia tras la primera descompensación hepática secundaria a cirrosis menor que en los pacientes mono-infectados^{111-113 114}. De esta forma se explica el aumento en las tasas de ingreso hospitalario por complicaciones hepáticas, convirtiéndose en la segunda causa de muerte tras el SIDA y antes que la enfermedad cardiovascular en los pacientes infectados por el VIH¹¹⁵⁻¹¹⁸.

1.3.2 Impacto del VIH en el curso de la infección por VHC.

La infección por el VIH altera todas las fases de la historia natural del VHC. El aclaramiento viral es menos frecuente tras la infección aguda, avanzando con mayor rapidez la progresión a la cronicidad de la enfermedad y a cirrosis. La infección por VIH se ha asociado a una mayor persistencia de la viremia del VHC, niveles más elevados de dicha viremia y una reducción de la respuesta a interferón en el tratamiento de la HCC. Todos estos hallazgos parecen estar en parte relacionados con una disminución en la respuesta de los linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺ a la infección por VHC. Debido al papel que juega la respuesta inmune específica en el control del virus C y a la pérdida continua de linfocitos de memoria producida por el VIH, podría explicarse la presencia de niveles de viremia del VHC tan elevados en pacientes coinfectados¹¹⁹. Todo esto, parece explicarse por el hecho de que el VIH se asocia a una disminución de la respuesta específica mediada por interferón- γ frente al VHC, la cual está fundamentalmente basada en un descenso del número de CD4 circulantes en sangre periférica. Por otro lado, el VIH induce defectos en la respuesta inmune alterando la secreción de diferentes citocinas y/o la función de las dendríticas¹²⁰⁻¹²².

El TARGA restablece la respuesta de células T frente a péptidos del core del VHC. De este modo, una buena respuesta al tratamiento antiretroviral en pacientes coinfectados está asociado a un aumento de la respuesta inmune celular hacia la infección por VHC, además de a una reducción de la viremia y posible aclaramiento del virus¹¹⁹.

Otros factores que podrían estar involucrados en la patogenia de la enfermedad hepática en pacientes coinfectados por VIH/VHC son factores genéticos. Se ha demostrado que en

aquellos pacientes VIH/VHC controladores del virus (pacientes capaces de mantener el virus del VIH a niveles inferiores a 400 copias/ml sin necesidad de tratamiento antiretroviral), existen mayores tasas de aclaramiento espontáneo del VHC (23,3%) en comparación con los monoinfectados (9,1%) y coinfectados por VIH/VHC (6,5%) ^{123, 124} .

Con todo este arsenal de factores, es evidente que la coinfección del VIH tiene un impacto negativo en la patogénesis del VHC y a pesar de la hepatotoxicidad relacionada a fármacos, una buena respuesta al tratamiento antiretroviral y un inicio temprano del mismo, disminuirían la progresión a la enfermedad hepática terminal, mejorando la respuesta al tratamiento de la hepatitis C ¹¹⁹ .

1.4 Manejo Clínico de la Infección por VHC

1.4.1 Hitos en el tratamiento de la Hepatitis C.

En el año 1957, los científicos Jean Lindenmann y Alick Isaacs, descubrieron por primera vez la molécula de Interferón, conocida como una sustancia de naturaleza proteica con actividad antiviral y producida por las propias células infectadas ¹²⁵.

Antes del descubrimiento del virus C, en el año 1989, más del 90% de los casos de hepatitis transmitidas a través de transfusiones sanguíneas fueron identificados y denominadas como hepatitis “no A, no B” ¹²⁶. Hasta ese momento no se encontró ningún tratamiento efectivo para la enfermedad, incluso se estudió el uso de corticoesteroides y aciclovir como posibles alternativas, pero ninguna de ellas fueron efectivas ^{127, 128}.

En 1984, Jay Hoofnagle y sus colaboradores, llevaron a cabo un pequeño estudio piloto basado en el uso de interferón recombinante alfa-2b en pacientes con hepatitis “no A, no B”, en el cual, observan una caída importante en los niveles séricos de alanina amino-transferasa (ALT) durante todo el tratamiento hasta la retirada del mismo, donde estos niveles aumentaban de nuevo ¹²⁹.

En 1986 se inició un ensayo clínico randomizado al recibir dosis de 3 millones o 1 millón de unidades de interferón recombinante alfa-2b tres veces por semana durante 24 semanas ¹³⁰. La respuesta al tratamiento fue monitorizada a través de los niveles séricos de ALT. Se observó una normalización de estos niveles tras 6 meses de tratamiento en un 46% de los pacientes tratados con 3 millones de unidades de interferón y un 28% en aquellos tratados con 1 millón de unidades, alcanzándose unos niveles de ALT completamente normales en el 85% de aquellos que respondieron a las dosis de 3 millones y en el 56% de los que fueron tratados con 1 millón de unidades. Sin embargo, la mitad de los respondedores recidivaron tras la retirada del fármaco.

Tras estos hallazgos y debido la importancia de la erradicación de la infección por el VHC, durante estos últimos veinte años, la historia del tratamiento de la hepatitis C ha

experimentado diferentes etapas (**Figura 7**).

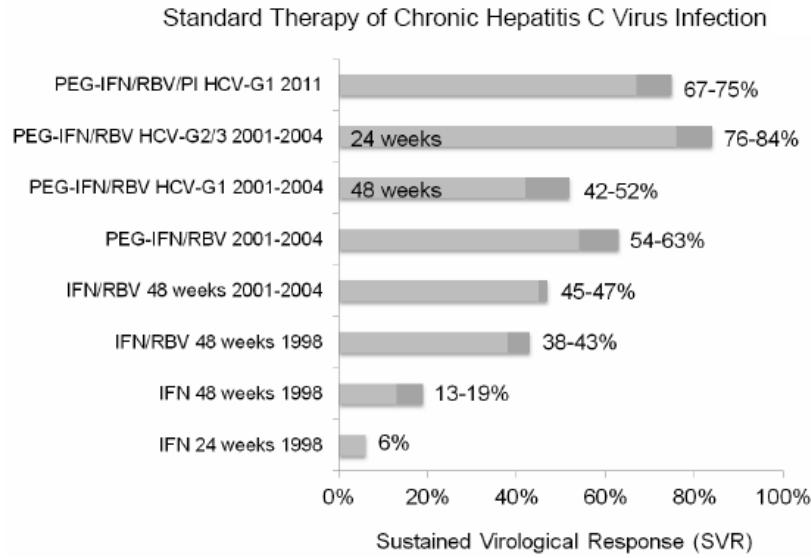


Figura 7. Evolución histórica del tratamiento de la hepatitis C. ¹³¹

1.4.1.1 Años 90

Monoterapia con IFN- α

La molécula de interferón fue descubierta en el año 1957, debiéndose su nombre a su capacidad de “interferir” en la replicación viral. Se identificaron entonces tres tipos de interferones (IFNs); α y β (IFN tipo I) y γ (IFN tipo II), existiendo a su vez 2 tipos de IFN- β (IFN- β 1a e IFN- β 1b) y diferentes formas de IFN- α (IFN- α -2a, IFN- α -2b e IFN- α -N1) ¹³². Los IFNs son proteínas naturales de la célula con múltiples efectos. Existen dos mecanismos diferentes pero complementarios a su vez, que explican el efecto antiviral del IFN- α . Por un lado, induce una respuesta antiviral no específica contra el virus en la célula infectada, ejerciendo una inhibición directa de la replicación viral y, por otro, ejerce un efecto inmunomodulador que permite una respuesta inmune específica del huésped frente el virus, induciendo la muerte celular de la célula infectada ¹³³.

Durante los años 90, la única estrategia terapéutica utilizada para tratar la HCC fue la monoterapia con interferón- α , cuyo uso fue aprobado en 1991 por la “Food and Drug

Administration” (FDA). El régimen inicial consistía en 6 meses de tratamiento con dosis de 3 millones de unidades de IFN- α tres veces a la semana, cuya monitorización estaba llevada a cabo mediante una respuesta bioquímica basada en la normalización de los niveles séricos de ALT. Mediante esta estrategia se conseguía el aclaramiento viral y normalización de los niveles de ALT en el 25-40% de los pacientes durante los primeros tres meses de tratamiento. Sin embargo, la respuesta viral sostenida tras la finalización de la monoterapia se alcanzaba en tan solo el 8-9% de estos pacientes.

Tras la aparición de los métodos de cuantificación de la carga viral del VHC, las tasas de respuesta al tratamiento fueron aún menores que las observadas mediante la respuesta bioquímica. Un aumento en la dosis de IFN- α o en la duración del tratamiento podrían mejorar la eficacia de la monoterapia, de tal forma que entre 1991 y 1997 el tratamiento estándar para la hepatitis C fue de 3 millones de unidades de interferón, 3 veces a la semana durante 48 semanas, alcanzándose una eficacia del tratamiento de aproximadamente el 9% para genotipos 1 y 30% en genotipos 2 y 3 ^{130, 134, 135}.

Biterapia IFN- α y Ribavirina

La combinación de ribavirina (Rbv) con interferón fue un gran acontecimiento en el tratamiento de la hepatitis C. La Rbv, sintetizada por primera vez en 1970, es un análogo sintético de la guanosina con una amplia actividad frente a virus de ADN y ARN, interfiriendo en la replicación del material genético viral. Hasta el momento, como se puede observar en la **figura 8**, son 4 los mecanismos de acción conocidos y que podrían explicar el efecto de la Rbv:

- a) Inducción de la inmunidad mediada por células T frente a la infección viral mediante la estimulación de la respuesta citotóxica a través del cambio de fenotipo de las células T CD4⁺ de tipo 2 a tipo 1.
- b) Inhibición competitiva de la enzima inosina monofosfato deshidrogenasa (IMP) tras la fosforilación intracelular mediada por la adenosin-kinasa de la ribavirina a ribavirina-

trifosfato.

c) Inhibición directa del VHC mediante la inhibición de la ARN polimerasa y la guanililtransferasa ARNm viral, pudiéndose incorporar en el ARN del virus.

d) Mutagénesis del ARN viral. ^{136, 137 138, 139}

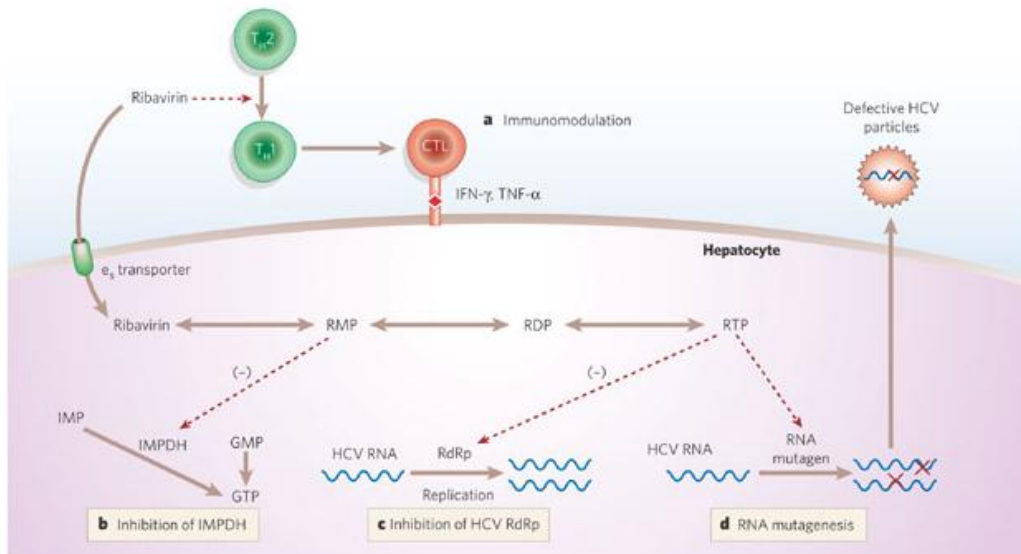


Figura 8. Mecanismos de acción de la ribavirina

En 1995, un meta-análisis demostró tasas de RVS superiores para el tratamiento combinado de IFN- α más ribavirina vs. monoterapia tanto de IFN como de Rbv (OR, IFN- α + Rbv vs. IFN = 9,8, IC₉₅ = 1,9 - 50) ¹⁴⁰. Otros dos ensayos clínicos llevados a cabo en 1998 confirmaron la gran mejora en la respuesta con esta estrategia terapéutica, donde comparaban la monoterapia de IFN- α 2b (3MU, 3 veces/semana) vs. biterapia de IFN- α 2b más Rbv (1000-1200 mg/día según peso < ó > de 75kg respectivamente) durante de 24 y 48 semanas de tratamiento seguido de 24 semanas de seguimiento tras finalizar el mismo ^{141, 142}. Además del beneficio demostrado en este estudio del uso de la biterapia durante 48 semanas, se demostraron otros puntos de gran relevancia en cuanto a la progresión de la enfermedad, así como una disminución de la inflamación hepática en aquellos pacientes con RVS. También se observó una clara relación entre la viremia basal y el genotipo del virus con la respuesta al

tratamiento, alcanzándose tasas de RVS del 29% para G-1 y del 65% para G-2 y 3 para una duración de 48 semanas de tratamiento. Asimismo, en aquellos pacientes que presentaban viremias basales superiores a 2 millones de copias/ml las tasas de RVS fueron menores, 38% vs. 45%.

En 1998, la FDA aprueba la combinación de IFN- α y Rbv para el tratamiento de pacientes con infección crónica por hepatitis C ¹³⁹.

En 1999, el “EASL International Consensus Conference on Hepatitis C” recomendó que, en aquellos pacientes con HCC no tratados previamente, el tratamiento estándar se basaría en la administración de IFN- α y Rbv durante 24 semanas, mientras que en aquellos pacientes que estuvieran infectados por el G-1 del VHC y con niveles de ARN-VHC basales superiores a 2 millones de UI/ml, la duración del tratamiento se extendería hasta 48 semanas ¹⁴³.

1.4.1.2 Año 2000.

Interferón pegilado- α (Monoterapia).

La pegilación del interferón supuso un gran avance en la historia del tratamiento de la hepatitis C. El proceso de pegilación consiste en la unión covalente de una cadena de polyetilenglicol (PEG) a una molécula o fármaco, en este caso, a la molécula de IFN (**figura 9**). Esta formulación galénica permite una mayor duración o tiempo de vida media del fármaco en el organismo, ya que disminuye el tiempo de eliminación por vía renal, aumentando así su efecto antiviral. De esta forma, las concentraciones plasmáticas del fármaco permanecen constantes durante un tiempo más prolongado que en su forma no pegilada, facilitando así una reducción en su dosificación y aumentando las posibilidades de alcanzar mayores tasas de RVS ^{131, 132}.

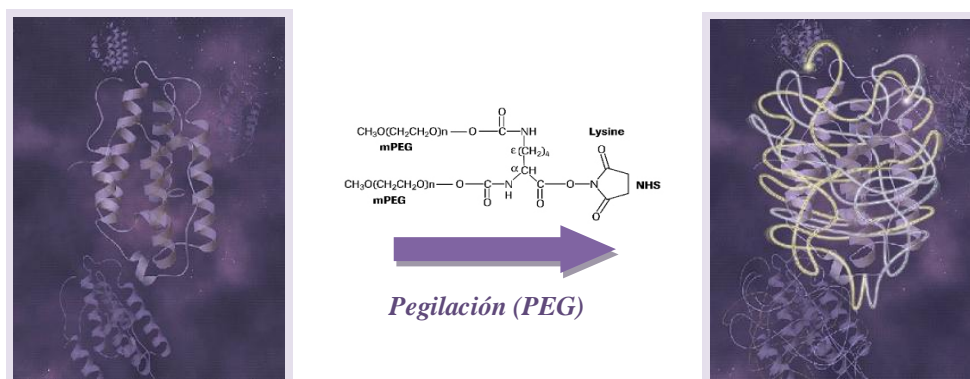


Figura 9. Mecanismo de pegilación del interferón ¹⁴⁴.

Actualmente están disponibles dos formas de pegIFN- α , las cuales varían según el tamaño de la molécula y el tipo de IFN utilizado: pegIFN- α -2a (40kD) con una vida media de 80 horas (rango: 50 - 140 hrs) y una media de aclaramiento de 22 ml/hr·kg administrando dosis fijas de 180 μ g/semanal y pegIFN- α -2b (12kD) ^{145, 146}, cuya vida media es de 40 horas (rango: 22 - 60 hrs) y una media de aclaramiento de 94 ml/hr·kg administrado en función al peso (1.5 μ g/kg/semana). Ambas formas de pegIFN- α presentan diferencias estructurales y diferentes perfiles farmacocinéticos, además parecen existir diferencias significativas en los niveles de concentraciones plasmáticas alcanzadas, aunque es probable que las concentraciones

relacionadas con una máxima eficacia sean diferentes para cada uno de ellos. A pesar de ello, ambas moléculas mejoran indudablemente las tasas de respuesta viral sostenida (RVS) en comparación con el interferón no pegilado ^{147, 148}.

Gracias a este efecto, la administración de IFN- α fue reducida de 3 veces/semana a una sola dosis de PegIFN- α /semanal.

El primer interferón pegilado aprobado por la FDA fue el IFN pegilado α -2b (Peg-Intron®), cuya forma farmacéutica es en polvo y ha de reconstituirse en una solución estéril antes de su administración, basándose su dosificación en función al peso del paciente (1,5 μ g/kg/semana). Más tarde, en 2002, aparece la forma pegilada del IFN- α -2a (PegIFN α -2a, Pegasys®), cuya presentación es en forma de solución ya preparada y a dosis fijas de 180 μ g/semana.

Varios ensayos clínicos multicéntricos, controlados y randomizados, compararon la monoterapia de IFN- α (3 veces/semana) vs. monoterapia con PegIFN- α (1 vez/semana) en pacientes *naives* al tratamiento de la hepatitis C. Las tasas de RVS alcanzadas fueron superiores en todos los casos tratados con PegIFN- α comparados con el IFN- α , siendo estas tasas del 30 - 39% con pegIFN- α -2a 180 μ g/semana vs. 8 - 19% con IFN- α -2a y del 23% con pegIFN- α -2b (1,5 μ g/kg/semana) vs. 12% con IFN- α -2b ^{147,148}.

Por otro lado, siendo la cirrosis uno de los factores de peor pronóstico de respuesta al tratamiento del VHC, se evaluó la eficacia de la monoterapia con pegIFN- α en pacientes cirróticos o con fibrosis avanzada, resultando en una mejor tolerancia del paciente y obteniéndose tasas de RVS de hasta el 30% ¹⁴⁹.

Biterapia Interferón pegilado- α y ribavirina.

Tras los excelentes resultados alcanzados con el uso del interferón pegilado en monoterapia, se llevaron a cabo ensayos clínicos de gran relevancia a día de hoy, en los cuales se evaluaron la eficacia de la terapia combinada de pegIFN- α y Rbv vs. monoterapia. En estos ensayos clínicos, la biterapia de pegIFN- α una vez por semana junto con Rbv (2 veces al día),

demonstró ser más efectiva que la monoterapia con pegIFN- α ^{150, 151}. Por otro lado, se estudió la duración y dosis óptima de Rbv en el tratamiento, demostrándose que con una mayor duración y dosis de Rbv se alcanzaban mayores tasas de RVS en aquellos pacientes infectados por el genotipo 1 del VHC independientemente del nivel basal de viremia. Sin embargo, en pacientes infectados por genotipos 2 ó 3 del VHC, no se observaron diferencias en las tasas de respuestas obtenidas en los cuatro grupos de tratamiento, demostrándose por tanto que en G-2 y 3 24 semanas de tratamiento y dosis de Rbv de 800 mg serían suficientes para alcanzar tasas de RVS de hasta el 80% ^{152, 153}.

1.4.1.3 Año 2010.

- **Desarrollo de nuevos antivirales.**

Desde el año 2010 hasta la actualidad, el desarrollo de nuevos fármacos antivirales frente al virus C ha experimentado una enorme evolución. La aparición de estos nuevos fármacos se asemeja en gran parte al inicio de la historia del tratamiento antirretroviral (TAR) para la infección del VIH en los años 90: moléculas que actúan en diferentes estadios del ciclo de replicación del virus, fármacos muy eficaces pero con problemas de tolerabilidad y dosificación, así como la aparición y desarrollo de resistencias virales ¹⁵⁴.

A parte de todos estos paralelismos con el TAR, podemos hablar de algunas distinciones, en cuanto al número de clases de fármacos en desarrollo frente al VHC en comparación con el inicio del TAR, los cuales ascienden hasta 50-60 nuevas moléculas que se encuentran actualmente en fases preclínicas, II y III, y, por otro lado, a pesar de que actualmente el tratamiento con los inhibidores de la proteasa autorizados (Telaprevir y Boceprevir) está basado en la administración de pegIFN y Rbv junto con la adición de uno de ellos, la meta es, con el desarrollo de estos nuevos antivirales, conseguir la posibilidad de desarrollar una estrategia terapéutica libre de pegIFN ¹⁵⁵.

Los diferentes grupos de fármacos actualmente en desarrollo dirigidos a las diferentes dianas del virus C se muestran en la **figura 10**

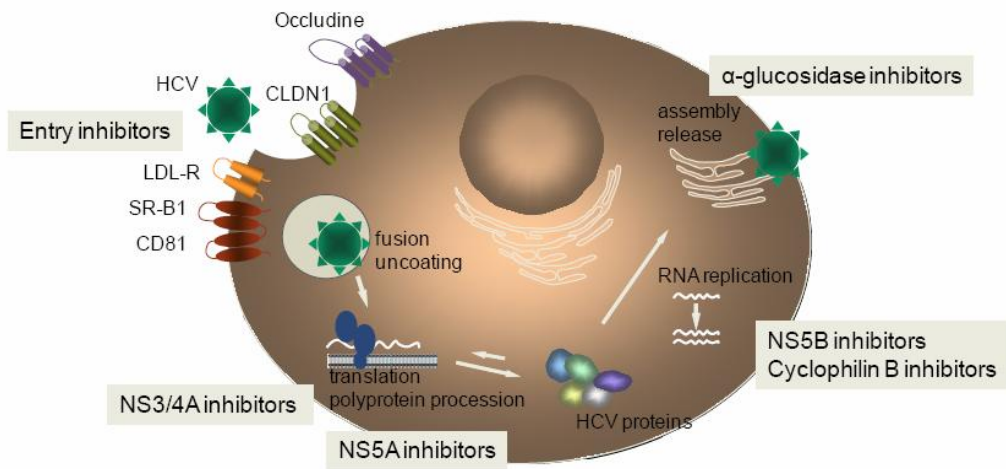


Figura 10. Grupos de fármacos antivirales de acción directa contra el VHC ¹⁵⁵

1.4.2 Factores predictores de respuesta al tratamiento.

Durante las últimas décadas, el ajuste en la duración y dosis de fármacos en base a las características de los pacientes con el fin de mejorar la respuesta al tratamiento ha ido evolucionando. La posibilidad de poder predecir la RVS antes del inicio de la terapia es de gran ayuda a la hora de tomar decisiones, ya que podría mejorar la eficacia del tratamiento. A su vez, el conocimiento de factores relacionados con el tratamiento durante el seguimiento del mismo con el fin de alcanzar una mayor eficacia es también uno de los puntos a tener en cuenta.

1.4.2.1 Predictores de respuesta previos al tratamiento.

1.4.2.1.1 Factores generales del Huésped.

Hasta ahora, los factores más importantes y relevantes conocidos relacionados con el paciente y predictores de respuesta son: el grado de fibrosis hepática, a mayor grado peor pronóstico¹⁴²; el sexo, los hombres presentan tasas de RVS más bajas que las mujeres¹⁵⁶; y, la edad, aquellos pacientes menores de 40 años alcanzan mayores tasas de RVS que los de mayor edad¹⁵². A su vez, la raza negra^{157, 158}, el sobrepeso¹⁵⁹, esteatosis hepática y/o la coinfección por VIH son otros factores a tener en cuenta a la hora de iniciar el tratamiento ya que son predictores de una mala respuesta al tratamiento con pegIFN y Rbv⁹⁴.

Factores genéticos: gen de la Interleukina 28B

Durante estos últimos años, el campo de la farmacogenómica ha ido cobrando gran importancia en la predicción del tratamiento de la hepatitis C. A finales del año 2009, varios estudios de asociación genómica (“Genomic Wide Association Studies”, GWAS), identificaron una serie de polimorfismos genéticos relacionados entre sí, localizados en el brazo largo del cromosoma 19 (entre ellos el rs12979860 localizado en la región 19q13), cercanos al gen que codifica la Interleukina-28B o IFN- λ 3, los cuales han demostrado influir significativamente en la respuesta sostenida al tratamiento con pegIFN- α y Rbv, además de explicar las diferencias en las respuestas entre los diferentes grupos étnicos. De tal forma que,

el genotipo CC de la IL28B parece ser el genotipo más favorable de respuesta, relacionándose con una mayor probabilidad de alcanzar RVS, el aclaramiento espontáneo del virus y a su vez con una cinética viral más rápida que aquellos portadores del alelo de riesgo T para el polimorfismo rs rs12979860 ^{160-163 164}.

El interferón lambda (IFN-λ) pertenece a la familia de interferón tipo III y hasta el momento se conocen tres tipos (IL29 o IFN- λ1, IL28A o IFN- λ2 e IL28B o IFN- λ3), sus genes se encuentran contiguos en el cromosoma 19 y presentan actividad frente a varios virus, incluyendo el virus C ¹⁶⁵. A pesar de utilizar un receptor diferente al IFN-α, también activan la vía JAK-STAT e inducen la expresión de genes comunes con el IFN-α. Existen evidencias in vitro que sugieren que no son únicamente una mera vía alternativa de activación de esta vía, sino que IFN-α induce la expresión de los genes que codifican IFN-λ y estos a su vez, inhiben la replicación del virus C a través de genes estimulados por IFN distintos a los del IFN-α, por lo que ambos tienen actividad sinérgica frente a este virus ¹⁶⁶⁻¹⁶⁸.

Factores virales.

Entre los factores virales se encuentran, la magnitud de la viremia basal del VHC y el genotipo viral. Característicamente los genotipos 2 y 3 responden mejor al tratamiento que los 1 y 4, no conociéndose con precisión los mecanismos virales o del huésped responsables. Se ha observado que una menor cantidad de dinucleótidos UA-UU en el ARN viral (susceptibles de detección y ruptura por parte ARNasa L activada por la 2-5OAS dependiente de IFN) de los VHC genotipos 1 en relación a los genotipos 2 y 3 podría justificar las diferencias de respuesta al tratamiento entre estos genotipos, pero no dentro de un mismo genotipo como el 1 ^{59, 60, 169-171}. Por otro lado, con la introducción de los nuevos fármacos antivirales contra el G-1 del virus C, parecen existir ciertas diferencias entre los subtipos 1b y 1a en la respuesta al tratamiento, siendo el G-1a el que presenta mayor riesgo a desarrollar resistencia a los nuevos inhibidores de proteasa, debido al menor número de mutaciones requeridas en la posición 155 de la proteasa viral para desarrollar resistencia en comparación con el G-1b ^{31 172}.

1.4.2.2 Predictores de respuesta durante el tratamiento.

Cinética de la replicación viral.

La cinética de replicación viral es estable en la etapa crónica de la infección, dado que la producción viral por las células infectadas es compensada por la destrucción periférica del virus, mientras que la células infectadas *de novo* se compensan por la muerte de las células infectadas. La vida media estimada del virión libre es de 3 horas y una tasa de producción-aclaramiento diaria de 10^{12} partículas virales por día. La administración de IFN- α induce un típico descenso bifásico de la replicación viral. La respuesta al tratamiento está caracterizada por diferentes perfiles en la cinética viral, donde existe una primera fase en las primeras 24 horas tras la administración del IFN- α , en la cual se observa una rápida disminución de la carga viral que se corresponde con la actividad antiviral directa e inespecífica del propio IFN- α . La segunda etapa de eliminación del virus, a partir del día 2, es más paulatina y se correlaciona con un aclaramiento del virus de la célula infectada, bien por muerte celular o por la erradicación de la replicación viral en la célula, mediada posiblemente por el sistema inmunológico del paciente (**Figura 11**). Esta fase, a pesar de estar menos influenciada por la dosis y genotipo del virus, es un buen marcador predictor de la RVS al tratamiento ^{49, 137, 173}.

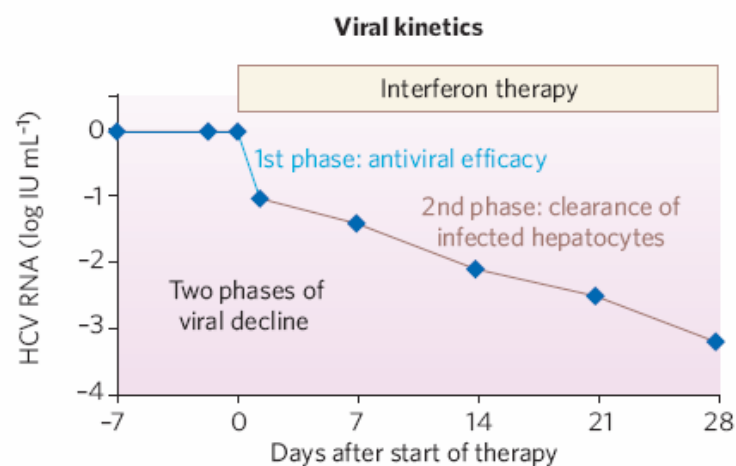


Figura 11. Fases de la cinética de la replicación del VHC durante las primeras 4 semanas de la infección ¹³⁷

Varios estudios han demostrado que el alcance de una respuesta viral rápida (RVR), esto es, ARN-VHC negativo en semana 4, es el mejor predictor de RVS a pegIFN y Rbv ^{139 137}. Aquellos pacientes que alcanzan una respuesta viral temprana (RVT), tienen una probabilidad

del 72% de lograr una RVS ¹⁷⁴. Sin embargo, el no alcanzar RVT, predice con mayor exactitud la no respuesta al tratamiento, siendo la probabilidad de RVS del 0 - 2% ¹⁷⁵. La estratificación de la RVT en completa (RVTc: ARN-VHC negativo en semana 12) o parcial (RVTp: Disminución del ARN-VHC $> 2 \log_{10}$ en semana 12), mejora aún más la predicción de la RVS, optimizándose la duración del tratamiento en aquellos pacientes que no logran una RVR. El 90% de los pacientes que alcanzan RVTc logran una RVS ^{176, 177}.

Concentraciones plasmáticas de IFN- α y Ribavirina.

Como otros muchos fármacos, las concentraciones plasmáticas de Rbv presentan una importante variabilidad interindividual, incluso ajustando los niveles en función de la dosis recibida. Algunos estudios han evaluado el impacto de diferentes dosis de ribavirina en la respuesta al tratamiento en los diferentes genotipos del VHC. Así por ejemplo, en el estudio APRICOT, donde los pacientes recibieron dosis de 800 mg/día de Rbv, un menor porcentaje de pacientes (63%) presentaron una caída viral $\geq 2 \log$ ARN-VHC en semana 12, frente a un 74,5% de pacientes en el estudio PRESCO, donde recibieron dosis de Rbv de 1000-1200 mg/día ¹⁷⁸. A su vez, otro estudio llevado a cabo en pacientes coinfectados por VIH y VHC, hallaron un modelo predictivo de respuesta en el cual las variables asociadas a una mayor tasa de respuesta viral temprana fueron el genotipo viral y la relación dosis/kg de Rbv ¹⁷⁹. En diversos estudios, presentar niveles plasmáticos elevados de Rbv se ha asociado con mejores tasas de respuesta, tanto temprana como sostenida en pacientes coinfectados por VIH y VHC ¹⁸⁰⁻¹⁸⁶. Por el contrario, otros estudios no han encontrado asociación entre los niveles plasmáticos de ribavirina y RVT ^{187,188}. Con todo este arsenal de hallazgos y resultados, la relación entre las dosis y los niveles plasmáticos de Rbv en la RVT y/o RVS, tanto en pacientes mono infectados como coinfectados, continúa siendo contradictoria ^{181,189 190 191 192}.

Por otro lado, y al igual que la Rbv en algunos estudios citados anteriormente, la eficacia de los IFN- α está asociada con la dosis administrada y el genotipo viral, tanto en los casos de IFN- α convencional como pegilado. En el caso del PegIFN- α 2b se ha observado una relación

lineal entre las distintas dosificaciones (0,5, 1 y 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$) con el porcentaje de pacientes con viremia negativa al finalizar tratamiento (RFT), el porcentaje de pacientes que alcanzan una RVS y con la frecuencia de efectos adversos. A pesar de que su farmacocinética es lineal (ver **tabla 1**), la variabilidad interindividual en las concentraciones plasmáticas es muy importante ^{180, 193-195}. Aunque en un modelo farmacodinámico basado en farmacocinética poblacional los resultados sugerían que el efecto máximo se conseguiría con dosis de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ ¹⁹⁶, la dosis recomendada en la actualidad, basada en estudios de eficacia, es de 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$ de PegIFN- α 2b junto con Rbv ¹⁵¹.

Tabla 1. Características farmacocinéticas del PegIFN- α 2b.

ref.	Tipo PegIFN- α	n	Dosis ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	C _{max} (pg/ml)	T _{max} (h)	AUC (pg·h/ml)	C _{min} (pg/ml)	t _{1/2} (h)
¹⁹³	2b	18	1,4	913 \pm 274	27 \pm 10	71892 \pm 20130	<100 - nd	37,1 \pm 11,4
¹⁹⁵	2b	6	1	906 \pm 326	16 \pm 6,9	57600 \pm 16704	<100 - nd	37,1 \pm 8,5
¹⁹⁵	2b	6	1,5	1380 \pm 814	19 \pm 13,7	86400 \pm 38880	<100 - nd	33,9 \pm 6,4

nd: no detallado

En el caso del PegIFN- α 2a, la dosis recomendada es de 180 $\mu\text{g}/\text{semana}$ junto con Rbv ¹⁹⁸, existiendo también una importante variabilidad interindividual en las concentraciones plasmáticas alcanzadas con esta dosis (C_{max} de 7,8 \pm 0,7 ng/ml y 12,3 \pm 3,6 ng/ml después de la primera semana y en estado de equilibrio, respectivamente, y C_{min} de 16 ng/ml; rango: 4 a 28 ng/ml) en la semana 48 y de 12,3 \pm 3,6 ng/ml en estado de equilibrio en diferentes estudios (ver **tabla 2**) ¹⁹⁹⁻²⁰¹.

Tabla 2. Características farmacocinéticas del PegIFN- α 2a.

ref.	Tipo PegIFN- α	n	Dosis ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Cmax (pg/ml)	Tmax (h)	AUC ($\text{pg}\cdot\text{h}/\text{ml}$)	Cmin (pg/ml)	t $\frac{1}{2}$ (h)
¹⁹⁹	2a	24	135	7,9 \pm 6,1	76 \pm 28	809 \pm 423	nd	104 \pm 65
¹⁹⁹	2a	14	270	10 \pm 5	73 \pm 28	1063 \pm 706	nd	69 \pm 49
²⁰⁰	2a	20	90	4,9 \pm 2,5	nd	nd	6,1 \pm 3,6	70 - 90
²⁰⁰	2a	20	180	15,3 \pm 3,8	nd	nd	12,3 \pm 3,6	70 - 90
²⁰²	2a	19	135	20 \pm 7,1	60 \pm 51	2739 \pm 1042	nd	nd
²⁰²	2a	20	180	25,6 \pm 8,8	45 \pm 36	3334 \pm 994	nd	nd

nd: no detallado

Ambos fármacos alcanzan el estado de equilibrio a partir de la 5^a - 8^a semana de tratamiento. A pesar de que las concentraciones plasmáticas obtenidas con las dosis recomendadas son muy diferentes con ambos PegIFN- α ^{147, 193-196, 203-209} y sólo difieren en un aminoácido en la molécula de IFN- α y en la cadena lateral de polietilenglicol, no se conoce si la eficacia y/o los efectos adversos se relacionan con las concentraciones plasmáticas individuales de estos fármacos, ni si las concentraciones plasmáticas de ambos fármacos necesarias para lograr una máxima eficacia son diferentes. Sin embargo, en ausencia de estudios comparativos de eficacia, los resultados publicados sugieren que su eficacia a las dosis recomendadas podría ser similar a pesar de estas diferencias ^{150, 151}.

Por otro lado, nuestro grupo demostró que las C_p de PegIFN- α 2a es un factor independiente asociado a la respuesta viral, tanto temprana como sostenida, y que la probabilidad de obtener una RVS en pacientes con G 1/4 es 4 veces más elevada en aquellos pacientes con mayores C_p de PegIFN- α 2a ¹⁸⁹, mientras que dicha respuesta fue independiente de las C_p en el caso de los pacientes coinfectados por genotipo 3 del VHC.

1.5 Tratamiento de la Coinfección por VIH y VHC.

1.5.1 PegIFN- α y Ribavirina.

Hasta ahora todos los datos de eficacia mencionados anteriormente han sido en relación a pacientes mono infectados por el VHC. La coinfección por VIH es un desafío para el manejo de la infección por el VHC, siendo el tratamiento de la hepatitis C prioritario en estos pacientes debido al curso y progresión desfavorable de dicha infección. De hecho, las tasas de RVS alcanzadas en este tipo de pacientes son substancialmente menores que en mono infectados, reduciéndose así hasta en un 50-60% en casos de G-2 y 3 y en un 30-35% en G-1 y 4²¹⁰. Parece ser que los efectos causados por la continua replicación del VIH, la inmunosupresión crónica provocada por los niveles del VHC y otros mecanismos aún no muy bien conocidos, son los responsables de este desequilibrio y disparidad en las tasas de respuesta al tratamiento entre los pacientes coinfectados y mono infectados²¹¹.

A partir del año 2000, se llevaron a cabo diversos ensayos clínicos randomizados y controlados en pacientes coinfectados por VIH y VHC, con el fin de optimizar y evaluar la eficacia del tratamiento basado en peginterferón y ribavirina (Tabla 3)²¹²⁻²¹⁷.

Tabla 3. Ensayos clínicos en pacientes coinfectados por VIH y VHC.

ESTUDIO	APRICOT	ACTG A5071	RIBAVIC	PRESCO	PARADIGM		
Autor	Torriani	Chung	Carrat	Núñez M	Laguno	Rodríguez-Torres	Laguno
Año	2004	2004	2004	2007	2004	2009	2009
Nº pacientes	868	133	412	389	95	410	96-86
País	Internacional	EEUU	Francia	España	España	Internacional	España
• pegIFN	α -2a	α -2a	α -2b	α -2b	α -2a	α -2a	α -2a
• Ribavirina	800	600 → 800 → 1000	800	1000→1220	800-1200	800 vs.1000-1200	vs. α -2b 800-1200
Duración (semanas)	48	48	48	48-71 (G1-4) 24-48 (G2-3)	48 y 24 en G-2 o 3 y ARN VHC < 800.000 cop/ml	48	48
Cirrosis (%)	16	11	39	27	33		
RVS (%)							
G-1	29	14	—	—	—	19-22	—
G-1 o 4	—	—	17	35	38	117	32-28
G-2 o 3	62	73	44	72,4	53	—	71-62

Las diferencias en las tasas de respuesta observadas en estos estudios podrían explicarse bien por las diferencias en las dosis de Rbv, las características basales de las distintas cohortes, el estadio de fibrosis hepática o bien, como hablaremos más adelante, por otros factores asociados con la respuesta al tratamiento. En todos ellos se evaluó tanto la dosis de Rbv como el tipo de PegIFN- α utilizado, al igual que las diferentes respuestas entre los genotipos del virus C, pudiéndose llegar así a las siguientes conclusiones:

- Los G-2 y 3 del VHC se asociaron en todos los casos con una mayor respuesta al tratamiento.
- PegIFN- α 2a (180 μ g/semana) y 2b (1,5 μ g/kg/semana) junto con Rbv dosificada en función del genotipo del VHC (1000 - 1200 mg/día para los G-1/4 y 800 mg/día para los G-2/3) es el tratamiento estándar para el tratamiento de la hepatitis C crónica en los pacientes coinfectados por VIH y VHC.
- El tiempo de duración óptimo del tratamiento sería de 48 semanas.
- Dosis de Rbv más elevadas podrían tener un mayor efecto en la eficacia del tratamiento, concretamente en pacientes coinfectados con G-1 y 4 y con viremias basales elevadas.
- Según los datos del estudio PRESCO ²¹⁴, podría prolongarse la duración del tratamiento hasta 72 semanas en algunos pacientes, concretamente aquellos infectados por G-1 y/o 4.
- Por otro lado, los G-2 y 3 del VHC tienen una sensibilidad mucho mayor al tratamiento y unas tasas de respuesta viral rápida (RVR), respuesta viral temprana (RVT) y respuesta viral sostenida mucho más elevadas que otros genotipos hasta el punto que se recomiendan unas dosis menores de Rbv y una duración de tratamiento de sólo 24 semanas, habiéndose observado que incluso sólo 14 semanas de tratamiento pueden ser suficientes en los pacientes que negativizan la viremia en la 4^a semana de tratamiento

1.5.2 Nuevos antivirales en el paciente coinfectado.

Los pacientes coinfectados por VIH y VHC han sido excluidos de los ensayos clínicos iniciales en fase II/III con los nuevos inhibidores de la proteasa, Telaprevir y Boceprevir. Sin embargo, tras los satisfactorios resultados obtenidos en estos ensayos clínicos en pacientes monoinfectados, actualmente se están llevando a cabo dos ensayos clínicos fase IIb con ambos fármacos en pacientes coinfectados G-1 del VHC.

Los resultados finales de ambos estudios no podrán ser publicados hasta finales del año 2013, aún así los datos preliminares muestran ser esperanzadores ²¹⁸ (**Figuras 12**).

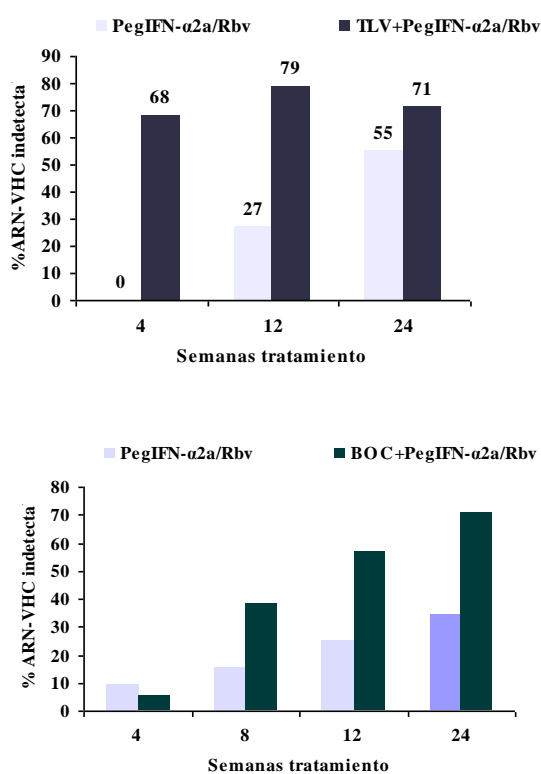


Figura 12. Resultados preliminares en los ensayos en archa con Telaprevir y Boceprevir ²¹⁸.

Serán necesarios futuros estudios y nuevos resultados para tomar decisiones a la hora del uso de los inhibidores de la proteasa en pacientes coinfectados por VIH y VHC, ya que, a diferencia de aquellos realizados en pacientes monoinfectados, habrá que tener en cuenta otros factores como las interacciones con el TAR, la progresión de la fibrosis hepática, aparición de resistencias y el coste económico.

FUNDAMENTO,

HIPÓTESIS,

Y

OBJETIVOS.

Fundamento

Las concentraciones plasmáticas, tanto de interferón pegilado-alfa (PegIFN- α) como ribavirina (Rbv), se caracterizan por presentar una amplia variabilidad interindividual tras su administración a dosis estándares ^{195, 196, 201}.

Por otro lado, puesto que la inhibición de la replicación *in vitro* del VHC con IFN- α es dosis-dependiente y que la inducción del tratamiento con dosis superiores de IFN- α o PegIFN- α se asocia a una eliminación viral más rápida ²¹⁹⁻²²², cabría pensar que la respuesta virológica estuviese relacionada con las concentraciones plasmáticas de dicho fármaco. No obstante, los pocos estudios que han evaluado el impacto de los niveles plasmáticos de PegIFN- α sobre la respuesta viral se han llevado a cabo en cohortes pequeñas y heterogéneas, en cuanto al genotipo, raza y respuesta previa a un tratamiento ^{185, 223-226}. Por otro lado, el papel de los niveles plasmáticos de Rbv tanto en las primeras semanas de tratamiento como en la RVS ha sido ampliamente estudiado tanto en pacientes mono infectados como en coinfectados por VIH, mostrándose resultados muy contradictorios. Si bien, la heterogeneidad de las cohortes analizadas y el desconocimiento de la importancia de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen de la IL28B en la RVS tras el tratamiento con PegIFN- α y Rbv podrían haber influido en estos resultados.

Hipótesis de trabajo:

Por todo ello, nos planteamos las siguientes hipótesis de trabajo:

- ♣ Independientemente del genotipo de la IL-28B, las concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y Rbv juegan un papel importante en la respuesta viral del VHC, tanto inicial como sostenida, en el tratamiento de la infección por VHC genotipos 1 ò 4 en pacientes coinfectados por el VIH.

- ♣ Puesto que la respuesta virológica al tratamiento estándar actual con pegIFN- α 2a y Rbv en pacientes con genotipo 1 y 4 del VHC está condicionada en gran medida por los polimorfismos del gen de la Interleukina 28B, las concentraciones plasmáticas de ambos fármacos podrían tener un papel diferente según el genotipo de la IL28B (CC o CT/TT).

Ojetivos.

Primario:

- 1. Evaluar el papel de las concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y Rbv en la respuesta viral inicial y sostenida en pacientes con hepatitis crónica por virus C genotipos 1 y 4 coinfectados por el VIH.**

Secundarios:

1. Evaluar la influencia de las concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y Rbv en la respuesta viral en función de los genotipos de la IL28B.
2. Analizar la cinética viral durante las 12 primeras semanas de tratamiento según el genotipo de la IL-28B y genotipo del virus C.
3. Analizar el impacto de las concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y Rbv en la cinética viral durante las 12 primeras semanas de tratamiento.



PACIENTES y **M**ETODOLOGÍA

3.1. Diseño.

Estudio observacional y prospectivo llevado a cabo en la Unidad Clínica de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla desde Junio 2004 hasta Diciembre 2010, en el que se incluyeron todos los pacientes, adultos, caucásicos, coinfectados por VIH y VHC genotipos 1 ó 4, que iniciaron tratamiento por primera vez con pegIFN- α 2a y Rbv.

3.2. Selección de pacientes. Criterios de inclusión/exclusión.

3.2.1 Criterios inclusión:

- Pacientes con hepatitis crónica o cirrosis por virus C G-1/4, coinfectados por el VIH, en los que se indicó tratamiento con interferón- α pegilado 2a (Pegasys®) y ribavirina.
- Consentimiento informado del paciente.

3.2.2 Criterios exclusión:

- No existen criterios de exclusión para la inclusión en el estudio ya que son pacientes en los que su médico responsable indicó tratamiento.
- Para el análisis de los resultados se excluyeron aquellos pacientes con:
 - Administración irregular del tratamiento (pérdida de > 2 dosis de interferón- α pegilado) no motivada por efectos adversos y/o indicación del médico responsable.
 - Imposibilidad para seguir las visitas programadas.

3.3. Tratamiento.

- Dosis estándares de pegIFN- α 2a (Pegasys®) (180 μ g/semana) y Ribavirina (Copegus®) (1000-1200 mg/día) durante 48 semanas.

3.4. Variables e Instrumentos de medida.

I. Demográficas: edad, sexo y raza.

II. Factores de riesgo: usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP), heterosexual, homosexual, hemoderivados, otros.

III. Genotipo del VHC y determinación de carga viral VHC y VIH.

El genotipo del VHC se determinó mediante un ensayo de hibridación reversa (Inno-Lipa HCV II; Bayer, Barcelona, Spain). Los niveles de ARN-VHC plasmático (carga viral de VHC) se midieron por PCR cuantitativa utilizando los kit Cobas AmpliPrep-Cobas TaqMan (Roche Diagnostic Systems Inc., Meylan, France, límite de detección de 50 UI/ml) y Cobas TaqMan (Roche Diagnostic Systems Inc., Pleasanton, CA, USA, límite de detección de 15 UI/ml en los últimos año) en los puntos de tiempo estipulados: basal y tras el inicio del tratamiento en las semanas 1, 2 y 4 y posteriormente cada mes hasta la finalización del tratamiento y tras 6 meses de haberlo completado.

La carga viral plasmática de VIH (ARN-VIH) se cuantificó con el kit Cobas AmpliPrep-Cobas TaqMan HIV-1 v.2.0 (Roche Diagnostic Systems Inc., Basel, Switzerland) en las visitas basales y cada 3 meses hasta la finalización del tratamiento.

IV. Tratamiento antirretroviral.

Las pautas de tratamiento antirretroviral y la prescripción de eritropoyetina quedaron a juicio clínico del médico responsable.

V. Evaluación de la fibrosis hepática.

El grado de fibrosis hepática se evaluó mediante biopsia hepática, utilizándose la clasificación de Scheurer²²⁷ o mediante elastografía transitoria (Fibroscan®, Echosens), considerándose unos valores ≥ 11 y $\geq 14,6$ kPa como estadios F3 y F4 de fibrosis hepática, respectivamente.

VI. Determinación del genotipo de la IL28B (rs129679860).

Para la determinación del genotipo de la IL28B se realizó la extracción de ADN genómico de sangre completa recogida en tubos con anticoagulante EDTA y en el caso de aquellos

pacientes en los cuales fue imposible la obtención de la muestra se utilizaron muestras de pellets de células almacenadas y congeladas previamente a -80° C utilizando el kit QIAmp DNA Blood Kit (Qiagen®).

El polimorfismo de la IL28B (SNP rs129679860) fue realizado utilizando un ensayo de discriminación alélica mediante una técnica de PCR en tiempo real basado en tecnología TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA). Los primers utilizados para el genotipado de dicho SNP fueron 5' GCCTGTCGTGTAACCA 3' (forward) y 5' GCGCGGAGTGCAATTCAAC 3' (reverse) y las secuencias de la sonda TaqMan utilizada fueron 5' TGGTTCGCGCCTTC 3' y 5' CTGGTTCACGCCTTC 3'. Las sondas fueron marcadas con los fluorocromos VIC y FAM, respectivamente.

La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen total de 8 μ l en las siguientes condiciones de amplificación: Desnaturalización a 95° C durante 10 minutos seguidos de 40 ciclos a 92° C durante 15 segundos y una fase de hibridación y extensión a 60° C durante 1 minuto. El genotipado de cada muestra fue analizado mediante el programa SDS 1.3 "software allelic discrimination".

VII. Concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y Ribavirina.

Se obtuvieron muestras de suero basal y en las semanas 1, 2, 4, 8 y 12, así como en las semanas 24, 36 y 48, en caso de continuación de tratamiento, coincidiendo con los controles analíticos. Las fechas y horarios de los controles analíticos fueron sincronizadas con la administración semanal de pegIFN- α 2a y tras $12 \pm 0,25$ h de haber tomado la Rbv, de forma que las dichas muestras de suero representan las concentraciones valle o concentraciones mínimas (C_{\min}) de los fármacos analizados.

Para la medición de las concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y Rbv se tomaron muestras de sangre (2 x 5 c.c. en tubos de suero) que se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos. El suero situado en la fase superior se distribuyó en criotubos, debidamente identificados por tres números (número asignado al paciente incluido y semana de tratamiento) previo a su congelación a -80° C hasta su posterior procesamiento mediante técnica de ELISA y HPLC, respectivamente.

♣ **Determinación de las concentraciones de *pegIFN- α 2a*.** Las concentraciones de *pegIFN- α 2a* se determinaron mediante enzimoimmunoensayo (ELISA) basado en anticuerpos monoclonales (Verikine™ Human INF- α ELISA kit PBL interferón source, Piscataway, NJ, USA) con una especificidad casi del 100%, sin reactividad cruzada con otras moléculas de interferón humanos, como IFN- β , IFN- γ o IFN- ω y con un rango de sensibilidad de 156-5000 pg/ml.

Para ello, se realizó una curva estándar de calibrado mediante la preparación de 6 diluciones seriadas con concentraciones de IFN- α de 5000, 2500, 1250, 625, 312 y 156 pg/ml, representando en los ejes de la recta las absorbancias vs. las concentraciones de IFN- α conocidas. A su vez se utilizó un vial de Pegasys® y se preparó otra curva estándar con diluciones seriadas del mismo en una mezcla de plasmas de individuos sanos. Las concentraciones plasmáticas de *pegIFN- α 2a* en las muestras recogidas de pacientes infectados fueron calculadas tras la extrapolación de la señal de absorbancia a dicha recta.

♣ **Concentraciones de Ribavirina.**

Las concentraciones de Ribavirina se determinaron mediante cromatografía líquida de alta resolución con detección ultravioleta (HPLC-UV), técnica adaptada y validada a partir del método descrito por *Larrat et al.*²²⁸. El ensayo demostró ser lineal y fue validado para un rango de concentraciones desde 0,2 a 30 μ g/ml de *Rbv*, con un límite de detección de 0,1 μ g/ml. La tasa de recuperación de *Rbv* de plasma humano fue del 100.1% y los valores medios de los coeficientes de variación intra e interensayos fueron de 3,2% (rango: 1,5-5%) y 4,7 (rango: 2-8%), respectivamente.

Todos los calibradores estándares, muestras de control de calidad y muestras de estudio fueron analizadas por duplicado.

VIII. Evaluación de la respuesta al tratamiento.

Se utilizaron las siguientes definiciones estándares para la evaluación de la respuesta al tratamiento:

a. Respuesta viral rápida (RVR): ARN-VHC indetectable (<50 ó <15 UI/ml, en función de la técnica de cuantificación de ARN-VHC empleada) tras 4 semanas de iniciar tratamiento.

b. Respuesta viral temprana (RVT): ARN-VHC indetectable (RVTc: respuesta viral temprana completa) o disminución $\geq 2 \log_{10}$ UI/ml con respecto a la basal tras 12 semanas de tratamiento (RVTp: respuesta viral temprana parcial).

c. Respuesta fin de tratamiento (RFT): negativización de la viremia tras finalizar el tratamiento a las 48 semanas.

d. Respuesta viral sostenida (RVS): ARN-VHC indetectable 6 meses tras haber finalizado tratamiento.

e. Recidiva: reaparición del ARN-VHC tras alcanzar una RFT.

f. Rebrote virológico: reaparición del ARN-VHC durante el tratamiento tras conseguirse la negativización de la viremia.

3.5. Análisis estadístico.

Se ha realizado estadística descriptiva para datos demográficos, datos de farmacocinética de pegIFN- α y Rbv, diferentes tipos de respuesta viral (analizada por intención de tratar y en tratamiento), tolerancia y seguridad. Dado que el estudio fue de eficacia farmacológica, para el objetivo principal, se realizó un análisis de eficacia por protocolo, considerándose los casos perdidos hasta la última visita disponible mientras continuaba en tratamiento.

Para las variables continuas se utilizó la mediana (M) y rango o rango intercuartílico (RIQ), mientras que las variables categóricas fueron expresadas como número de casos (n) y porcentajes (%). El punto de corte de 800.000 UI/ml fue utilizado para dicotomizar la variable basal de la viremia del VHC como niveles altos y bajos, tal y como se refleja en estudios previos.

La variabilidad intra-individual de los niveles plasmáticos de ambos fármacos fue estudiada mediante el coeficiente de variación (CV) de todos los valores recogidos y disponibles de cada paciente durante todo el periodo de seguimiento del tratamiento. La variabilidad inter-individual fue calculada utilizando el CV de las medias geométricas (MG) de los valores de los niveles disponibles de cada paciente.

Las variables continuas fueron comparadas empleando bien el test t de Student o el test U de Mann-Whitney, según cada caso. Las variables categóricas se analizaron utilizando el test de Chi cuadrado (χ^2).

Se realizaron análisis de curvas ROC (“receiver operating characteristic”) con las MG de los niveles tanto de pegIFN- α 2a como Rbv en semana 12 (RVT), al finalizar el tratamiento (RFT), 6 meses tras finalizar el tratamiento (RVS) y en las recidivas, con el fin de conseguir el mejor punto de corte capaz de discriminar entre pacientes respondedores y no respondedores en los diferentes puntos de respuesta al tratamiento. A su vez, las concentraciones plasmáticas de ambos fármacos, así como las dosis de Rbv administradas diariamente (dosis/kg/día), fueron dicotomizadas como valores superiores e inferiores a sus medianas. La relación entre los niveles de Rbv con las dosis, el peso, el índice de masa corporal (IMC) y aclaramiento de creatinina, fueron analizados mediante regresión lineal.

La relación entre los niveles plasmáticos y dosis con las respuestas virológicas fue

analizada utilizando los valores de las MG de pegIFN- α 2a y Rbv desde las semanas 1 hasta la 4 para la RVR, las semanas 1 hasta la 12 para las RVT, RVTc y RVTp y desde las semanas 1 hasta la 48 para la RFT, RVS y recidivas.

Las variables estadísticamente asociadas a la respuesta viral en el análisis univariado ($p < 0,2$), junto con aquellas de especial relevancia clínica, se incluyeron en un análisis de regresión logística múltiple, con el fin de identificar el poder predictivo de cada una de ellas para las diferentes respuestas al tratamiento (RVR, RVT, RVTc, RVTp, RFT y RVS, y recidivas), tanto en la cohorte completa como en los diferentes grupos en función al genotipo de la IL28B (grupo CC y grupo CT/TT). Para los niveles y dosis de Rbv se construyó un modelo separado.

Se calcularon las *Odds ratio* ajustadas (AOR) y sus respectivos intervalos de confianza al 95% (IC₉₅). Todos aquellos valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. A su vez, para la validación de los modelos multivariantes se realizó la prueba de Hosmer-Lemeshow, así como un análisis de curvas ROC, obteniéndose los valores de sensibilidad y especificidad de los mismos y asumiendo la discriminación de los modelos como aceptable con $AUC > 0,7$.

Todos los cálculos estadísticos fueron realizados con el programa estadístico SPSS, versión 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).

3.6 Aspectos éticos

Evaluación beneficio-riesgo para los sujetos de la investigación. No existió riesgo para los sujetos incluidos en el estudio, ya que sólo se tomarán muestras de sangre coincidiendo con los controles analíticos habituales en el tratamiento de esta enfermedad.

La evaluación de los distintos factores que influyen en la respuesta del virus C a los tratamientos actuales podría permitir la identificación de aquellos pacientes con elevadas probabilidades de respuesta viral sostenida y aquellos con un riesgo elevado de fracaso terapéutico en los que, dada la frecuencia de efectos adversos del tratamiento actual y su elevado coste, cabrían plantearse otras estrategias terapéuticas. Los resultados obtenidos de

este estudio pueden ayudar a conocer si las concentraciones plasmáticas de interferón- α y/o ribavirina se relacionan o no con la eficacia del tratamiento. En caso afirmativo, los resultados serían aplicables para mejorar la tasa de repuestas virales sostenidas en pacientes con hepatitis crónica o cirrosis por virus C G-1 ó 4 coinfectados por el VIH.

El estudio se realizó de acuerdo a los Principios de Buena Práctica Clínica y a la Declaración de Helsinki.



RESULTADOS

4.1. Características generales de la cohorte.

Desde Junio 2004 hasta Junio 2011 se incluyeron consecutivamente un total de 178 pacientes infectados por VIH y coinfectados por VHC (135 G-1 y 43 G-4). Cuatro de ellos (G-1) fueron excluidos del análisis por suspender el tratamiento antes de la semana 4. Todos los pacientes eran mayores de 18 años, sin tratamiento previo de la hepatitis C y presentaban un buen control inmunoviroológico de la infección por VIH. Las características basales de la cohorte completa y en función del genotipo del VHC (G-1 vs. G-4) y de la IL28B (CC vs. no-CC) se muestran en la **tabla 4**.

4.1.1 Características basales de toda la cohorte.

Las características basales más relevantes en toda la cohorte (**Tabla 4**) fueron una viremia basal elevada (>800,000 UI/ml) en más del 60% de los pacientes y un estadio de fibrosis hepática F4 en más del 40% de los pacientes, ambos factores asociados a un peor pronóstico de respuesta al tratamiento.

Los pacientes fueron agrupados y analizados en función del genotipo del VHC. La única variable que basalmente fue diferente entre ambos grupos fue el porcentaje de pacientes con viremias VHC elevadas (72,5% G-1 vs. 30,2% G-4, $p < 0,001$, **Figura 12**). Por ello, dada la relevancia clínica de dicha variable en la predicción de la respuesta al tratamiento con pegIFN- α 2a y Rbv, decidimos analizar ambos genotipos del virus como grupos independientes y a su vez, en función a las variantes genéticas del polimorfismo del gen de la IL28B.

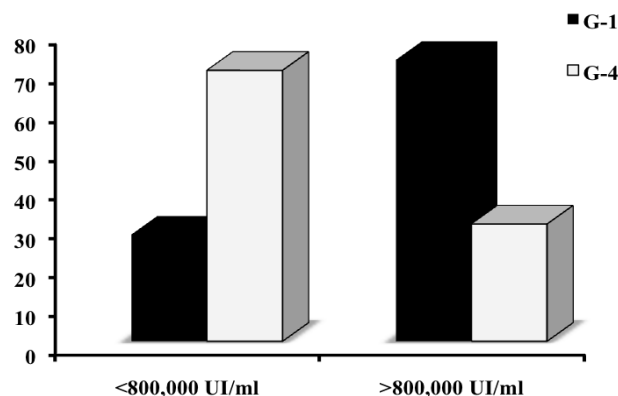


Figura 12. Viremia basal de ARN-HCV en los diferentes genotipos virales.

4.1.2 Características basales del genotipo 1 del VHC según de IL28B.

Se analizaron un total de 131 pacientes con G-1 cuyas características basales, globalmente y en función del genotipo de la IL-28, se describen en la **tabla 5**. Cuando estos pacientes se analizaron en función del genotipo de la IL-28, tan solo encontramos diferencia entre los diferentes genotipos de la IL28B en los niveles basales de LDL-colesterol (> 90 mg/dl), los cuales fueron superiores en los pacientes con genotipo CC vs. aquellos con genotipo CT/TT (58,1% vs. 32,4%, $p= 0,007$). En cuanto al resto de variables basales, no se observaron diferencias entre ambos genotipos.

4.1.3 Características basales del genotipo 4 del VHC según IL28B.

En el caso de los pacientes coinfectados por genotipo 4 del VHC (**tabla 6**), a pesar del escaso número de pacientes en nuestra cohorte, la única variable notablemente diferente entre los diferentes genotipos de la IL28B fue la viremia basal, de tal forma que en el 100% de los pacientes portadores del genotipo CC, los niveles de ARN-VHC eran inferiores a 800.000 UI/ml mientras que el 46,2% de los pacientes con genotipo CT/TT presentaban valores superiores a 800.000 UI/ml, siendo las medias de $5,2 \log_{10}$ UI/ml en los pacientes con genotipo CC vs. $5,9 \log_{10}$ UI/ml en aquellos con genotipo CT/TT ($p= 0,003$). En cuanto al resto de las características basales, no hubo ninguna otra que diferenciase a los pacientes con G-4 en función del polimorfismo de la IL28B.

Tabla 4. Características generales de toda la cohorte y en los diferentes genotipos del VHC.

	Todos (n = 174)	G-1 (n = 131)	G-4 (n = 43)	<i>P</i>
Hombres, n (%)	147 (84,5)	111 (84,7)	36 (83,7)	0,874
Edad (años), M (rango)	41 (24-58)	41 (24-58)	43 (32-53)	0,330
Peso (kg), M (rango)	68,3 (46,5-109,3)	68,5 (46,5-109,3)	68,2 (50-98)	0,939
IMC (kg/m²), M (rango)	23,2 (16,9-37,2)	23,2 (16,9- 37,2)	23,2 (18, - 31,2)	0,641
Factor de riesgo, n (%)				
•UDVP	145 (83,3)	105 (80,2)	40 (93)	0,049
•Otros	29 (16,7)	26 (19,8)	3 (7)	
Estadio CDC-C previo, n, (%)	46 (26,4)	34 (26)	12 (27,9)	0,801
Recuento linfocitos				
•CD4/μl, M (rango)	556 (97-1621)	553 (97-1621)	602 (106-1389)	0,474
•CD4 <200/μl, n, (%)	13 (7,5)	9 (6,9)	4 (9,3)	0,599
•Nadir CD4/μl, M (rango)	129(1-673)	161 (1-673)	147 (4-580)	0,693
ARN-VIH log₁₀ copias/ml, M (rango)	1,3 (1,3-5,3)	1,3 (1,3-5,4)	1,3 (1,3-3,2)	0,377
•> 50 copias/ml, n (%)	32 (18,4)	27 (20,6)	5 (11,6)	0,187
Tratamiento antiretroviral, n, (%)	159 (91,4)	118 (90,1)	41 (95,3)	
•2 NRTIs + 1 IP	83 (52,2)	60 (50,8)	23 (56,1)	0,681
•2 NRTIs + 1 NNRTI	55 (34,6)	43 (36,4)	12 (29,3)	
•Otros	21 (13,2)	15 (12,7)	6 (14,6)	
Genotipo VHC, n, (%)				
•1a	63 (36,2)			
•1b	60 (34,5)			
•1a/b	8 (4,6)			
•4	43 (24,7)			
ARN-VHC log₁₀ UI/ml, M (rango)	6 (3,6-8,1)	6,3 (3,9-8,1)	5,7 (3,6-7,3)	<0,001
•> 800000 UI/ml, n (%)	108 (62,1)	95 (72,5)	13 (30,2)	<0,001
Niveles ALT elevados, n (%)	134 (77)	100 (76,3)	34 (79,1)	0,712
Niveles LDL mg/dl, M (rango)	73 (0-184)	88 (8-184)	82 (13-171)	0,424
Niveles LDL > 90 mg/dl, n, (%)	75 (43,1)	58 (44,3)	17 (39,5)	0,586
Estadio fibrosis hepática, n, (%)				
•F ≤ 2	73 (42)	56 (42,7)	17 (39,5)	0,711
•F 3	31 (17,8)	24 (18,3)	7 (16,3)	
•F 4	70 (40,2)	51 (38,9)	26 (60,5)	
IL-28B (rs129679860 SNP), n, (%)	151 (86,8)	114 (87)	37 (86)	
•CC	54 (35,8)	43 (37,7)	11 (29,7)	0,336
•CT	75 (49,7)	57 (50)	18 (48,6)	
•TT	22 (14,6)	14 (12,3)	8 (21,6)	

M: mediana; *n*: número de pacientes; *IMC*: índice masa corporal, *UDVP*: usuario de drogas por vía parenteral; *NRTIs*, inhibidor de la Retrotranscriptasa análogo de nucleósido; *NNRTI*: inhibidor de la Retrotranscriptasa no análogo de nucleósido; *IP*: inhibidor de proteasa; *ALT*: alanina aminotransferasa; *LDL-C*: colesterol de baja densidad; *F*: estadio de fibrosis hepática; *SNP*: "single nucleotide polymorphism" (polimorfismo de un solo nucleótido).

Tabla 5. Características generales en Genotipos 1 y según el genotipo de la IL28B.

	Genotipos 1 (n= 131)	IL28B CC (n = 43/114)	IL28B CT/TT (n = 77/114)	<i>P</i>
Hombres, n (%)	111 (84.7)	39 (90.7)	59 (83.1)	0.258
Edad (años), M (rango)	41 (37-45)	41 (38-46)	41 (38-45)	0.824
Peso (kg), M (rango)	68.5 (60.2-80)	66 (50-104)	69 (59.5-80)	0.811
IMC (kg/m ²), M (rango)	22.8 (21-26.5)	22.8 (20.8-25.8)	23.9 (21.1-27.1)	0.444
Factor de riesgo, n (%)				
•UDVP	105 (80.2)	37 (86.0)	55 (77.5)	0.305
•Otros	26 (19.8)	6 (14.6)	16 (22.5)	
Estadio CDC-C previo, n, (%)	34 (26.0)	8 (18.6)	21 (31.8)	0.192
Recuento linfocitos				
• CD4/μl, M (rango)	553 (357 - 723)	531 (357-690)	567 (369.6-723)	0.457
•CD4 <200/μl, n, (%)	9 (6.9)	4 (9.3)	4 (5.6)	0.364
•Nadir CD4/μl, M (rango)	161 (55-259)	156 (51-214)	184 (59-274)	0.245
ARN-VIH log ₁₀ copias/mL, M (rango)	1.3 (<1.3-1.6)	1.3 (1.3-1.3)	1.3 (1.3-1.7)	0.377
•> 50 copias/ml, n (%)	27 (20.6)	5 (11.6)	14 (19.7)	0.261
Tratamiento antirretroviral, n, (%)				
•2 NRTIs + 1 IP	118 (90.1)	43 (100)	65 (91.5)	0.296
•2 NRTIs + 1 NNRTI	60 (50.8)	22 (51.2)	32 (49.2)	
•2 NRTIs + 1 NNRTI	43 (36.8)	19 (44.2)	21 (32.3)	
•Otros	15 (12.7)	2 (2.3)	11 (18.5)	
Genotipo VHC, n, (%)				
•1a	63 (48.1)	19 (44.2)	33 (46.5)	0.775
•1b	60 (45.8)	21 (48.8)	34 (47.9)	
•1a/b	8 (6.1)	3 (7.0)	4 (5.6)	
ARN-VHC log ₁₀ UI/ml, M (rango)	6.3 (5.8-6.8)	6.3 (5.3-6.9)	6.2 (5.9-6.8)	0.659
•> 800000 UI/ml, n (%)	95 (72.5)	26 (60.5)	54 (76.1)	0.078
Niveles ALT elevados, n (%)	100 (76.3)	34 (82.9)	52 (73.2)	0.321
Niveles LDL mg/dl, M (rango)	88 (64-105)	94 (69-116)	84 (64-97)	0.076
Niveles LDL > 90 mg/dl, n, (%)	58 (44.3)	25 (58.1)	23 (32.4)	0.007
Estadio fibrosis hepática, n, (%)				
•F ≤ 2	56 (42.7)	18 (41.9)	33 (46.5)	0.875
•F 3	24 (18.3)	6 (14.0)	12 (16.9)	
•F 4	51 (38.9)	19 (44.2)	26 (36.6)	
IL-28B (rs129679860 SNP), n, (%)				
•CC	114 (87.0)	43 (37.7)		
•CT	43 (37.7)	43 (37.7)	57 (80.3)	
•CT	57 (50.0)		14 (19.7)	
•TT	14 (12.3)			

M: mediana; *n*: número de pacientes; *IMC*: índice masa corporal, *UDVP*: usuario de drogas por vía parenteral; *NRTIs*, inhibidor de la Retrotranscriptasa análogo de nucleósido; *NNRTI*: inhibidor de la Retrotranscriptasa no análogo de nucleósido; *IP*: inhibidor de proteasa; *ALT*: alanina aminotransferasa; *LDL-C*: colesterol de baja densidad; *F*: estadio de fibrosis hepática; *SNP*: "single nucleotide polymorphism" (polimorfismo de un solo nucleótido).

Tabla 6. Características generales en Genotipos 4 y según el genotipo de la IL28B.

	Genotipos 4 (n = 43)	IL28B CC (n=11/37)	IL28B CT/TT (26/37)	<i>p</i>
Hombres, n (%)	36 (83.7)	8 (72.7)	22 (84.6)	0.403
Edad (años), M (rango)	43 (32-53)	42 (32-46)	43 (33-51)	0.378
Peso (kg), M (rango)	68.5 (50-98)	65.4 (50.6-87)	68.6 (50-98)	0.192
IMC (kg/m²), M (rango)	23.2 (18.0 - 31.2)	22.4 (19.8-31.2)	23.3 (18-30.8)	0.494
Factor de riesgo, n (%)				
•UDVP	39 (90.7)	10 (90.9)	24 (92.3)	1
•Otros	4 (9.3)	1 (0.1)	2 (0.8)	
Estadío CDC-C previo, n, (%)	12 (27.9)	2 (18.2)	7 (24.1)	0.189
Recuento linfocitos				
• CD4/μl, M (rango)	602 (106-1389)	735 (106-1389)	609.1 (177-1291)	0.458
•CD4 <200/μl, n, (%)	4 (9.3)	1 (9.1)	1 (3.8)	0.290
•Nadir CD4/μl, M (rango)	162 (4-580)	205 (28-413)	138 (4-462)	
ARN-VIH log₁₀ copias/mL, M (rango)	<1.3 (<1.3-3.16)	<1.3 (<1.3-1.6)	<1.3 (<1.3-2.7)	0.151
•>50 copias/ml, n, (%)	6 (13.9)	0 (0)	4 (15.4)	0.296
Tratamiento antirretroviral, n, (%)	41 (94.7)	11 (100)	25 (96.2)	
•2 NRTIs + 1 IP	23 (53.5)	6 (54.5)	14 (56)	
•2 NRTIs + 1 NNRTI	12 (27.9)	2 (18.2)	8 (32)	0,189
•Otros	5 (11.6)	3 (27.3)	3 (12)	
ARN-VHC log₁₀ UI/ml, M (rango)	5.69 (3.6-7.3)	5.2 (3.6-5.9)	5.9 (4.3-7.3)	0.003
•> 800000 UI/ml, n (%)	13 (30.2)	0 (0)	12 (46.2)	0.007
Niveles ALT elevados, n (%)	34 (79.1)	9 (81.8)	21 (80.8)	1
Niveles LDL mg/dl, M (rango)	82 (13-171)			0.367
Niveles LDL > 90 mg/dl, n, (%)	17 (39.5)	6 (54.5)	8 (30.8)	0.268
Estadío fibrosis hepática, n, (%)				
•F ≤ 2	43 (100)	5 (45.5)	11 (42.3)	1
•F 3	17 (39.5)	6 (54.5)	15 (57.5)	
•F 4	26 (60.5)			
IL-28B (rs129679860 SNP), n, (%)	37 (86.4)			
•CC	11 (29.7)			
•CT	18 (48.6)	-	-	-
•TT	8 (21.6)			

M: mediana; n: número de pacientes; IMC: índice masa corporal, UDVP: usuario de drogas por vía parenteral; NRTIs, inhibidor de la Retrotranscriptasa análogo de nucleósido; NNRTI: inhibidor de la Retrotranscriptasa no análogo de nucleósido; IP: inhibidor de proteasa; ALT: alanina aminotransferasa; LDL-C: colesterol de baja densidad; F: estadio de fibrosis hepática; SNP: "single nucleotide polymorphism" (polimorfismo de un solo nucleótido).

4.2.- Seguridad y eficacia del tratamiento.

4.2.1 Efectos adversos durante el tratamiento al tratamiento.

De los 174 pacientes inicialmente incluidos, 26 pacientes no llegaron a completar el tratamiento, 15 por efectos adversos y 11 lo abandonaron por otros motivos (pérdida de seguimiento, decisión del paciente y/o arresto o encarcelamiento). Entre los efectos adversos más severos que obligaron a suspender el tratamiento se observaron: tuberculosis diseminada (n= 1), descompensación hepática (n= 2), fallo renal (n= 1), neumonía (n= 1) e intento de suicidio (n= 1). Otros efectos adversos que no obligaron a la suspensión del tratamiento fueron los habituales del tratamiento con pegIFN y Rbv, esto es, plaquetopenia, anemia, neutropenia, astenia, flulike, dolor de cabeza, depresión, irritabilidad y nerviosismo.

4.2.2 Administración de eritropoyetina.

El uso de eritropoyetina fue requerido en un total de 31 pacientes (17,8%) durante el curso del tratamiento.

4.2.3 Adherencia al tratamiento

La adherencia global del tratamiento se valoró tras la entrevista con el paciente en cada visita del tratamiento, la cual fue del 90% en toda la cohorte, hasta la discontinuación del tratamiento.

4.2.4 Eficacia del tratamiento con pegIFN- α 2a y ribavirina.

En el análisis por intención de tratar (ITT) y en tratamiento (OT), la eficacia del tratamiento, valorada como RVS, en la cohorte global fue del 33,7% y 36,47% respectivamente. La evolución de las respuestas durante el seguimiento del tratamiento en todos los pacientes que iniciaron pegIFN- α 2a y ribavirina se muestra en el diagrama de flujo representado en la **figura 13**.

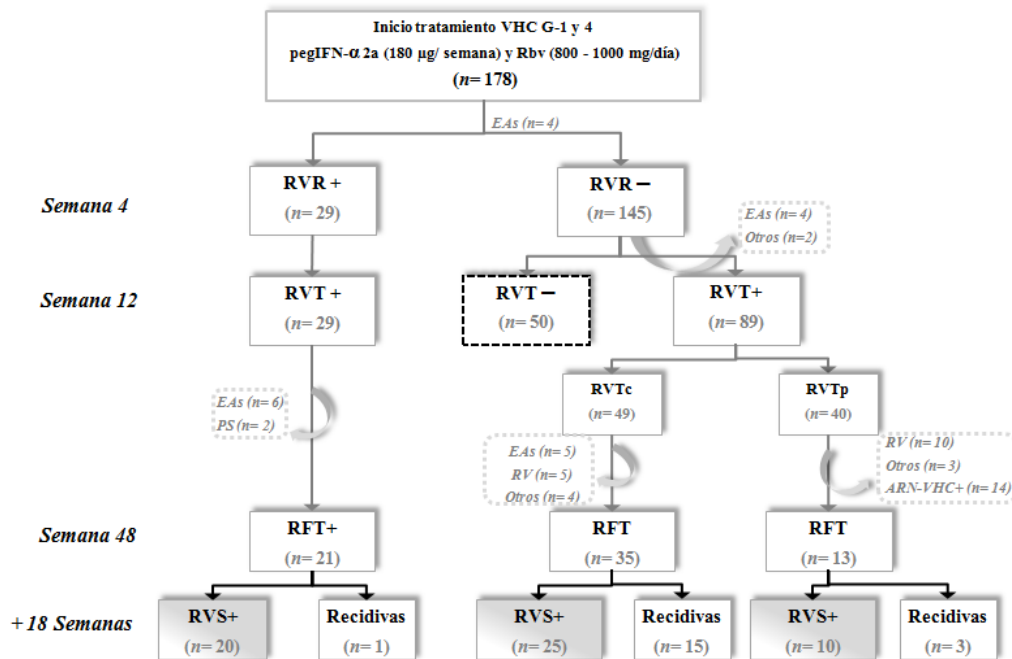


Figura 13. Evolución de los pacientes en los diferentes tiempos de respuesta.

Notas: EAs: Efectos adversos; PS: pérdida de seguimiento; RV: rebrote virológico del VHC.

En nuestra cohorte observamos una clara y significativa diferencia en las tasas de respuesta al tratamiento en aquellos pacientes portadores del alelo C con respecto a los portadores del alelo T, con mayores tasas de respuesta a lo largo de todos los puntos del tratamiento en el grupo de pacientes con genotipo CC de la IL28B ($p < 0,001$), excepto en las recidivas (**Figura 14A**).

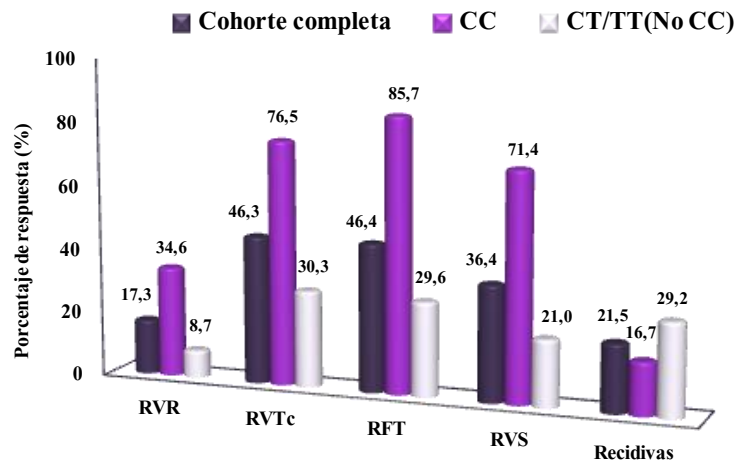
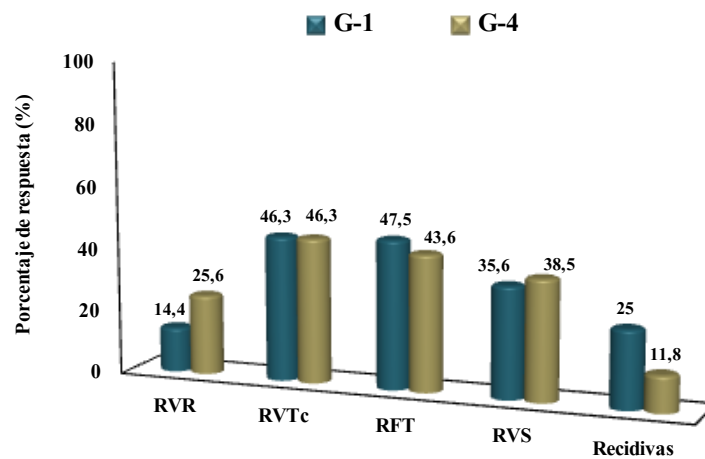


Figura 14A. Tasas de respuesta en la cohorte general según el genotipo de la IL28B.

En relación a los genotipos virales, a pesar de presentar tasas de respuesta similares (**Figura 14B**), éstos fueron analizados independientemente con el fin de estudiar el efecto de la IL28B en cada uno de ellos (**Figura 15**).

Figura 14B. Tasas de respuesta en los diferentes genotipos del VHC.



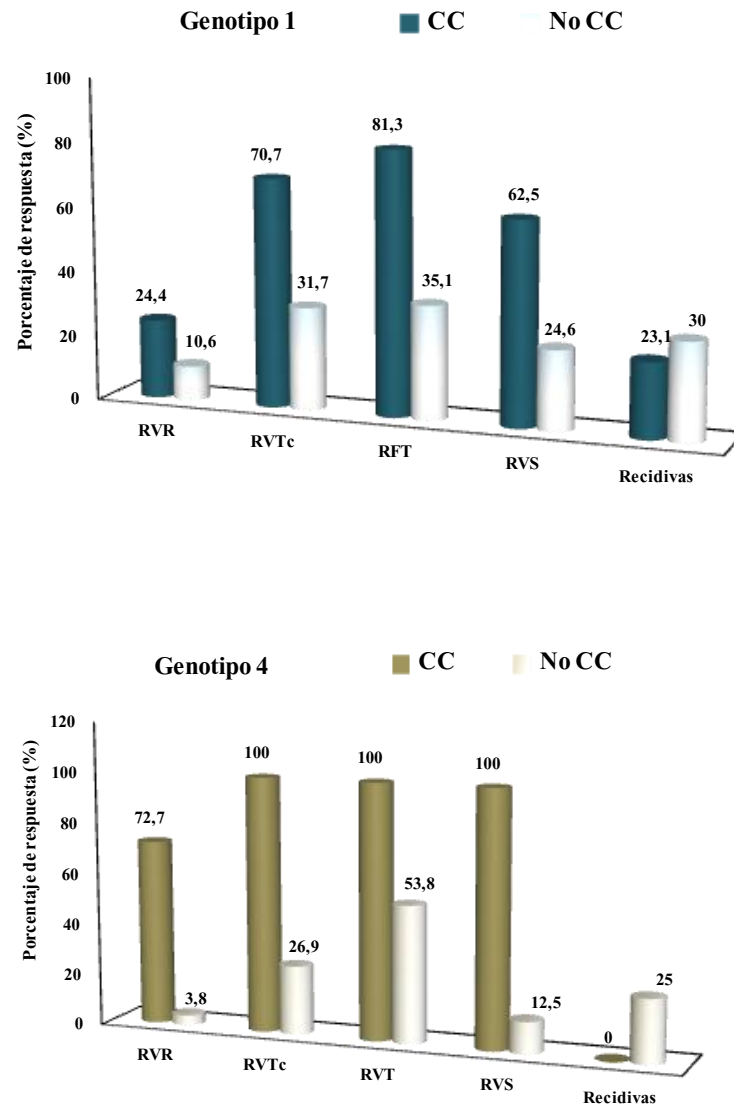


Figura 15. Tasas de respuesta en cada genotipo viral según genotipo de la IL28B.

Encontramos una fuerte influencia del polimorfismo de la IL28B en los pacientes coinfectados por el G-4 del VHC, superior a la alcanzada en aquellos con G-1, siendo las tasas de RVTc, RFT y RVS del 100% en los pacientes con genotipo CC y G-4 del VHC.

A su vez, estudiamos la respuesta viral en los diferentes subtipos del G-1 (1a y 1b) por separado, evaluando a su vez en cada subtipo, la influencia del gen de la IL28b en la respuesta (Figuras 16 y 17).

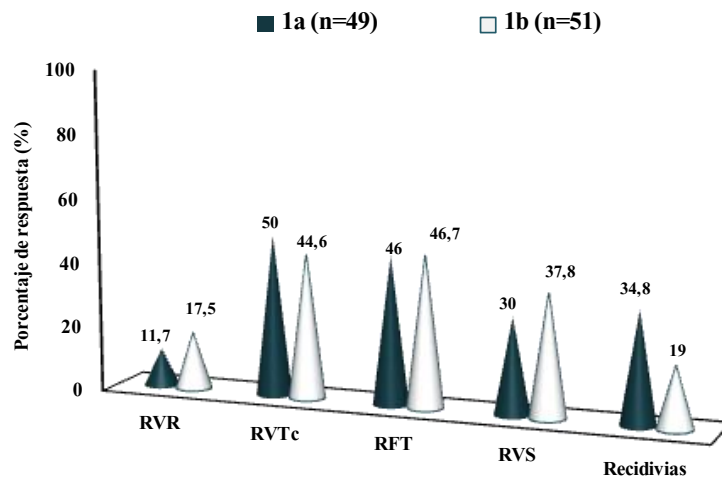


Figura 16. Respuesta al tratamiento en diferentes subtipos del G-1.

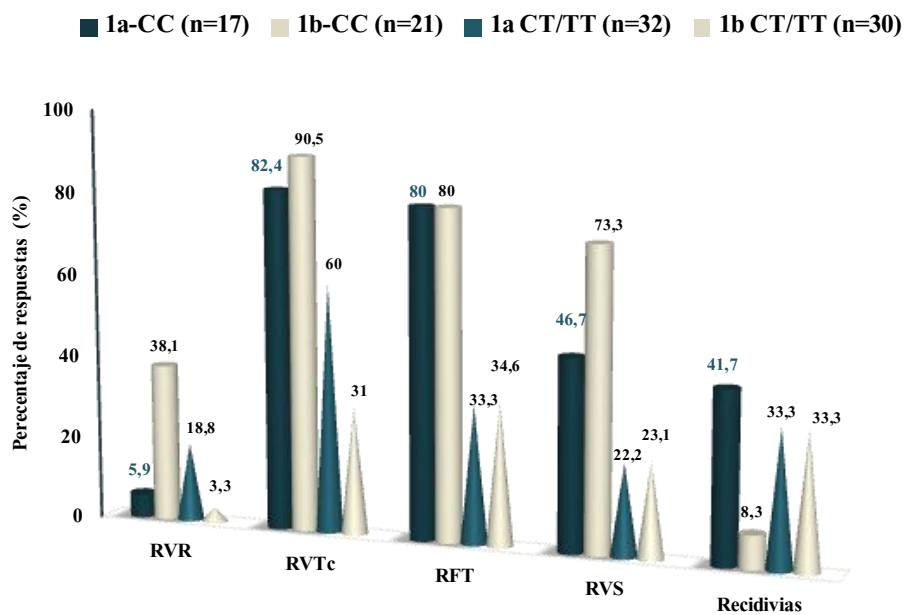


Figura 17. Respuesta al tratamiento en diferentes subtipos del G-1 en función al genotipo de la IL28B.

Como se puede apreciar en las gráficas anteriores, en conjunto no se observaron diferencias entre ambos subtipos (1a vs. 1b) del G-1 del VHC en ningún tiempo o punto de respuesta (Figura 16). A pesar de ello, y debido a la relevancia que actualmente podría tener el comportamiento viral de ambos subtipos con los nuevos inhibidores de la proteasa del virus C, estudiamos en cada uno de ellos las respuestas al tratamiento en base al genotipo de la IL28B. (Figura 17). En los

pacientes portadores del genotipo CC de la IL28B observamos claras diferencias en las frecuencias de RVR entre ambos subtipos del VHC (1a: 5,3% vs. 1b: 38,1%; $p= 0,002$). Del mismo modo, analizando cada subtipo por separado, observamos como la influencia de dicho polimorfismo fue mayor en el subtipo 1b que en el 1a (**Figura 17**). Los pacientes infectados por el subtipo 1b y portadores de un genotipo CC presentaron tasas de RVR, RVTc, RFT y RVS significativamente superiores a los 1b CT/TT ($p < 0,003$), observándose que las diferencias en el subtipo 1a fueron mucho menores (**tabla 7**).

Tabla 7. Tasas de respuesta en los diferentes subtipos del G-I VHC según el genotipo de la IL28B.

	RVR	RVTc	RFT	RVS	Recidivas
1a-CC (n=19)	5,3	68,4	82,4	52,9	35,7
1b-CC (n=21)	38,1	71,4	80	73,3	8,3
<i>Valor p</i>	0,013	<i>0,836</i>	<i>0,865</i>	<i>0,234</i>	<i>0,117</i>
1a non-CC (n=33)	18,2	38,7	35,7	25	30
1b non-CC (n=34)	2,9	30,3	33,3	23,3	33
<i>Valor p</i>	0,048	<i>0,479</i>	<i>0,849</i>	<i>0,882</i>	<i>0,630</i>
1a-CC (n=19)	5,9	68,4	82,4	52,9	35,7
1a non-CC (n=33)	18,2	38,7	35,7	25	30
<i>Valor p</i>	<i>0,189</i>	0,041	0,002	<i>0,058</i>	<i>0,561</i>
1b non-CC (n=34)	2,9	30,3	23,3	33,3	33,3
1b-CC (n=21)	38,1	71,4	73,3	80	8,3
<i>Valor p</i>	0,001	0,003	0,001	0,003	<i>0,189</i>

4.3.- Farmacocinética y pegIFN-α 2a y Rbv.

Durante el seguimiento de la cohorte se realizaron un total de 913 y 885 determinaciones de Rbv y pegIFN-α 2a respectivamente, con una media de 5 determinaciones por paciente (rango, 1 - 9 para pegIFN-α 2a y 1 - 10 para Rbv).

La dosis media administrada de Rbv fue de 15,7 mg/kg (RIQ, 14 - 17,8 mg/kg). Se redujo la dosis de pegIFN-α 2a en 12 pacientes entre las semanas 5 y 37 de tratamiento (M: semana 18), mientras que la reducción de dosis de Rbv fue requerida por 31 pacientes entre las semanas 4 y 36 (M: semana 8). Todas estas modificaciones de dosis fueron llevadas a cabo una vez alcanzada la indetectabilidad del ARN-VHC en plasma.

Como se puede apreciar en la **tabla 8**, las concentraciones plasmáticas (C_p) de ambos fármacos fueron significativamente inferiores durante las dos primeras semanas, alcanzándose el estado de equilibrio a partir de la cuarta semana, no existiendo diferencias entre los niveles en la semana 4 de tratamiento y las medias geométricas de las concentraciones hasta el final de tratamiento en aquellos pacientes sin reducción de dosis. En estos mismos pacientes, la mediana de la variabilidad intraindividual fue del 17,8% (RIQ, 0,4 - 26,8%) para pegIFN-α 2a y del 30,4% (RIQ, 19,5 - 46,7%) para Rbv. Los valores de la variabilidad interindividual para pegIFN-α 2a y Rbv fueron del 37,2% y 48,3%, respectivamente.

4.3.1 Relación entre las concentraciones plasmáticas y otras variables.

No se observó ninguna relación entre la MG de los niveles de pegIFN-α 2a durante todo el tratamiento y el peso ($r= 0,016$; $p= 0,417$). Igualmente, tampoco se observaron diferencias entre los niveles de este fármaco en función al sexo ($p= 0,158$) o la presencia de cirrosis ($p= 0,774$).

En relación a los niveles de Rbv observados, se encontró una correlación negativa entre la MG y el peso desde la semana 4 hasta la 48 ($r= -0,268$; $p < 0,001$), el IMC ($r= -0,154$; $p= 0,043$) y aclaramiento de creatinina o filtrado glomerular ($r= -0,312$; $p < 0,001$).

Por otro lado, no encontramos relación entre la dosis de Rbv administrada en función del peso (dosis/kg) y las concentraciones plasmáticas de Rbv ($r= 0,122$; $p= 0,110$) (**Figura 18**).

Tabla 8. Niveles plasmáticos de pegIFN- α 2a y Rbv a lo largo del tratamiento en pacientes sin reducción de dosis.

	<i>Semanas de tratamiento</i>							
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>4</i>	<i>8</i>	<i>12</i>	<i>24</i>	<i>36</i>	<i>48</i>
pegIFN-α 2a (pg/mL), M	2743	3572	3981,5	4154,5	3884	4168	4192	4099
(rango)	(172-10545)	(131-11241)	(590-12199)	(975-8962)	(806-9901)	(224-11004)	(900-10591)	(453-11225)
<i>N</i>	<i>65</i>	<i>136</i>	<i>156</i>	<i>122</i>	<i>140</i>	<i>102</i>	<i>79</i>	<i>71</i>
Ribavirina (μg/mL), M	1,09	1,44	1,67	1,92	1,82	1,86	1,99	2
(rango)	(0,1-3,42)	(0,09-9,73)	(0,07-7,76)	(0,07-7,47)	(0,25-6,24)	(0,1-8,89)	(0,22-8,82)	(0,32-8,30)
<i>n</i>	<i>71</i>	<i>142</i>	<i>164</i>	<i>126</i>	<i>146</i>	<i>101</i>	<i>76</i>	<i>64</i>

M: Mediana y n: número de pacientes.

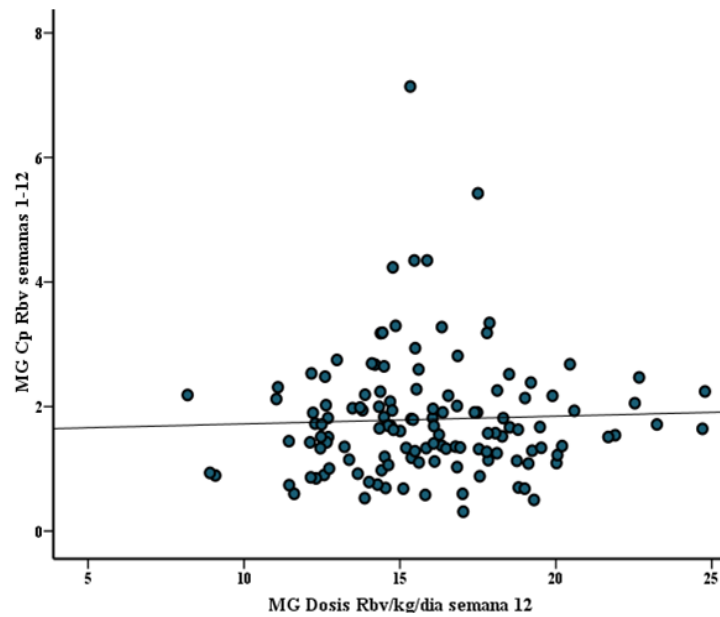
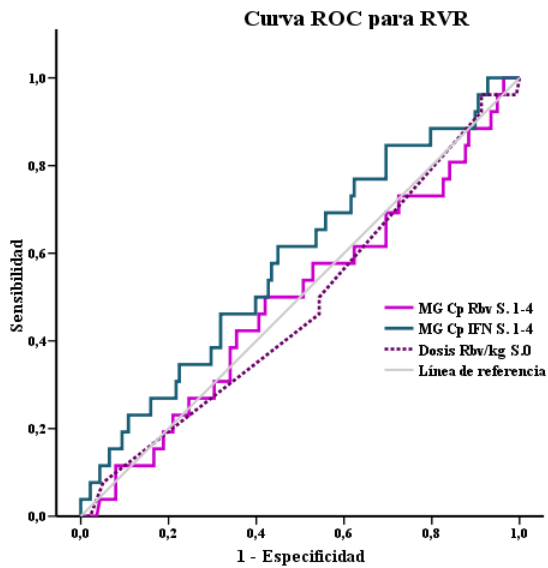


Figura 18. Correlación entre las C_p de Rbv y dosis/kg durante las 12 primeras semanas del tratamiento.

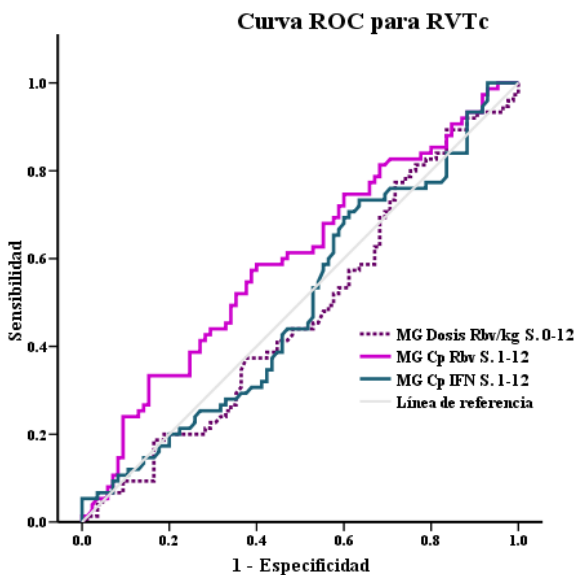
4.3.2 Análisis de curvas ROC.

Tras realizar un análisis de curvas ROC, no encontramos ningún punto de corte lo suficientemente discriminativo para diferenciar entre respondedores y no respondedores al tratamiento en los diferentes tiempos en que se evaluaron las respuesta virales (RVR RVTc, RFT, RVS y recidivas), ya que las distintas áreas bajo la curva (AUC) fueron $< 0,60$ (**Figura 19**).



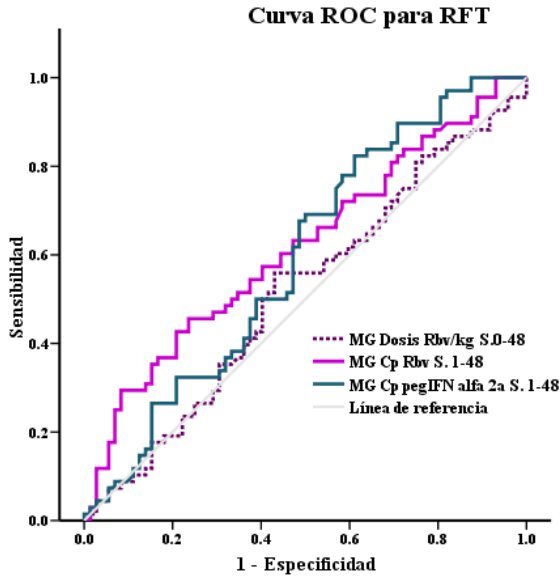
♣ Respuesta Viral Rápida

	Dosis Rbv	C _p Rbv	C _p pegIFN- α 2a
AUC	0,480	0,491	0,583
IC_{95%}	0,36-0,6	0,37-0,62	0,46-0,70
P valor	<i>0,062</i>	<i>0,887</i>	<i>0,1743</i>



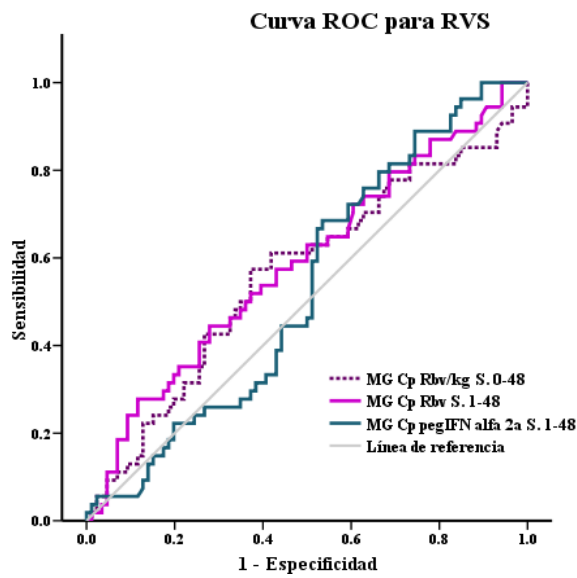
♣ Respuesta Viral Temprana completa

	Dosis Rbv	C _p Rbv	C _p pegIFN- α 2a
AUC	0,476	0,595	0,497
IC_{95%}	0,39-0,57	0,51-0,68	0,41-0,59
P valor	<i>0,594</i>	<i>0,038</i>	<i>0,943</i>



♣ *Respuesta Fin de Tratamiento*

	Dosis Rbv	C _p Rbv	C _p pegIFN- α 2a
AUC	0,516	0,617	0,592
IC _{95%}	0,42-0,61	0,52-0,71	0,5-0,67
P valor	0,737	0,017	0,061



♣ *Respuesta Viral Sostenida*

	Dosis Rbv	C _p Rbv	C _p pegIFN- α 2a
AUC	0,563	0,588	0,530
IC _{95%}	0,46-0,66	0,49-0,69	0,43-0,63
P valor	0,214	0,080	0,546

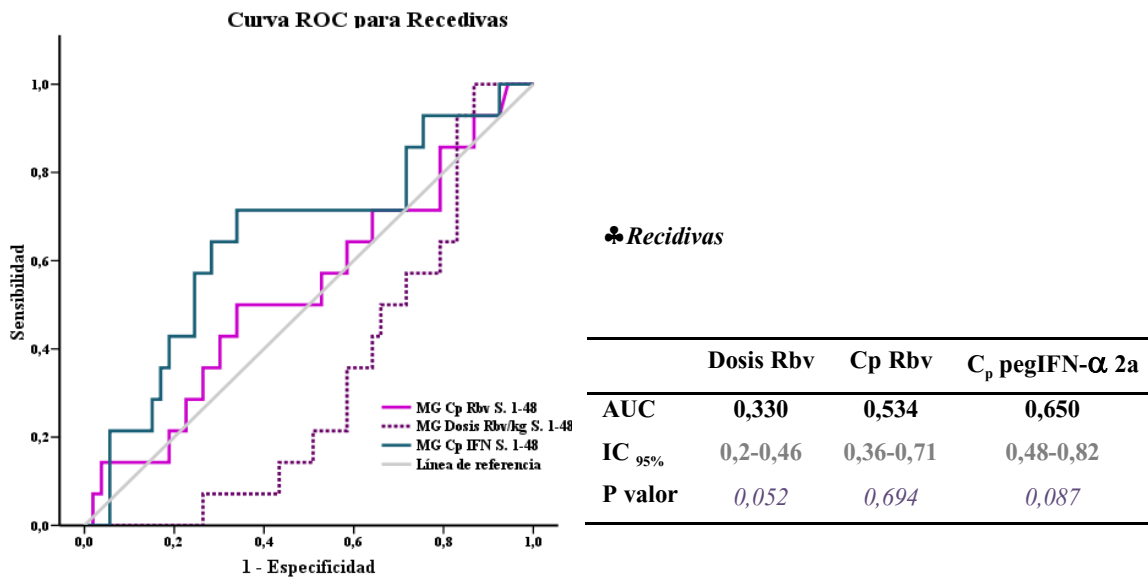


Figura 19. Curvas ROC en los diferentes tiempos de respuesta al tratamiento.

4.4. Cinética Viral.

La cinética viral se evaluó como la caída de la viremia de ARN-VHC (\log_{10} ARN-VHC) en las semanas 2, 4, 8 y 12 respecto a la basal. Se analizó tanto en la cohorte general, como en los distintos genotipos y subtipos del VHC, así como en función al genotipo de la IL28B.

4.4.1 Cinética viral según genotipo de la IL28B en toda la cohorte y en los diferentes genotipos del VHC.

Como se puede apreciar en la **figura 20**, en toda la cohorte se observó una cinética viral más rápida en aquellos pacientes con el polimorfismo genético CC de la IL28B que en aquellos con el polimorfismo CT/TT ($p < 0.001$). Estos resultados fueron similares cuando se analizaron por separado los genotipos 1 y 4 (**Figura 21**).

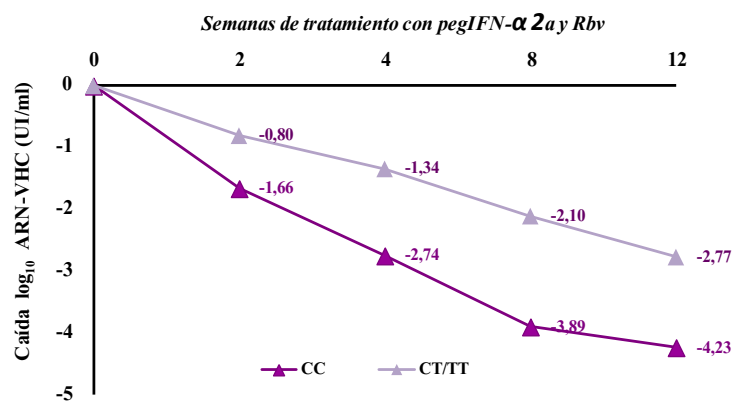


Figura 20. Cinética viral según genotipo de la IL28B en toda la cohorte.

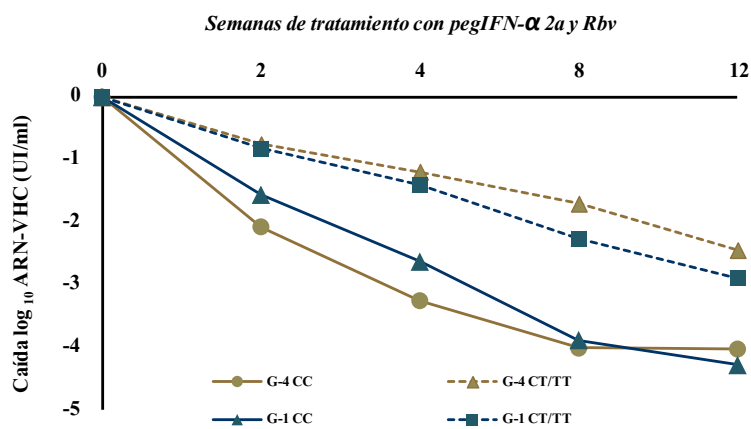


Figura 21. Cinética viral en G-1 y G-4 según genotipo de la IL28B.

4.4.2 Cinética viral según el genotipo de la IL28B en los diferentes subtipos del G-1 del VHC.

Por otro lado, y en base a los resultados hallados en las tasas de respuesta en los diferentes subtipos del G-1 y la influencia del SNP en el gen de la IL28, estudiamos la caída viral en función de ambas variables, observando que la influencia del genotipo de la IL28B en la cinética viral fue más acentuado en el subtipo 1b que en el 1a a lo largo de las 12 primeras semanas (Figura 22 y tabla 9).

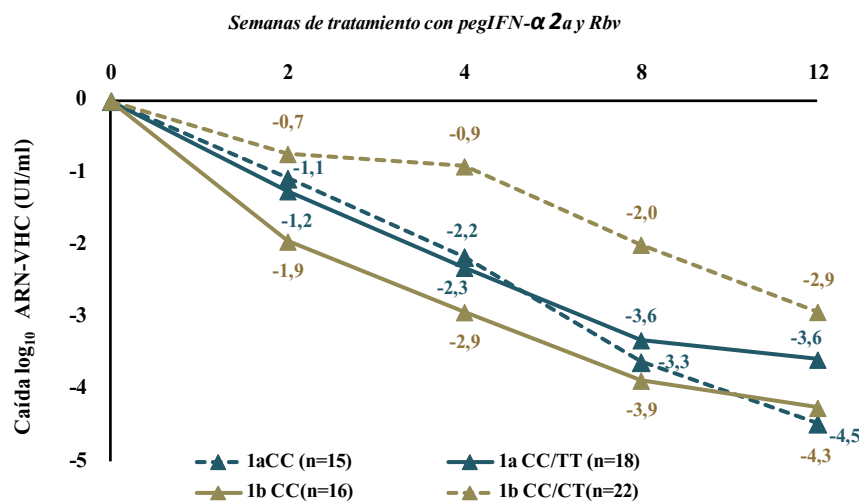


Figura 22. Cinética viral en los diferentes subtipos del G-1 según el genotipo de la IL28B.

Tabla 9. Cinética viral de los subtipos del G-1 según el genotipo de la IL28B.

Subtipos G-1 VHC	Caída log ₁₀ ARN-VHC (UI/ml)			
	Semana 2	Semana 4	Semana 8	Semana 12
1b CC vs. CT/TT (n= 16 vs. 22)	-1,95 vs. -0,73	-2,92 vs. -0,90	-3,87 vs. -1,99	-4,25 vs. 2,92
<i>Valor p</i>	<i>0,01</i>	<i><0,001</i>	<i><0,001</i>	<i>0,025</i>
1a CC vs. CT/TT (n=15 vs. 18)	-1,07 vs. -1,25	-2,16 vs. -2,31	-3,62 vs. -3,31	-4,47 vs. -3,58
<i>Valor p</i>	<i>0,675</i>	<i>0,767</i>	<i>0,630</i>	<i>0,184</i>

4.5. Cinética viral y concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y ribavirina.

En un análisis de la cohorte general, incluyendo ambos genotipos del VHC y sin distinguir entre los diferentes genotipos de la IL28B, no observamos ninguna correlación entre las C_p de pegIFN- α 2a y Rbv con la cinética viral durante las 12 primeras semanas (S) de tratamiento, [MG C_p Rbv, S-4 ($r = -0,222$, $p = 0,289$); S-12 ($r = -0,089$, $p = 0,119$)] y [C_p MG pegIFN- α 2a, S-4 ($r = -0,137$, $p = 0,053$); S-12 ($r = -0,023$, $p = 0,390$)].

Al analizar por separado los genotipos 1 y 4 y del gen de la IL28B, tan sólo encontramos una correlación negativa entre la MG de las C_p de Rbv y la caída de la viremia en semana 12 en los pacientes infectados por G-1 del VHC y portadores del genotipo desfavorable de la IL28B CC/CT ($n=62$), ($r = -0,344$, $p = 0,006$) (**Figura 23**).

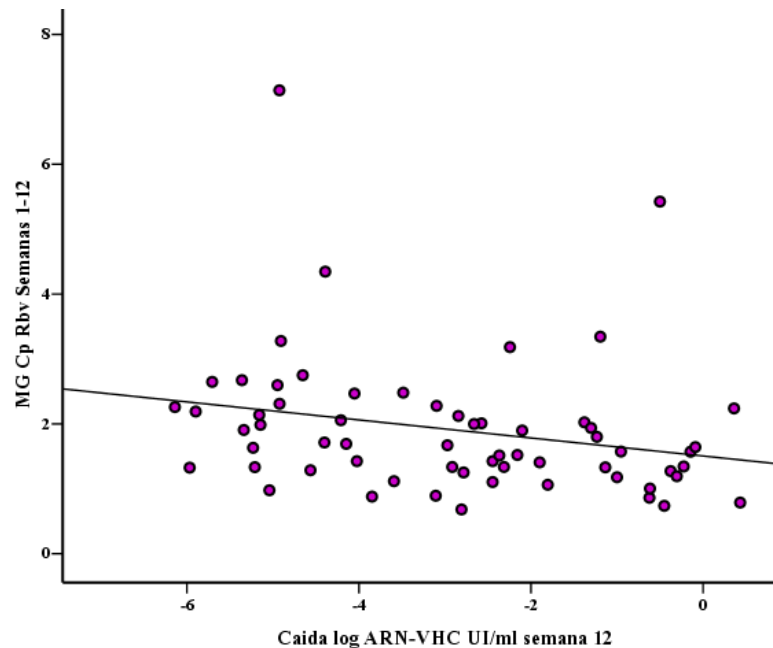
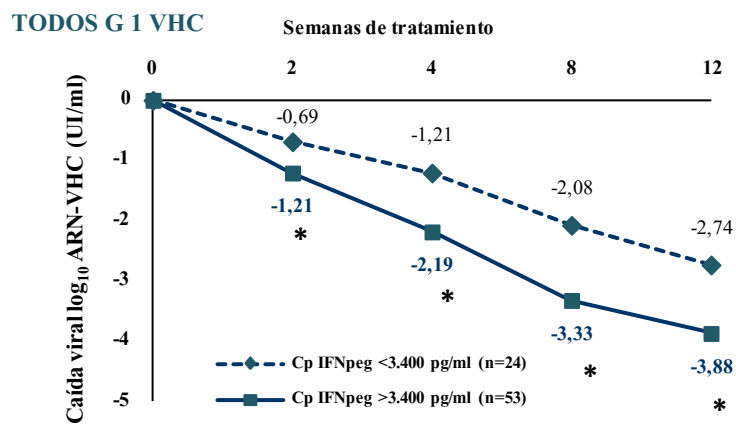


Figura 23. Correlación entre las Cp de Rbv y la cinética viral durante las 12 primeras semanas de tratamiento en pacientes con G-1 y genotipo CT/TT de la IL28B.

Puesto que en el análisis de curvas ROC, no encontramos puntos de corte para las Cp de ambos fármacos con buen poder discriminatorio de la respuesta, dicotomizamos estos valores utilizando el valor de las medianas de las medias geométricas de la Cp observadas desde la semana 4 hasta el final del tratamiento (3.400 pg/ml para pegIFN- α 2a y 1,6 μ g/ml para Rbv), observando diferencias en las cinéticas virales durante las 12 primeras semanas en función de los valores dicotomizados de las Cp tanto de pegIFN- α 2a como de Rbv.

4.5.1 Relación entre las Cp de pegIFN- α 2a y cinética viral temprana en pacientes coinfectados por G-1 del VHC.

Como se muestra en las siguientes figuras, observamos claras diferencias en la cinética viral en los pacientes cuyas MG de las Cp en semanas 4-12 fueron superiores a 3.400 pg/ml (**Figura 24A**).

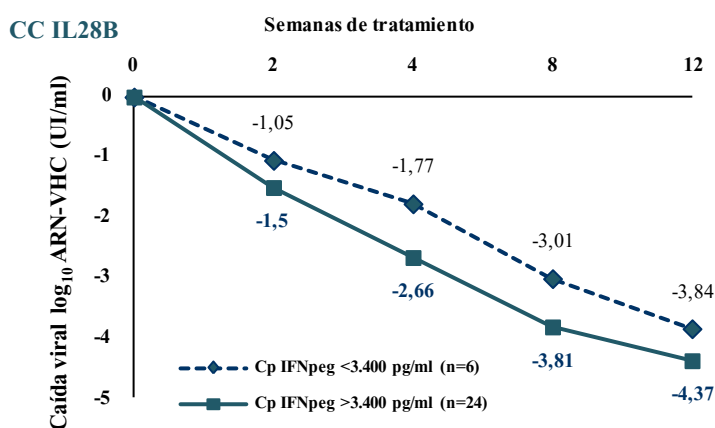


TODOS G-1		Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas				
Semanas		0	2	4	8	12
Cp PegIFN- α 2a \leq 3.400 pg/ml (n=24)		0	-0,69	-1,21	-2,08	-2,74
Cp PegIFN- α 2a $>$ 3.400 pg/ml (n=53)		0	-1,21	-2,19	-3,33	-3,88
Valor p			0,018*	0,005*	0,007*	0,01*

Figura 24A. Relación entre las Cp de pegIFN- α 2a y la cinética viral durante las primeras 12 semanas de tratamiento.

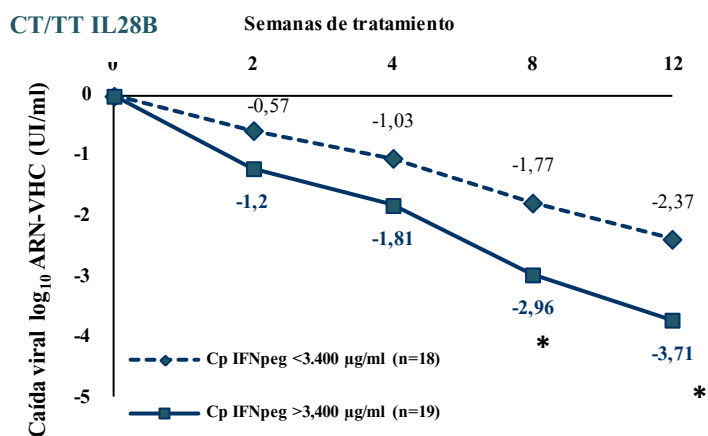
4.5.2 Relación entre las Cp de pegIFN- α 2a, cinética viral temprana en G-1 y genotipo de la IL28B.

Sin embargo, curiosamente cuando analizamos por genotipos de la IL28B, observamos que dicho efecto tan sólo se reflejaba en los pacientes con un genotipo No-CC (desfavorable) en las semanas 8 y 12 (Figuras 24B y 24C).



Genotipo 1 y CC-IL28B	Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas				
Semanas	0	2	4	8	12
Cp PegIFN- α 2a \leq 3.400 pg/ml (n=6)	0	-1,05	-1,77	-3,01	-3,84
Cp PegIFN- α 2a $>$ 3.400 pg/ml (n=24)	0	-1,5	-2,66	-3,81	-4,37
Valor p		0,476	0,131	0,271	0,549

Figura 24B. Relación entre las Cp de pegIFN- α 2a y la cinética viral en genotipos CC de la IL28 durante las primeras 12 semanas de tratamiento.

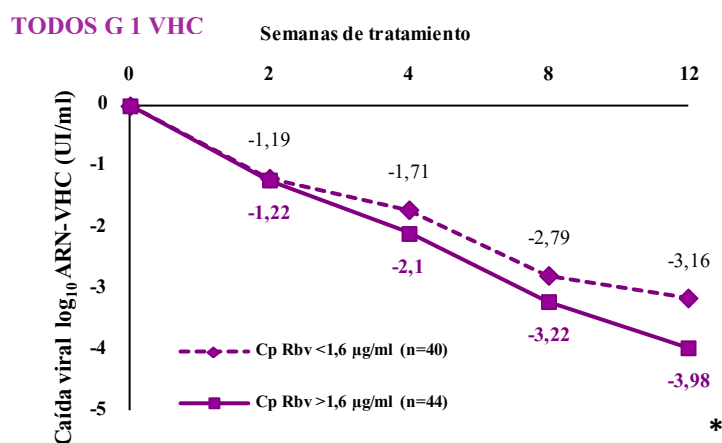


Genotipo 1 y CT/TT-IL28B	Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas				
	Semanas	0	2	4	8
Cp PegIFN- α 2a \leq 3.400 pg/ml (n=18)	0	-0,57	-1,03	-1,77	-2,37
Cp PegIFN- α 2a >3.400 pg/ml (n=19)	0	-1,2	-1,81	-2,96	-3,71
Valor p		0,149	0,101	0,033*	0,034*

Figura 24C. Relación entre las Cp de pegIFN- α 2a y la cinética viral en genotipos CT/TT de la IL28 durante las primeras 12 semanas de tratamiento.

4.5.3 Relación entre las Cp de ribavirina y cinética viral temprana en G-1 del VHC.

En cuanto a las Cp de Rbv, observamos que en aquellos pacientes cuyas MG de Cp entre semanas 1-12 fueron superiores a 1,6 $\mu\text{g/ml}$, existe una mayor caída de la viremia en semana 12 (**Figura 25A**)

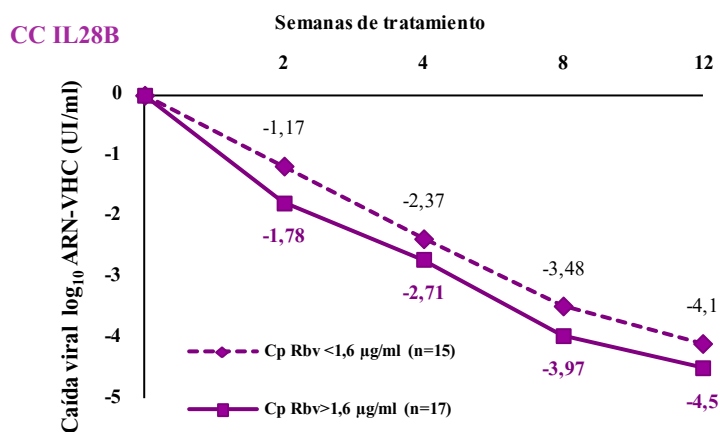


TODOS G-1	Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas				
	Semanas	0	2	4	8
Cp Rbv \leq 1,6 $\mu\text{g/ml}$ (n=40)	0	-1,19	-1,71	-2,79	-3,16
Cp Rbv > 1,6 $\mu\text{g/ml}$ (n=44)	0	-1,22	-2,1	-3,22	-3,98
Valor p		0,919	0,252	0,297	0,052*

Figura 25A. Relación entre las Cp Rbv y la cinética viral durante las primeras 12 semanas de tratamiento.

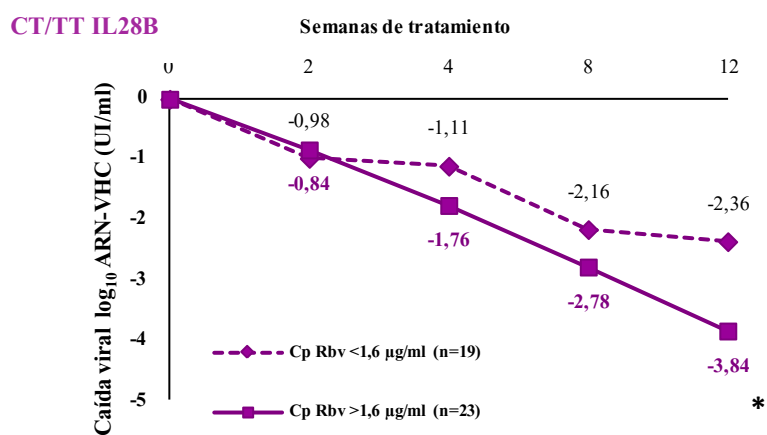
4.5.4 Relación entre las Cp de ribavirina, cinética viral temprana en G-1 y genotipo de la IL28B.

Asimismo, cuando analizamos en función al genotipo de la IL28B, estas diferencias únicamente se observaron en los pacientes portadores del genotipo desfavorable de la IL28B CT/TT (**Figuras 25B y 25C**), al igual que con las Cp de pegIFN- α 2a.



Genotipo 1 y CC-IL28B	Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas				
	Semanas	0	2	4	8
Cp Rbv \leq 1,6 µg/ml (n=15)	0	-1,17	-2,37	-3,48	-4,1
Cp Rbv > 1,6 µg/ml (n=17)	0	-1,78	-2,71	-3,97	-4,5
Valor p		0,208	0,458	0,399	0,461

Figura 25B. Relación entre las Cp de Rbv y la cinética viral en genotipos CC de la IL28 durante las primeras 12 semanas de tratamiento.

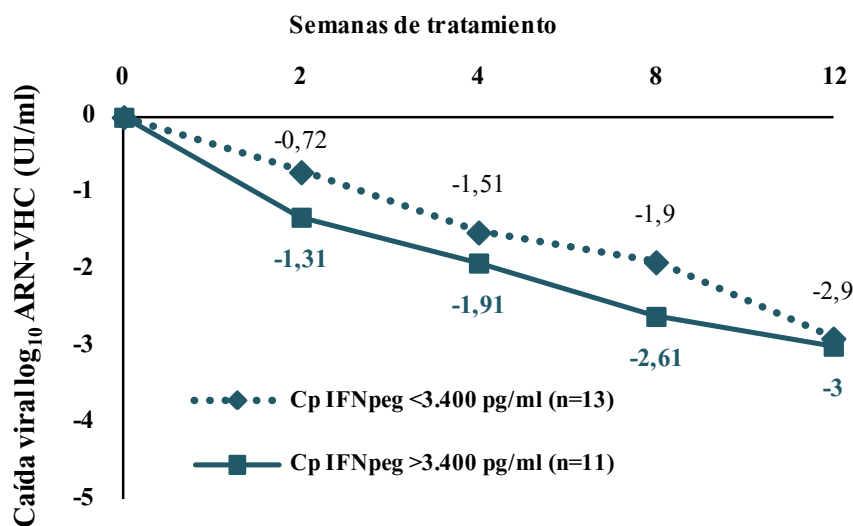


Genotipo 1 y CT/TT-IL28B Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas					
Semanas	0	2	4	8	12
Cp Rbv \leq 1,6 µg/ml (n=19)	0	-0,98	-1,11	-2,16	-2,36
Cp Rbv > 1,6 µg/ml (n=23)	0	-0,84	-1,76	-2,78	-3,84
Valor p		0,733	0,145	0,244	0,011*

Figura 25C. Relación entre las Cp de Rbv y la cinética viral en genotipos CC de la IL28 durante las primeras 12 semanas de tratamiento.

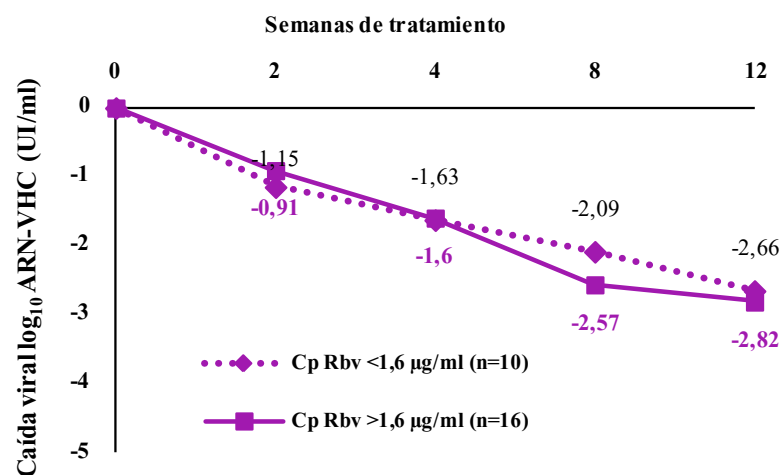
4.5.5 Relación entre las Cp de pegIFN- α 2a y ribavirina y cinética viral temprana en pacientes coinfectados por G-4 del VHC.

En los pacientes infectados por el genotipo 4 del VHC, no observamos relación entre las Cp tanto de pegIFN- α 2a como de Rbv con la cinética viral durante las 12 primeras semanas de tratamiento (Figuras 26 y 27).



TODOS Genotipo 4		Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas				
Semanas		0	2	4	8	12
Cp PegIFN-a 2a \leq 3.400 pg/ml (n=13))		0	-0,72	-1,51	-1,9	-2,9
Cp PegIFN-a 2a > 3.400 pg/ml (n=11)		0	-1,31	-1,91	-2,61	-3
Valor p			0,232	0,452	0,888	0,832

Figura 26. Relación entre las Cp de pegIFN- α 2a y la cinética viral en genotipos 4 del VHC durante las primeras 12 semanas de tratamiento.



TODOS Genotipo 4		Caída ARN-VHC durante las primeras 12 semanas				
Semanas		0	2	4	8	12
Cp Rbv \leq 1,6 $\mu\text{g/ml}$ (n=10)		0	-1,15	-1,63	-2,09	-2,66
Cp Rbv $>$ 1,6 $\mu\text{g/ml}$ (n=16)		0	-0,91	-1,6	-2,57	-2,82
Valor p			0,608	0,946	0,462	0,814

Figura 27. Relación entre las Cp de Ribavirina y la cinética viral en genotipos 4 del VHC durante las primeras 12 semanas de tratamiento.

Debido a que no observamos diferencias en la caída viral en función a las Cp alcanzadas en ambos fármacos, los pacientes coinfectados con el G-4 del VHC no fueron analizados en función al genotipo de la IL28B.

4.6. Factores asociados a la respuesta virológica.

4.6.1 Análisis univariante en la cohorte completa.

En primer lugar realizamos un análisis global de toda la cohorte (**tabla 10**) y posteriormente se analizó agrupando a los pacientes en 2 grupos: pacientes con genotipo CC y pacientes con genotipo no-CC (CT/TT) de la IL28B (**tabla 11**).

Las variables sexo e IMC no se asociaron a ningún tipo de respuesta tanto en la cohorte general como en los diferentes genotipos de la IL28.

En la cohorte en general (**tabla 10**), las variables asociadas a una mayor tasa de RVS fueron: una viremia de VIH < 50 copias/ml ($p= 0,007$) y VHC < 800.000 UI/ml al inicio del tratamiento ($p= 0,012$), niveles de LDL-C basales > 90 mg/dl ($p= 0,015$), portar el genotipo CC de la IL28 ($p < 0,001$) y haber recibido dosis de ribavirina $> 15,6$ mg/kg durante todo el tratamiento ($p= 0,036$). Un menor estadio de fibrosis hepática también se asoció a una mayor tasa de RVS aunque sin alcanzar significación estadística a nivel de $p < 0,05$ ($p= 0,082$). Por el contrario, ni las C_p de Rbv ni de pegIFN- α 2a mayores a la mediana de la muestra, estuvieron relacionadas con una mayor tasa de RVS. A pesar de ello, niveles de Rbv $> 1,6$ μ g/ml, se asociaron con una mayor tasa de RVTc ($p= 0,014$), RVT ($p= 0,024$) y RFT ($p= 0,040$), sin alcanzarse la significancia estadística en el caso de la RVS. La viremia del VHC basal fue la única variable asociada a las recidivas.

En el análisis en función de los diferentes genotipos de la IL28B (CC vs. CT/TT), las variables asociadas a RVS en el grupo CC fueron: presentar viremias de VHC basales < 800.000 UI/ml ($p= 0,042$), un estadio de fibrosis $< F2$ ($p= 0,030$), estar infectado por G-4 del VHC ($p= 0,041$) y presentar dosis de Rbv $> 15,6$ mg/kg durante todo el tratamiento (**tabla 11**).

En el grupo de pacientes portadores del genotipo CT/TT, las únicas variables asociadas a una mayor tasa de RVS fueron alcanzar C_p de pegIFN > 3400 μ g/ml ($p= 0,016$) y C_p de Rbv $> 1,6$ μ g/ml ($p= 0,050$) a lo largo de todo el tratamiento.

Tabla 10. Análisis Univariado de las variables asociadas con la respuesta al tratamiento en toda la cohorte (G1 y G4).

Variables (análisis univariado)	RVR (%) n = 174	Valor p	RVTc (%) n = 168	Valor p	RVT (%) n = 168	Valor p	RFT (%) n = 146	Valor p	RVS (%) N=146	Valor p	Recidivas (%) N= 68	Valor p
Sexo	18,4 vs. 7,4	0,259	48,2 vs. 36	0,257	72 vs. 60	0,225	47,9 vs. 44	0,720	37,2 vs. 40	0,792	22,4 vs. 10	0,674
Hombre vs. mujer												
IMC (kg/m ²) (< vs. > 25)	17,1 vs. 15,9	0,832	46,7 vs. 45,9	0,918	72,9 vs. 65,6	0,318	47,2 vs. 47,4	0,983	36 vs. 40,4	0,593	23,8 vs. 15,4	0,404
ARN-VIH basal (< vs. > 50 copias/ml)	18,3 vs. 9,4	0,221	50,7 vs. 28,1	0,021	75 vs. 50	0,005	53,4 vs. 23,3	0,003	43,1 vs. 16,7	0,007	19,4 vs. 33,3	0,595
Genotipo VHC (1 vs. 4)	13,7 vs. 25,6	0,071	46,5 vs. 46,3	0,990	70,9 vs. 68,3	0,754	48,6 vs. 43,6	0,592	37,4 vs. 38,5	0,905	23,5 vs. 11,8	0,490
ARN-VHC (< vs. > 800.000 UI/ml)	37,9 vs. 3,7	<0,001	61,9 vs. 37,1	0,002	71,4 vs. 69,5	0,794	52,8 vs. 44,1	0,309	50,9 vs. 30,1	0,012	3,6 vs. 32,5	0,004
Nivel basal LDL (< vs. > 90 mg/dl)	12,1 vs. 22,7	0,065	36,8 vs. 58,9	0,004	60 vs. 83,6	0,001	37,6 vs. 60,7	0,006	29,4 vs. 49,2	0,015	22,6 vs. 18,9	0,710
Fibrosis avanzada (F ≤ 2 vs. F ≥ 3)	16,4 vs. 18,8	0,945	54,9 vs. 40,2	0,059	83,1 vs. 60,8	0,002	57,4 vs. 40	0,038	45,9 vs. 31,8	0,082	20,6 vs. 20,6	1
IL28 SNP (CC vs. CT/TT)	33,3 vs. 8,2	<0,001	75,5 vs. 30,9	<0,001	90,6 vs. 59,6	<0,001	86,4 vs. 30,2	<0,001	72,7 vs. 22,1	<0,001	15,8 vs. 28	0,241
Niveles pegIFN-α 2a* (≤ vs. > 3400 pg/ml)	12,5 vs. 18,3	0,312	42,2 vs. 49	0,397	68,8 vs. 70,4	0,822	38,7 vs. 55,7	0,045	32,3 vs. 43	0,191	16,7 vs. 23,3	0,525
Niveles Rbv** (≤ vs. > 1.6 µg/ml)	18,9 vs. 14,4	0,442	37,2 vs. 56,3	0,014	62,8 vs. 78,8	0,024	39,5 vs. 56,5	0,040	31,6 vs. 44,9	0,098	20 vs. 21,1	0,915
Dosis de Rbv*** (≤ vs. > 15.6 mg/kg)	12,2 vs. 20,7	0,135	48,9 vs. 43,8	0,507	69,3 vs. 71,3	0,784	41,7 vs. 52,7	0,182	29,2 vs. 45,9	0,036	31 vs. 12,8	0,066

*: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-4; **: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-12; ***: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-48.

4.6.2 Análisis univariante en los diferentes genotipos del VHC.

Dadas las diferencias observadas entre ambos genotipos del VHC en la respuesta y viremias basales, analizamos ambos genotipos de forma independiente con el fin de evaluar si las variables asociadas a las respuestas virales diferían entre genotipos 1 y 4.

4.6.2.1 Análisis en genotipos 1 del VHC.

Como se muestra en la **tabla 11**, en pacientes con G-1 del VHC, las únicas variables asociadas a una mayor tasa de RVS fueron el genotipo CC de la IL28B ($p < 0,001$), presentar un menor estadio de fibrosis hepática ($p = 0,036$) y niveles basales de LDL > 90 mg/dl ($p = 0,012$). Asimismo, al igual que en el análisis previo de toda la cohorte, las Cp de Rbv se asociaron a una mayor tasa de respuesta al tratamiento en todos los puntos, aunque sin alcanzar significación estadística en el caso de la RVS.

Al estratificar la cohorte de G-1 en función a la IL28B, en pacientes con genotipo CC de la IL28B, las únicas variables asociadas a RVS fueron la fibrosis hepática y dosis de Rbv $> 15,6$ mg/kg. Sin embargo, en pacientes portadores del alelo de riesgo T (CT/TT), alcanzar Cp de pegIFN- α 2a > 3400 μ g/ml y Cp de Rbv $> 1,6$ μ g/ml a lo largo de todo el tratamiento, se asociaron a una mayor tasa de RVTc, RFT y RVS ($p = 0,02$ y $p = 0,048$, respectivamente).

Tabla 11. Análisis Univariado de las variables asociadas con la respuesta al tratamiento en Genotipos 1 según genotipo de la IL28.

Variables (análisis univariado)		RVR (%) n = 174	Valor p	RVTc (%) n = 168	Valor p	RVT (%) n = 168	Valor p	RFT (%) n = 146	Valor p	RVS (%) N=146	Valor p	Recidivas (%) N= 49	Valor p
HCV subtype	CC	5,3 vs, 38,1	0,013	68,4 vs, 71,4	0,836	84,2 vs, 90,5	0,654	82,4 vs, 80,0	0,608	52,9 vs, 77,3	0,234	35,7 vs, 8,3	0,170
1a vs. 1b	CT/TT	18,2 vs, 2,9	0,054	38,7 vs, 30,3	0,479	61,3 vs, 60,6	0,955	35,7 vs, 33,3	0,849	25,0 vs, 23,3	0,882	30 vs, 33,3	1
ARN-VHC	CC	47,1 vs, 7,7	0,007	82,4 vs, 61,5	0,146	88,2 vs, 88,5	1	75,0 vs, 86,4	0,641	75,0 vs, 59,1	0,294	0 vs, 31,6	0,136
(< vs. > 800.000 UI/ml)	CT/TT	29,4 vs, 3,7	0,007	37,5 vs, 30,8	0,615	50 vs, 65,4	0,378	35,7 vs, 35,4	0,610	28,6 vs, 25,0	0,518	20 vs, 31,6	1
Nivel basal LDL	CC	22,2 vs, 24,0	1	55,6 vs, 80,0	0,085	72,2 vs, 100	0,009	66,7 vs, 94,7	0,046	53,3 vs, 77,3	0,218	20 vs, 22,2	1
(< vs. > 90 mg/dl)	CT/TT	6,3 vs, 17,4	0,203	26,1 vs, 45,5	0,110	58,7 vs, 68,2	0,451	30,0 vs, 45,5	0,224	20,0 vs, 36,4	0,159	36,4 vs, 20	0,635
Fibrosis avanzada	CC	22,2 vs, 24,0	1	77,8 vs, 64,0	0,332	100 vs, 80	0,064	92,9 vs, 75,0	0,190	85,7 vs, 50,0	0,035	7,7 vs, 33,3	0,173
(F ≤ 2 vs. F ≥ 3)	CT/TT	6,1 vs, 13,2	0,438	35,5 vs, 29,7	0,613	71 vs, 54,1	0,153	44,8 vs, 27,3	0,149	31,0 vs, 21,2	0,378	33,3 vs, 22,2	0,659
Niveles pegIFN-α 2a	CC	11,5 vs, 31,8	0,140	42,9 vs, 81,5	0,017	85,7 vs, 88,9	1	83,3 vs, 81,8	1	75,0 vs, 59,1	0,294	10 vs, 27,8	0,375
(≤ vs. > 3400 pg/ml) *	CT/TT	12,9 vs, 7,9	0,692	25,8 vs, 38,9	0,256	54,8 vs, 66,7	0,451	20,0 vs, 51,6	0,010	13,3 vs, 38,7	0,024	33,3 vs, 26,7	1
Niveles Rbv	CC	20,8 vs, 26,3	0,728	52,6 vs, 82,6	0,036	84,2 vs, 91,3	0,644	69,2 vs, 90,5	0,133	61,5 vs, 66,7	0,522	11,1 vs, 26,3	0,630
(≤ vs. > 1.6 µg/ml) **	CT/TT	5,9 vs, 14,3	0,428	15,2 vs, 50,0	0,002	51,5 vs, 73,5	0,063	25,0 vs, 48,3	0,059	15,6 vs, 37,9	0,048	37,5 vs, 23,1	0,631
Dosis de Rbv	CC	13,3 vs, 28,6	0,451	71,4 vs, 68,2	0,817	87,7 vs, 90,9	0,595	76,5 vs, 88,8	0,328	47,1 vs, 82,4	0,031	38,5 vs, 6,7	0,069
(≤ vs. > 15.6 mg/kg) ***	CT/TT	8,6 vs, 11,1	1	37,1 vs, 27,3	0,385	60 vs, 63,6	0,758	27,6 vs, 42,4	0,223	20,7 vs, 30,3	0,388	28,6 vs, 28,6	1

*: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-4; **: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-12; *** Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1- 48.

4.6.2.2 Análisis en genotipos 4 del VHC.

Un total de 43 con VHC G-4 fueron incluidos en el análisis. Tal y como se puede observar en la **tabla 12**, en todos ellos, las únicas variables fuertemente asociadas a una mayor tasa de respuesta al tratamiento fue una viremia de VHC basal < 800.000 UI/ml y el genotipo CC de la IL28B. Las Cp tanto de pegIFN- α 2a como Rbv no se asociaron a la respuesta virológica en ningún punto de respuesta al tratamiento.

Tras el análisis en función al genotipo de la IL28B, a pesar del escaso número de pacientes con determinación del genotipo de la IL28 (37/43), el 100% de los pacientes homocigotos CC (n= 10) alcanzaron RVTc, RFT y RVS, siendo interesante resaltar que todos ellos presentaron viremias basales de ARN-VHC bajas (< 800.000 UI/ml). Por otra parte, en los pacientes con genotipo CT ó TT, en el análisis bivalente, no encontramos ningún factor asociado a las respuestas virales a lo largo del tratamiento.

Dado el pequeño tamaño de la muestra y que el 100% de los pacientes con un genotipo CC de la IL28B presentaban viremias basales inferiores a 800,000 UI/ml, no pudimos diseñar un modelo predictivo de respuesta en pacientes con G-4.

Tabla 12. Análisis univariado de las variables asociadas con la respuesta al tratamiento en Genotipos 4 y pacientes no-CC.

Variables (análisis univariado G-4)		RVR (%) n= 43	P	RVTc (%) n= 41	P	RFT (%) n=41	P	RVT (%) n= 39	P	RVS (%) n= 39	P	Recidivas (%) n= 14	P
ARN-VHC	Todos	36,7 vs, 0	0,019	64,3 vs, 7,7	<0,001	75 vs, 53,8	0,280	53,8 vs 23,1	0,068	53,8 vs, 7,7	0,005	0 vs, 66,7	0,022
(\leq vs. $>$ 800.000 IU/ml)	CC/CT	7,1 vs, 0	1	42,9 vs, 8,3	0,081	57,1 vs, 50	0,716	16,7 vs, 16,7	1	16,7 vs, 8,3	1	0 vs, 50	1
Nivel basal LDL	Todos	19,2 vs, 35,3	0,295	41,7 vs, 52,9	0,476	58,3 vs, 82,4	0,103	39,1 vs, 50	0,501	34,8 vs, 43,8	0,571	11,1 vs, 12,5	1
(\leq vs. $>$ 90mg/dl)	CC/CT	5,6 vs, 0		27,8 vs, 25	1	50 vs, 62,5	0,683	23,5 vs, 0	0,283	17,6 vs, 0	0,530	♦	
Fibrosis avanzada	Todos	35,3 vs, 19,2	0,295	58,8 vs, 37,5	0,177	82,4 vs, 58,3	0,103	50 vs, 39,1	0,501	37,5 vs, 39,1	0,918	25 vs, 0	0,206
($F \leq 2$ vs. $F \geq 3$)	CC/CT	9,1 vs, 0	0,423	45,5 vs, 13,3	0,095	72,7 vs, 40	0,098	20 vs, 14,3	1	10 vs, 14,3	1	50 vs, 0	1
IL28 SNP (CC vs. CT/TT)	Todos	72,7 vs, 3,8	<0,001	100 vs, 26,9	<0,001	100 vs, 53,8	0,015	100 vs, 16,7	< 0,001	100 vs, 12,5	< 0,001	0 vs, 25	0,286
pegIFN-α 2a levels	Todos	15,8 vs, 30	0,451	62,5 vs, 36,4	0,111	75 vs, 63,6	0,457	35,3 vs, 52,6	0,296	29,4 vs, 47,8	0,270	16,7 vs, 10	1
(\leq vs. $>$ 3400 pg/ml) *	CC/CT	0 vs, 8,3	1	45,5 vs, 15,4	0,182	63,6 vs, 46,2	0,392	16,7 vs, 20	1	8,3 vs, 20	0,571	50 vs, 0	1
Rbv levels	Todos	20,7 vs, 25	1	50 vs, 40	0,536	65,4 vs, 73,3	0,598	45,8 vs, 40	0,721	37,5 vs, 40	0,876	18,2 vs, 0	0,515
(\leq vs. $>$ 1.6 μ g/ml) *	CC/CT	4,8 vs, 0	1	27,3 vs, 26,7	1	50 vs, 62,5	0,683	18,8 vs, 12,5	1	12,5 vs, 12,5	1	33,3 vs, 0	1
Rbv dose	Todos	17,4 vs, 35	0,187	40,9 vs, 52,6	0,453	63,6 vs, 73,7	0,491	38,1 vs, 50,0	0,455	28,6 vs, 50	0,170	25 vs, 0	0,206
(\leq vs. $>$ 15.6 mg/kg) *	CC/CT	0 vs, 8,3	0,462	28,6 vs, 25	1	50 vs, 58,3	0,671	21,4 vs, 10	0,615	14,3 vs, 10	1	33,3 vs, 0	1

♦ Análisis no realizado por falta de muestra. *: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN- α 2a entre semanas 1-4; ** Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN- α 2a entre semanas 1-12; *** Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN- α 2a entre semanas 1- 48.

4.6.3. Análisis multivariante.

Dadas las diferencias entre las variables asociadas a la respuesta al tratamiento entre los pacientes portadores de un genotipo CC para IL28B y los CC/CT, se realizó un análisis de regresión logística multivariante para todos los pacientes con G-1 VHC y, posteriormente, un modelo para cada grupo de pacientes según el genotipo de la IL28B.

4.6.3.1. Modelo multivariante en genotipos 1 del VHC.

Tanto el genotipo CC de la IL28B (OR: 6,24; IC₉₅: 2,27 - 17,18; p< 0,001) como el grado de fibrosis hepática (\leq F2) (OR: 2,67; IC₉₅: 0,99-7,17; p= 0,051) y las C_p de Rbv a lo largo de todo el tratamiento (OR: 2,41; IC₉₅: 0,93-6,3; p= 0,071) fueron las únicas variables independientemente asociadas a la RVS, aunque en el caso de estas dos últimas sin alcanzar significación estadística a nivel de p \leq 0.05. Asimismo, los niveles de Rbv se asociaron a una mayor tasa de RVTc (OR: 5,79; IC₉₅: 2,17-15,46; p< 0,001), RVT (OR: 2,78; IC₉₅: 1,08-7,18; p= 0,035) y RFT (OR: 3,38; IC₉₅: 1,25-9,14; p= 0.017). En cambio, la C_p de pegIFN- α 2a no se asociaron con las respuestas virológicas (**tabla 13**).

Tras la validación mediante curva ROC, este modelo de regresión logística presentó una sensibilidad y especificidad del 76,3% y 80%, respectivamente (**Figura 28**).

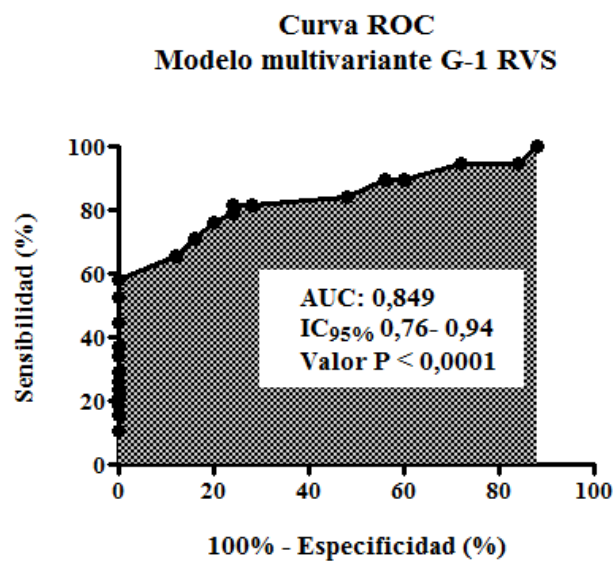


Figura 28. Curva ROC para la predicción de RVS en G-1.

Tabla 13. Modelo de regresión logística para la predicción de la respuesta en pacientes coinfectados con G-1 del VHC.

Factor (Análisis multivariado)	RVR AOR (IC ₉₅) n = 108		RVTc AOR (IC ₉₅) n = 106		RVT AOR (IC ₉₅) n = 106		RFT AOR (IC ₉₅) n = 94		RVS AOR (IC ₉₅) n = 94		Recidivas AOR n=49	P
		p		p		p		p		p		
IL28 SNP (CC vs. CT/TT)	2,08 (0,60-7,18)	0,247	4,31 (1,75-12,15)	0,002	5,12 (1,64-15,97)	0,005	7,99 (2,67-23,95)	<0,001	6,24 (2,27-17,18)	<0,001	1,7 (0,38-7,65)	0,490
ARN-VHC IU/ml (≤ vs. > 800000 IU/ml)	12,37 (3,24-47,21)	<0,001	2,54 (0,91-7,01)	0,075	1,42 (0,51-3,98)	0,456	1,26 (0,40-3,98)	0,695	1,67 (0,58-4,80)	0,341	8,87 (0,9-87,23)	0,061
Fibrosis avanzada (F ≤ 2 vs. F ≥ 3)	1,83 (0,49-6,86)	0,371	1,87 (0,73-4,85)	0,195	2,71 (1-7,28)	0,049	2,23 (0,81-6,14)	0,123	2,67 (0,99-7,17)	0,051	0,492 (0,11-2,2)	0,492
Niveles pegIFN-α 2a (> vs. ≤ 3400 pg/ml)*	1,1 (0,29-4,14)	0,891	2,02 (0,81-5,14)	0,130	1,18 (0,46-3,03)	0,726	2,53 (0,92-6,93)	0,072	1,38 (0,52 – 3,55)	0,534	0,40 (0,08-1,99)	0,264
Niveles Rbv (> vs. ≤ 1,6 µg/ml)**	3,32 (0,94-11,70)	0,062	5,79 (2,17-15,46)	<0,001	2,78 (1,08-7,18)	0,035	3,38 (1,25-9,14)	0,017	2,41 (0,93-6,3)	0,071	1,07 (0,24-4,74)	0,929
Dosis Rbv (> vs. ≤ 15,6 mg/kg)***	2,60 (0,69-6,78)	0,156	1,53 (0,58-4,04)	0,390	1,02 (0,42-2,77)	0,970	2,01 (0,74-5,50)	0,173	2,43 (0,92-6,41)	0,074	3,3 (0,73-14,87)	0,121
R² Nagelkerke	0,33		0,36		0,27		0,39		0,28		0,18	

*: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-4. ** Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-12. *** Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1- 48.

4.6.3.2. Modelo multivariante en pacientes con G-1 VHC y CC de IL28B.

En los pacientes con el genotipo CC de la IL28, un menor estadio de fibrosis hepática y la administración de dosis de Rbv superiores a 15,6 mg/kg durante todo el tratamiento fueron las únicas variables independientemente asociadas a la RVS (**tabla 14**).

Tras la validación mediante curva ROC, este modelo de regresión logística presentó una sensibilidad y especificidad del 77,3% y 66,7%, respectivamente (**Figura 29**).

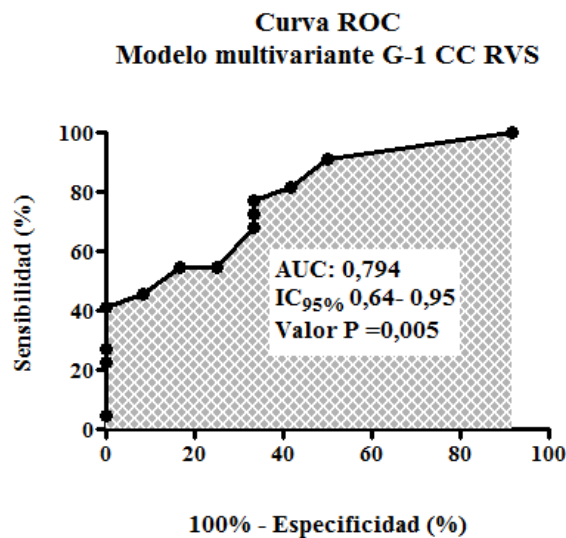


Figura 29. Curva ROC para la predicción de RVS en G-1 y genotipo CC de la IL28B.

4.6.3.3. Modelo multivariante en pacientes con G-1 VHC y CT/TT de IL28B

Al contrario de lo observado en pacientes con VHC genotipo 1 e IL28 CC, en los pacientes con genotipo CT/TT de la IL28B, las únicas variables independientemente asociadas con la RFT y RVS fueron las C_p pegIFN- α 2a superiores a 3400 μ g/ml y de Rbv superiores a 1,6 μ g/ml a lo largo de todo el tratamiento, (OR: 4,76; IC_{95%} : 1,18- 19,35; p= 0,029 y OR: 3,99; IC_{95%} : 1,08- 14,83; p= 0,038 respectivamente) (**tabla 14**). Asimismo, en un análisis independiente en el que se incluyó la variable dosis/kg de Rbv > vs. \leq 15,6 mg/kg en lugar de concentraciones de Rbv, esta variable estuvo también asociada a la RVS (OR: 5,43; IC_{95%} : 1-29,26; p= 0,049). La tasa de RVS alcanzada en aquellos pacientes portadores de un genotipo No-CC que presentaron niveles superiores de ambos fármacos fue del 50%

comparado con la nula respuesta (0%) alcanzada en el grupo de pacientes cuyas C_p fueron inferiores (Figura 31).

Tras la validación mediante curva ROC, este modelo de regresión logística presentó una sensibilidad y especificidad del 63% y 64%, respectivamente (Figura 30).

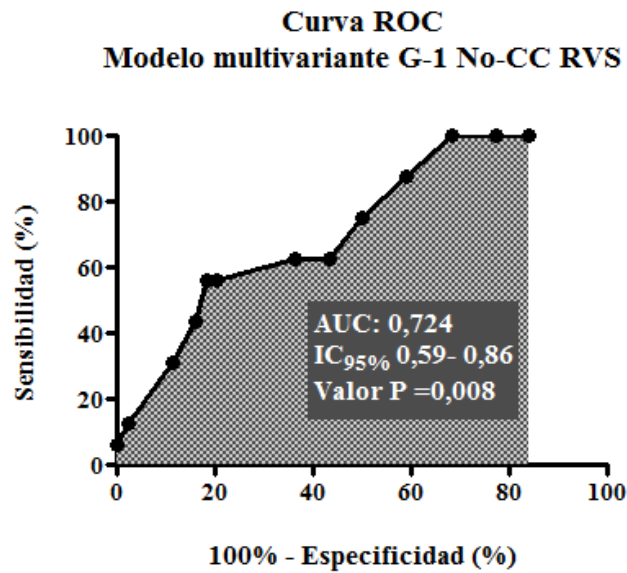


Figura 30. Curva ROC para la predicción de RVS en G-1 y genotipo no-CC de la *IL28B*.

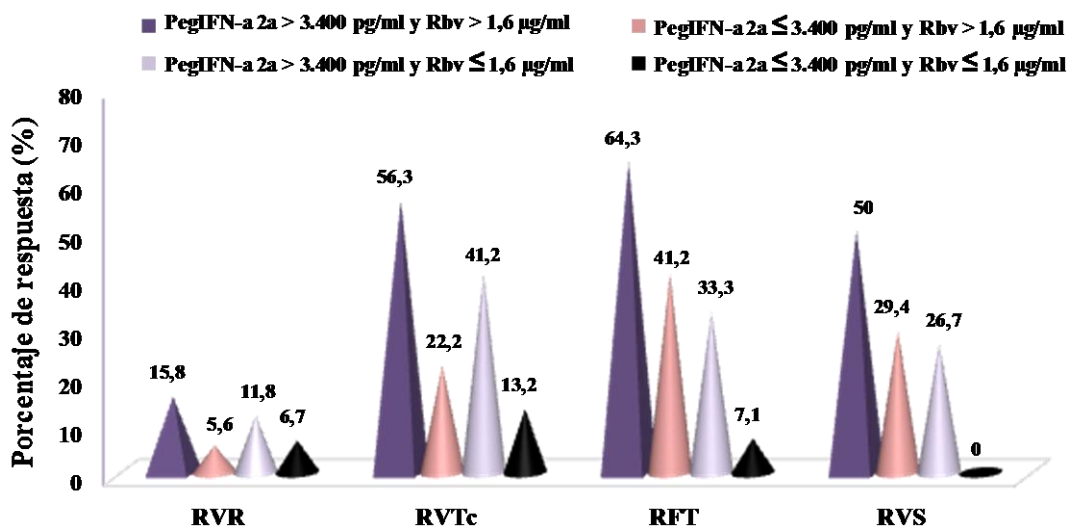


Figura 31. Tasas de RVS alcanzadas en pacientes con genotipo No-CC (CT/TT) en función a las concentraciones plasmáticas de *pegIFN-α 2a* y *ribavirina* alcanzadas.

Tabla 14. Modelo de regresión logística para la predicción de la respuesta según el genotipo de la IL28B G-1 del VHC.

Factor (Análisis multivariado)		RVR		RVTc		p	RFT		RVS		Recidivas AOR n=28/
		AOR (IC ₉₅) n = 41/67	p	AOR (IC ₉₅) n = 40/66	p		AOR (IC ₉₅) n = 34/60	p	AOR (IC ₉₅) n =34/60	p	
ARN-HCV IU/ml (≤ vs. > 800000 IU/ml)	CC	12,41 (1,59-97,15)	0,016	10,19 (0,89-116,72)	0,062	1,58 (0,18-13,61)	0,677	3,59 (0,47-27,04)	0,214	NC	
	CT/TT	12,19 (1,81-81,98)	0,010	1,48 (0,41-5,4)	0,552	0,88 (0,22-3,54)	0,858	1,35 (0,31-5,95)	0,686	NC	
Fibrosis avanzada (F ≤ 2 vs. F ≥ 3)	CC	1,69 (0,25-11,19)	0,588	6,26 (0,61-63,87)	0,122	5,79 (0,53-62,94)	0,149	7,51 (1,17-48,37)	0,034	NC	
	CT/TT	1,84 (0,27-12,39)	0,530	1,36 (0,44-4,25)	0,598	0,63 (0,19-2,07)	0,446	1,21 (0,33-4,40)	0,776	NC	
Niveles pegIFN-α 2a (> vs. ≤ 3400 pg/ml)*	CC	3,29 (0,46-23,6)	0,236	2,17 (0,38-12,35)	0,383	1,43 (0,17-12,33)	0,740	0,23 (0,04-1,43)	0,113	NC	
	CT/TT	0,49 (0,08-3,04)	0,445	1,76 (0,56-5,57)	0,335	4,52 (1,28-15,97)	0,019	4,76 (1,18-19,35)	0,029	NC	
Niveles Rbv (> vs. ≤ 1,6 µg/ml)*	CC	7,29 (0,68-78,57)	0,102	12,85 (1,06-155,6)	0,045	4,86 (0,58-40,42)	0,097	2,78 (0,43-17,97)	0,283	NC	
	CT/TT	2,39 (0,36-15,7)	0,366	5,65 (1,72-18,55)	0,004	3,47 (1,04-11,62)	0,043	3,99 (1,08-14,83)	0,038	NC	
Dosis Rbv (> vs. ≤ 15,6 mg/kg)***	CC	3,9 (0,53-28,95)	0,182	0,83 (0,19-3,67)	0,808	1,97 (0,28-13,66)	0,493	5,43 (1,0-29,26)	0,049	NC	
	CT/TT	1,4 (0,25-7,83)	0,700	0,6 (0,20-1,75)	0,346	2,06 (0,67-6,17)	0,211	1,71 (0,51-5,77)	0,389	NC	
R ² Nagelkerke CC		0,35		0,41		0,24		0,32		NC	
R ² Nagelkerke CT/TT		0,32		0,21		0,24		0,22		NC	

NC: No calculable. *: Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-4; ** Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-12; *** Análisis realizado con la MG de las Cp de pegIFN-α 2a entre semanas 1-48.



DISCUSIÓN

En los últimos años hemos asistido a avances considerables en el tratamiento de la hepatitis crónica y cirrosis producidas por el VHC, consiguiendo tasas de RVS, sinónimo de erradicación viral, superiores al 80% en casos de genotipos 2 y 3 y del 45% en los casos con genotipos 1 y 4 tras la asociación de pegIFN- α y Rbv en pacientes mono infectados por VHC. A pesar de los indudables beneficios de dicho tratamiento, hay que admitir que es relativamente complejo y que los enfermos que inician este tratamiento se ven obligados a luchar en numerosas ocasiones con fuertes y frecuentes efectos adversos que les obligan a disminuir, abandonar e, incluso, suspender dosis, comprometiendo aún más su eficacia y con ello el coste económico ^{150, 189}.

La coinfección por VIH/VHC altera el curso de la enfermedad por VHC, puesto que ambos comprometen a la vez al sistema inmunológico del huésped y agravan así la progresión de la enfermedad hepática hasta cirrosis y/o hepatocarcinoma. Estos pacientes también se benefician del tratamiento antes mencionado, aunque en ellos las tasas de RVS se reducen por causas no bien conocidas hasta un 50-60% en casos de genotipos 2 ó 3 y un 30-35% para los genotipos 1 ó 4. En nuestra cohorte, la tasa global alcanzada de RVS fue del 37,7 % (OT) y del 33,7 (ITT), siendo las tasas del 37,4% para G-1 y 38,5% para G-4 (OT) y del 30,5% para G-1 y 32,6% para G-4 (ITT), respectivamente. La mayoría de estos pacientes se encuentran bajo un tratamiento antirretroviral estable, lo que aumenta la complejidad del tratamiento debido a las posibles interacciones medicamentosas y los efectos adversos propios del pegIFN- α y Rbv. Por todo ello, es de especial interés y prioridad encontrar potentes factores predictivos de respuesta al tratamiento, entre los que cobran particular importancia aquellos que pudieran ser modificables con el fin de mejorar su eficacia, especialmente en aquellos pacientes que bien por factores propios o del virus tengan un peor pronóstico en relación a la respuesta al tratamiento. De esta forma, conseguiríamos evitar la aparición de efectos adversos innecesarios, así como el inicio del tratamiento en pacientes con una mayor predisposición para fracasar, mejorando la relación coste/eficacia o efectividad.

En este estudio, nos hemos centrado fundamentalmente en el papel de las concentraciones plasmáticas (C_p) de ambos fármacos, pegIFN- α 2a y Rbv. Si existiese alguna asociación entre las C_p y la respuesta viral, estos factores serían los más fáciles de modificar con el fin de obtener la mayor eficacia posible.

Varios estudios han evaluado la relación entre los niveles de pegIFN- α (principalmente 2b, aunque también mezclando pacientes que recibieron pegIFN- α 2a o incluso interferón no pegilado- α 2b) con la RVS en pacientes mono- y coinfectados por VIH/VHC. Sin embargo, el limitado número de pacientes incluidos en cada estudio, la heterogeneidad racial de los pacientes y genotipos del VHC, así como las diferentes técnicas empleadas para la determinación de las concentraciones plasmáticas de ambos fármacos (mediante ELISA o bioensayos), dificultan el camino para llegar a conclusiones sólidas^{185, 222-225}. Un estudio adicional evaluó las C_p de pegIFN- α 2a en 29 pacientes infectados por VHC genotipo 1, mostrando claras diferencias durante las 12 primeras semanas de tratamiento de dichas C_p entre aquellos pacientes respondedores y no respondedores (30,77 vs. 15,53 pg/ml), aunque sin alcanzar la significación estadística, probablemente debido al pequeño tamaño de la cohorte analizada²²⁶. Del mismo modo, en el año 2008, demostramos en un estudio con un menor número de pacientes coinfectados por VIH/VHC G-1 y 4 que la probabilidad de alcanzar una RVS era hasta cuatro veces mayor en aquellos pacientes que presentaban niveles de pegIFN- α 2a elevados¹⁸⁹.

Desde el descubrimiento de la influencia de ciertos polimorfismos localizados en el gen de la IL28B en la RVS, se ha avanzado enormemente en la identificación de pacientes con un perfil genético favorecedor de la respuesta al tratamiento estándar basado en pegIFN- α 2a y ribavirina tanto en mono- como coinfectados, observándose dicha asociación tan sólo en aquellos pacientes infectados por VHC G-1 y/o 4. A pesar de ello, seguimos encontrándonos un alto porcentaje de pacientes no respondedores al tratamiento, para los cuales aún quedan por conocer las causas que podrían explicar este hecho.

En nuestro estudio, nos hemos centrado en investigar qué papel juegan las concentraciones plasmáticas de ambos fármacos en pacientes coinfectados por VIH/VHC G-1 y 4, conociendo el genotipo de la IL28B de dichos pacientes, así como el impacto que tienen estas C_p en base a los diferentes perfiles genéticos de la IL28B (CC y CT/TT).

EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON PEGIFN-α 2A Y RIBAVIRINA

Hemos analizado prospectivamente una cohorte de 174 pacientes, donde predominan pacientes infectados por G-1 (75,3%), genotipo de mayor prevalencia en nuestro país y con una menor tasa de RVS comparado con el resto de los genotipos. Los resultados observados en nuestro estudio coinciden con los hallados en la bibliografía sobre la importancia e influencia del SNP (polimorfismo de un único nucleótido) en el gen de la IL28B en la RVS, donde el 71,4% de los pacientes CC presentaron RVS frente a un 21% No-CC ($p < 0,001$). Sin embargo, este efecto pareció ser aún más pronunciado en el grupo de pacientes coinfectados por G-4 del VHC, donde nos encontramos que el 100% de los pacientes con genotipo CC de la IL28B alcanzaron RVS (RVS: 62,5% CC vs. 24,6% No-CC en G-1 y 100% CC vs. 12,5% No-CC en G-4, respectivamente). A su vez, observamos que un 72,5 % de los pacientes con G-1 presentaban viremias de VHC basales > 800.000 UI/ml frente a un 30,2% en G-4 ($p < 0,001$) e, interesantemente, que todos los pacientes CC con G-4 del VHC presentaron viremias de VHC basales inferiores a 800.000 UI/ml, factor estrechamente relacionado con la respuesta. Estos hallazgos nos llevaron a analizar la cohorte en estudio en función al genotipo del VHC por separado, estudiándose el efecto de la IL28B y las C_p de pegIFN-α 2a y Rbv en los pacientes coinfectados por G-1 independientemente de los coinfectados por G-4.

Hasta ahora, la mayoría de los ensayos clínicos han estudiado en conjunto ambos genotipos virales (1 y 4), siendo éstos los más difíciles de tratar por su mayor resistencia a interferón y ribavirina, asumiéndose el mismo comportamiento virológico de ambos genotipos en relación a la respuesta al tratamiento^{210, 229-231}. De ahí que existan pocos datos sobre el tratamiento en

pacientes coinfectados por VIH/VHC G-4, también debido en parte a su baja prevalencia en Europa. Un estudio retrospectivo realizó un análisis de 75 pacientes VIH/VHC G-4 incluidos en dos ensayos clínicos distintos: PRESCO (España) y ROMANCE (Italia), llegando a la conclusión de que a este grupo de pacientes se le debería tratar bajo las mismas condiciones que a los G-1 ²³². Por el contrario, un estudio reciente, compuesto por una cohorte mucho más amplia de pacientes VIH/VHC (124 pacientes G-4 y 453 pacientes G-1), compararon la eficacia del tratamiento en ambos genotipos, incluyendo el genotipo de la IL28B, encontrando tasas de RVS superiores en G-4 (G-4: 31,4% vs. G-1: 22,7%, $p= 0,046$) ²³³. En nuestra cohorte, no hayamos esta diferencia en las tasas de respuestas al tratamiento entre ambos genotipos del VHC, si bien, a pesar de contar con un número muy limitado de pacientes con G-4 del VHC, descubrimos que el genotipo favorable del polimorfismo de la IL28 (CC) estaba fuertemente asociado a la presencia de viremias basales bajas. Por otra parte, en los pacientes con genotipo CT ó TT, en el análisis bivariante, no encontramos ningún factor asociado a las respuestas virales a lo largo del tratamiento. Dado el pequeño tamaño de la muestra (48 pacientes) y que el 100% de los pacientes con un genotipo CC de la IL28B presentaban viremias basales inferiores a 800.000 UI/ml, no pudimos diseñar un modelo predictivo de respuesta en pacientes con G-4.

FARMACOCINÉTICA DE PEGIFN- α 2A Y RIBAVIRINA Y EFICACIA DEL TRATAMIENTO

Al analizar el grupo de pacientes infectados por el G-1 del VHC, y tras el diseño de dos modelos predictivos para las diferentes tasas de respuesta al tratamiento con pegIFN- α 2a y ribavirina, uno para el genotipo CC y otro para el genotipo No-CC de la IL28B, observamos que en los pacientes portadores de un genotipo CC las concentraciones plasmáticas de ambos fármacos no estaban asociadas a una mayor RVS, siendo los únicos factores predictores de una mayor tasa de RVS un menor estadio de fibrosis hepática y dosis de Rbv superiores a 15,4 mg/kg a lo largo de todo el tratamiento. Sin embargo, en el grupo de pacientes con genotipo

desfavorable No-CC de la IL28B, alcanzar niveles plasmáticos tanto de pegIFN- α 2a como de ribavirina elevados (> 3400 pg/ml y $> 1,6$ μ g/ml, respectivamente) fueron los únicos factores predictores de alcanzar tasas de RVS de hasta cuatro veces más que aquellos con C_p bajas, siendo la tasa de RVS del 50% en aquellos pacientes con C_p de ambos fármacos superiores, comparado con una tasa del 0% de RVS en aquellos pacientes No-CC cuyos niveles fueron inferiores (**Figura 31**).

El hecho de que alcanzar una RVS sea independiente de las concentraciones plasmáticas de ambos fármacos en aquellos pacientes portadores de un genotipo CC de la IL28B, podría explicarse porque estos pacientes presenten una sensibilidad a interferón exógeno más elevada y, por consiguiente, unos niveles de fármacos requeridos para alcanzar una respuesta virológica satisfactoria inferiores. Además, se ha demostrado que este grupo de pacientes presentan una baja expresión intrahepática de genes estimuladores de interferón antes del tratamiento y una mayor y sostenida inducción de estos genes tras la administración de interferón en comparación con aquellos pacientes portadores de un genotipo CT/TT de la IL28B²³⁴⁻²³⁸.

Algunos estudios han evaluado el efecto de dosis superiores de pegIFN- α durante periodos de inducción de 4 a 12 semanas en pacientes *naïve* al tratamiento del VHC e incluso en el retratamiento de pacientes no respondedores a un tratamiento previo basado en interferón, observándose una mayor caída del ARN-VHC y una mayor tasa de RVT durante las doce primeras semanas de tratamiento, aunque no mostraron mejores tasas de RVS^{221, 239-244}. Este hecho podría deberse a la disminución de las dosis tras el periodo de inducción, lo cual revertiría el efecto inicial de la respuesta viral y explicaría la importancia de los niveles alcanzados de pegIFN en la respuesta al tratamiento.

En relación a las concentraciones plasmáticas de ribavirina, en nuestra cohorte de pacientes con G-1 del VHC, nuestros resultados muestran que durante las 12 primeras semanas, niveles superiores a la MG están asociados a un mayor aclaramiento del virus y, por consiguiente, a una mayor probabilidad de alcanzar una RVTc, independientemente del genotipo de la IL28B.

Resultando de especial interés el hallazgo observado en el grupo de pacientes portadores de un genotipo de la IL28B desfavorable (No-CC), donde niveles de ribavirina superiores a 1,6 $\mu\text{g/ml}$ se asociaron con una cinética viral más rápida durante las 12 primeras semanas, reflejándose en una mayor tasa de RFT y RVS. Recientemente, nuestros resultados se han visto confirmados por un estudio realizado en un grupo más pequeño de pacientes, dónde alcanzar niveles de ribavirina superiores a 1,8 $\mu\text{g/ml}$ durante las primeras cuatro semanas mejora la probabilidad de alcanzar una RVTc²⁵⁵.

Los resultados contradictorios sobre el papel de las C_p de Rbv en la RVS que podemos encontrar en la literatura podrían explicarse, en parte, por los siguientes motivos:

- En primer lugar, el tiempo transcurrido desde la toma de Rbv hasta la extracción de la muestra no está estandarizado. De hecho, en la mayoría de los estudios se han analizado las C_p de Rbv tras un tiempo no específico después de la última dosis, asumiendo que las C_p de Rbv en plasma son bastante estables dada su prolongada vida media durante la fase de excreción final o fase γ . Sin embargo, el proceso de eliminación plasmática de la ribavirina tiene lugar en dos fases, una primera fase, o fase β , con una vida media relativamente corta de entre 2 a 4 horas, con cambios importantes en los niveles durante las 8-14 horas tras la dosis, y una segunda fase, o fase γ , de hasta 164 horas^{180, 197, 245}.

- En segundo lugar, se desconoce si las C_p de ribavirina en muestras recogidas antes de la próxima dosis o, incluso, si C_{\min} se correlacionan con la exposición al fármaco durante el intervalo de entre dosis o con los niveles intracelulares de ribavirina.

- Por último, es importante resaltar, que la mayoría de estos estudios se llevaron a cabo antes del conocimiento de la influencia de los SNPs en el gen de la IL28B en la respuesta al tratamiento basado en pegIFN- α y ribavirina. Por tanto, nuestro estudio es el único hasta el momento que ha evaluado el impacto en la RVS de las C_p de pegIFN- α 2a y Rbv conociendo a su vez el genotipo de la IL28B.

Durante el desarrollo clínico tanto de boceprevir como telaprevir, las tasas de RVS fueron significativamente superiores en los grupos de pacientes que recibieron dosis completas de ribavirina comparados con aquellos grupos a los que no se les incluyó ribavirina durante todo el tratamiento²⁴⁶ o en aquellos a los que recibieron dosis más bajas de ribavirina²⁴⁷. Por otro lado, se ha demostrado que la optimización de las dosis de Rbv durante la “lead-in phase” aumenta el porcentaje de pacientes con al menos una caída viral de 1 log₁₀ ARN-VHC en semana 4 y por tanto podría mejorar las tasas de respuesta final en aquellos pacientes que inicien triple terapia con boceprevir²⁴⁸.

En cuanto a la relación entre la dosis de Rbv ajustada al peso y los niveles plasmáticos alcanzados de ésta, hemos observado una débil correlación. Este hecho apoyaría estudios previos que cuestionan la actual recomendación de administrar la dosis de ribavirina ajustada al peso^{182, 183, 249, 250}. A pesar de ello, cabría tener en cuenta que las C_{min} de Rbv probablemente sean una medida imperfecta de la exposición al fármaco en un intervalo de dosis dado, puesto que las correlaciones entre las C_{min} y dosis de Rbv aún son desconocidas.

CINÉTICA VIRAL

En relación a la cinética viral y coincidiendo con lo publicado hasta ahora, en nuestra cohorte también observamos el fuerte efecto que ejerce el SNP de la IL28B en la caída viral, el cual determina en gran medida la cinética viral temprana en las doce primeras semanas de tratamiento^{251, 252}. Sin embargo, resulta de especial interés comentar que al analizar la cinética viral en función al genotipo de la IL28B entre los diferentes subtipos del G-1 (1a y 1b), a pesar del limitado número de pacientes obtenidos en cada grupo, el efecto del genotipo protector CC sobre la caída viral resultó estar más pronunciado en el subtipo 1b que en el 1a, en todos los puntos del tratamiento durante las doce primeras semanas ($p < 0,025$). Este efecto de la IL28 sobre los diferentes subtipos coincide con los resultados recientemente publicados por Rallón *et al.*²⁵³, donde muestran una caída viral más pronunciada en los subtipos 1b.

Además, a pesar de que en nuestro estudio tan solo encontramos diferencias entre ambos subtipos en la RVR, probablemente por el escaso número de pacientes, en el trabajo citado anteriormente, demuestran mayores tasas de respuesta en subtipos 1b que en 1a. Esta información podría ser relevante y de gran utilidad en un futuro próximo, con el uso de los nuevos fármacos antivirales de acción directa contra el VHC, donde se ha encontrado una mayor tasa de mutaciones de resistencias en los subtipos 1a.

En relación al papel que juegan las C_p tanto de pegIFN- α 2a como Rbv en la cinética viral en pacientes infectados por G-1 del VHC, observamos que la cinética viral temprana, a las 12 semanas, está influenciada por las C_p de ambos fármacos. Tal y como demuestran nuestros resultados, en aquellos pacientes con C_p de pegIFN- α 2a y ribavirina superiores a la mediana (3400 pg/ml de pegIFN- α 2a y 1,6 μ g/ml de Rbv), existe una mayor caída de la viremia a las 12 semanas, hallándose una diferencia más pronunciada en el grupo de pacientes portadores del genotipo desfavorable No-CC. Con este hecho, se podría explicar la implicación de los niveles de ambos fármacos en la RVS en pacientes con genotipo No-CC de la IL28B y coinfectados por VIH y G-1 del VHC, para los cuales hasta el momento no se conocían otras posibles variables influyentes en la respuesta al tratamiento de la hepatitis C. No obstante, esta relación observada entre la cinética viral y las C_p de ambos fármacos, no se encontró al analizar independientemente aquellos pacientes coinfectados por VIH y genotipo 4 del VHC.

Actualmente, en países desarrollados, los pacientes coinfectados por VIH/VHC-1 tienen la oportunidad de iniciar tratamiento añadiendo al tratamiento estándar hasta ahora (pegIFN- α 2a más Rbv), un inhibidor de la proteasa del VHC (telaprevir o boceprevir). No obstante, a pesar de los mejores resultados demostrados en la era de estas nuevas moléculas, la eficacia de esta triple terapia continúa estando lejos de lo deseable, especialmente en los pacientes coinfectados por VIH y VHC, ya que el eje central de la terapia sigue basándose en la actividad de pegIFN- α y ribavirina, influenciada a su vez por los polimorfismos de la IL28B.

A pesar de los mejores resultados obtenidos con esta triple terapia tanto en pacientes mono- como coinfectados por VIH/VHC, es importante resaltar las limitaciones que estos

nuevos fármacos presentan en la coinfección por el VIH, concretamente en relación al perfil de seguridad de estos fármacos en cuanto a una mayor tasa de efectos adversos e interacciones farmacológicas con los fármacos antirretrovirales, especialmente con los inhibidores de la proteasa del VIH y no análogos de la retrotranscriptasa inversa. Todo ello conlleva una selección exclusiva de pacientes infectados por VIH, a los cuales tan sólo se les podría administrar un inhibidor de la proteasa del VHC para el tratamiento de la hepatitis C teniendo en cuenta su historia de tratamiento antirretroviral, genotipo del VIH y tolerancia previa a estos fármacos.

Para ello, actualmente se están llevando a cabo varios ensayos clínicos en fase III (identificadores en “ClinicalTrials.gov”: NCT01335529, NCT01482767, NCT01513941 y NCT01467479) para evaluar la seguridad y eficacia de estos regímenes tanto con boceprevir como telaprevir en pacientes coinfectados por VIH y VHC, para los cuales aún son necesarios nuevos datos que aseguren su uso en determinados pacientes.

Nuestros resultados en este estudio podrían tener importantes implicaciones clínicas en la nueva era de la triple terapia, especialmente en aquellos pacientes portadores del alelo T en el SNP rs129679860 del gen de la IL28B, los cuales, incluso con los inhibidores de la proteasa actuales, las tasas de RVS continúan siendo inferiores ²⁵⁴. Boceprevir suele utilizarse precedido de una fase inicial de inducción basada exclusivamente en pegIFN- α y Rbv durante las primeras 4 semanas de tratamiento, estando las tasas de RVS estrechamente relacionadas con el descenso de la viremia durante dichas 4 semanas. En cambio, telaprevir se utiliza combinado con pegIFN- α y Rbv durante las 12 primeras semanas de tratamiento continuándose con biterapia de pegIFN- α y Rbv el resto del tratamiento. Sería de gran interés conocer si nuestros resultados también son aplicables durante la utilización de triple terapia con boceprevir o telaprevir y si las tasas de RVS continúan estando relacionadas con las Cp de pegIFN- α 2a y Rbv en pacientes no respondedores a un tratamiento previo y/o con genotipo desfavorable de la IL28B.

CONCLUSIONES

- ♣ Concentraciones plasmáticas elevadas de pegIFN- α 2a y ribavirina están asociadas con una mayor probabilidad de alcanzar RVS en pacientes portadores del genotipo desfavorable CT/TT en el gen de la IL28B coinfectados por VIH y genotipo 1 del VHC.
- ♣ Las concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y ribavirina no estuvieron asociadas con la RVS en pacientes portadores de un genotipo CC en el gen de la IL28B coinfectados por VIH y genotipo 1 del VHC.
- ♣ Todos los pacientes con genotipo 4 del VHC, un genotipo CC de IL28B y con viremias basales de VHC bajas alcanzaron RVS.
- ♣ No encontramos relación entre las concentraciones plasmáticas de ribavirina y la dosis de ésta administrada en función al peso.
- ♣ Una cinética viral más rápida está asociada a concentraciones plasmáticas de pegIFN- α 2a y ribavirina superiores en pacientes portadores del genotipo desfavorable CT/TT en el gen de la IL28B coinfectados por VIH y genotipo 1 del VHC.
- ♣ El polimorfismo genético de la IL28B ejerce un mayor efecto en la cinética viral en los pacientes coinfectados por VIH y portadores del subtipo 1b del VHC durante las doce primeras semanas de tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tellinghuisen TL, Evans MJ, von Hahn T, You S, Rice CM. Studying hepatitis C virus: making the best of a bad virus. *J Virol* 2007;81:8853-67.
2. Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology* 2004;39:5-19.
3. Shimizu YK, Feinstone SM, Kohara M, Purcell RH, Yoshikura H. Hepatitis C virus: detection of intracellular virus particles by electron microscopy. *Hepatology* 1996;23:205-9.
4. Andre P, Komurian-Pradel F, Deforges S, Perret M, Berland JL, Sodoyer M, Pol S, Brechot C, Paranhos-Baccala G, Lotteau V. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. *J Virol* 2002;76:6919-28.
5. Poenisch M, Bartenschlager R. New insights into structure and replication of the hepatitis C virus and clinical implications. *Semin Liver Dis* 2010;30:333-47.
6. Choo QL, Richman KH, Han JH, Berger K, Lee C, Dong C, Gallegos C, Coit D, Medina-Selby R, Barr PJ, et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:2451-5.
7. Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Med Okayama* 2001;55:133-59.
8. Friebe P, Lohmann V, Krieger N, Bartenschlager R. Sequences in the 5' nontranslated region of hepatitis C virus required for RNA replication. *J Virol* 2001;75:12047-57.
9. Bukh J, Purcell RH, Miller RH. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:4942-6.
10. Kamoshita N, Tsukiyama-Kohara K, Kohara M, Nomoto A. Genetic analysis of internal ribosomal entry site on hepatitis C virus RNA: implication for involvement of the highly ordered structure and cell type-specific transacting factors. *Virology* 1997;233:9-18.
11. Yamada N, Tanihara K, Takada A, Yorihuzi T, Tsutsumi M, Shimomura H, Tsuji T, Date T. Genetic organization and diversity of the 3' noncoding region of the hepatitis C virus genome. *Virology* 1996;223:255-61.
12. Tanaka T, Kato N, Cho MJ, Sugiyama K, Shimotohno K. Structure of the 3' terminus of the hepatitis C virus genome. *J Virol* 1996;70:3307-12.

13. Ait-Goughoulte M, Hourieux C, Patient R, Trassard S, Brand D, Roingard P. Core protein cleavage by signal peptide peptidase is required for hepatitis C virus-like particle assembly. *J Gen Virol* 2006;87:855-60.
14. Santolini E, Migliaccio G, La Monica N. Biosynthesis and biochemical properties of the hepatitis C virus core protein. *J Virol* 1994;68:3631-41.
15. McLauchlan J, Lemberg MK, Hope G, Martoglio B. Intramembrane proteolysis promotes trafficking of hepatitis C virus core protein to lipid droplets. *EMBO J* 2002;21:3980-8.
16. Yi M, Kaneko S, Yu DY, Murakami S. Hepatitis C virus envelope proteins bind lactoferrin. *J Virol* 1997;71:5997-6002.
17. Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:12766-71.
18. Wunschmann S, Medh JD, Klinzmann D, Schmidt WN, Stapleton JT. Characterization of hepatitis C virus (HCV) and HCV E2 interactions with CD81 and the low-density lipoprotein receptor. *J Virol* 2000;74:10055-62.
19. Haqshenas G, Mackenzie JM, Dong X, Gowans EJ. Hepatitis C virus p7 protein is localized in the endoplasmic reticulum when it is encoded by a replication-competent genome. *J Gen Virol* 2007;88:134-42.
20. Pavlovic D, Neville DC, Argaud O, Blumberg B, Dwek RA, Fischer WB, Zitzmann N. The hepatitis C virus p7 protein forms an ion channel that is inhibited by long-alkyl-chain iminosugar derivatives. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:6104-8.
21. Griffin SD, Beales LP, Clarke DS, Worsfold O, Evans SD, Jaeger J, Harris MP, Rowlands DJ. The p7 protein of hepatitis C virus forms an ion channel that is blocked by the antiviral drug, Amantadine. *FEBS Lett* 2003;535:34-8.
22. Sakamuro D, Furukawa T, Takegami T. Hepatitis C virus nonstructural protein NS3 transforms NIH 3T3 cells. *J Virol* 1995;69:3893-6.
23. Bartenschlager R, Lohmann V, Wilkinson T, Koch JO. Complex formation between the NS3 serine-type proteinase of the hepatitis C virus and NS4A and its importance for polyprotein maturation. *J Virol* 1995;69:7519-28.
24. Tanji Y, Hijikata M, Satoh S, Kaneko T, Shimotohno K. Hepatitis C virus-encoded nonstructural protein NS4A has versatile functions in viral protein processing. *J Virol* 1995;69:1575-81.
25. Wolk B, Sansonno D, Krausslich HG, Dammacco F, Rice CM, Blum HE, Moradpour D. Subcellular localization, stability, and trans-cleavage competence of the hepatitis C virus NS3-NS4A complex expressed in tetracycline-regulated cell lines. *J Virol* 2000;74:2293-304.

26. Elazar M, Liu P, Rice CM, Glenn JS. An N-terminal amphipathic helix in hepatitis C virus (HCV) NS4B mediates membrane association, correct localization of replication complex proteins, and HCV RNA replication. *J Virol* 2004;78:11393-400.
27. Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, Ogura Y, Izumi N, Marumo F, Sato C. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996;334:77-81.
28. Witherell GW, Beineke P. Statistical analysis of combined substitutions in nonstructural 5A region of hepatitis C virus and interferon response. *J Med Virol* 2001;63:8-16.
29. Gale MJ, Jr., Korth MJ, Tang NM, Tan SL, Hopkins DA, Dever TE, Polyak SJ, Gretch DR, Katze MG. Evidence that hepatitis C virus resistance to interferon is mediated through repression of the PKR protein kinase by the nonstructural 5A protein. *Virology* 1997;230:217-27.
30. Schmidt-Mende J, Bieck E, Hugle T, Penin F, Rice CM, Blum HE, Moradpour D. Determinants for membrane association of the hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *J Biol Chem* 2001;276:44052-63.
31. Mauss B, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer. *Hepatology*. Flying, 2012.
32. Germe R, Crance JM, Garin D, Guimet J, Lortat-Jacob H, Ruigrok RW, Zarski JP, Drouet E. Heparan sulfate-mediated binding of infectious dengue virus type 2 and yellow fever virus. *Virology* 2002;292:162-8.
33. Barth H, Schafer C, Adah MI, Zhang F, Linhardt RJ, Toyoda H, Kinoshita-Toyoda A, Toida T, Van Kuppevelt TH, Depla E, Von Weizsacker F, Blum HE, Baumert TF. Cellular binding of hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 requires cell surface heparan sulfate. *J Biol Chem* 2003;278:41003-12.
34. Thomssen R, Bonk S, Propfe C, Heermann KH, Kochel HG, Uy A. Association of hepatitis C virus in human sera with beta-lipoprotein. *Med Microbiol Immunol* 1992;181:293-300.
35. Thomssen R, Bonk S, Thiele A. Density heterogeneities of hepatitis C virus in human sera due to the binding of beta-lipoproteins and immunoglobulins. *Med Microbiol Immunol* 1993;182:329-34.
36. Acton SL, Scherer PE, Lodish HF, Krieger M. Expression cloning of SR-BI, a CD36-related class B scavenger receptor. *J Biol Chem* 1994;269:21003-9.
37. Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science* 1996;271:518-20.
38. Kapadia SB, Barth H, Baumert T, McKeating JA, Chisari FV. Initiation of hepatitis C virus infection is dependent on cholesterol and cooperativity between CD81 and scavenger receptor B type I. *J Virol* 2007;81:374-83.

39. Zeisel MB, Koutsoudakis G, Schnober EK, Haberstroh A, Blum HE, Cosset FL, Wakita T, Jaeck D, Doffoel M, Royer C, Soulier E, Schvoerer E, Schuster C, Stoll-Keller F, Bartenschlager R, Pietschmann T, Barth H, Baumert TF. Scavenger receptor class B type I is a key host factor for hepatitis C virus infection required for an entry step closely linked to CD81. *Hepatology* 2007;46:1722-31.
40. Ploss A, Evans MJ, Gaysinskaya VA, Panis M, You H, de Jong YP, Rice CM. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 2009;457:882-6.
41. Quer J, Cos J, Murillo P, Esteban JI, Esteban R, Guardia J. Improved attachment of natural HCV isolate to Daudi cells upon elimination of immune complexes and close pH control. *Intervirology* 2005;48:285-91.
42. Brass V, Moradpour D, Blum HE. Molecular virology of hepatitis C virus (HCV): 2006 update. *Int J Med Sci* 2006;3:29-34.
43. Lukavsky PJ, Otto GA, Lancaster AM, Sarnow P, Puglisi JD. Structures of two RNA domains essential for hepatitis C virus internal ribosome entry site function. *Nat Struct Biol* 2000;7:1105-10.
44. Otto GA, Puglisi JD. The pathway of HCV IRES-mediated translation initiation. *Cell* 2004;119:369-80.
45. Behrens SE, Tomei L, De Francesco R. Identification and properties of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *EMBO J* 1996;15:12-22.
46. Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, Zhong J, Liao W, Chisari FV. Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion. *J Virol* 2008;82:2120-9.
47. Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, Watashi K, Hishiki T, Zayas M, Bartenschlager R, Wakita T, Hijikata M, Shimotohno K. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol* 2007;9:1089-97.
48. Shavinskaya A, Boulant S, Penin F, McLauchlan J, Bartenschlager R. The lipid droplet binding domain of hepatitis C virus core protein is a major determinant for efficient virus assembly. *J Biol Chem* 2007;282:37158-69.
49. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ, Perelson AS. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science* 1998;282:103-7.
50. Kato N, Ootsuyama Y, Tanaka T, Nakagawa M, Nakazawa T, Muraiso K, Ohkoshi S, Hijikata M, Shimotohno K. Marked sequence diversity in the putative envelope proteins of hepatitis C viruses. *Virus Res* 1992;22:107-23.
51. Martell M, Esteban JI, Quer J, Genesca J, Weiner A, Esteban R, Guardia J, Gomez J. Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. *J Virol* 1992;66:3225-9.

52. Cox AL, Mosbrugger T, Mao Q, Liu Z, Wang XH, Yang HC, Sidney J, Sette A, Pardoll D, Thomas DL, Ray SC. Cellular immune selection with hepatitis C virus persistence in humans. *J Exp Med* 2005;201:1741-52.
53. Weiner A, Erickson AL, Kansopon J, Crawford K, Muchmore E, Hughes AL, Houghton M, Walker CM. Persistent hepatitis C virus infection in a chimpanzee is associated with emergence of a cytotoxic T lymphocyte escape variant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:2755-9.
54. Kurosaki M, Enomoto N, Marumo F, Sato C. Rapid sequence variation of the hypervariable region of hepatitis C virus during the course of chronic infection. *Hepatology* 1993;18:1293-9.
55. Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, Beall E, Yap PL, Kolberg J, Urdea MS. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993;74 (Pt 11):2391-9.
56. Pybus OG, Charleston MA, Gupta S, Rambaut A, Holmes EC, Harvey PH. The epidemic behavior of the hepatitis C virus. *Science* 2001;292:2323-5.
57. Bukh J, Purcell RH, Miller RH. Sequence analysis of the core gene of 14 hepatitis C virus genotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:8239-43.
58. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995;15:41-63.
59. Torres-Puente M, Cuevas JM, Jimenez-Hernandez N, Bracho MA, Garcia-Robles I, Wrobel B, Carnicer F, Del Olmo J, Ortega E, Moya A, Gonzalez-Candelas F. Genetic variability in hepatitis C virus and its role in antiviral treatment response. *J Viral Hepat* 2008;15:188-99.
60. Washenberger CL, Han JQ, Kechris KJ, Jha BK, Silverman RH, Barton DJ. Hepatitis C virus RNA: dinucleotide frequencies and cleavage by RNase L. *Virus Res* 2007;130:85-95.
61. Pawlotsky JM, Tsakiris L, Roudot-Thoraval F, Pellet C, Stuyver L, Duval J, Dhumeaux D. Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J Infect Dis* 1995;171:1607-10.
62. Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev* 2000;13:223-35.
63. Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus--15 years on. *J Gen Virol* 2004;85:3173-88.
64. WHO. World Health Organization. Hepatitis C, 2012.
65. Szabo E, Lotz G, Paska C, Kiss A, Schaff Z. Viral hepatitis: new data on hepatitis C infection. *Pathol Oncol Res* 2003;9:215-21.
66. Boesecke C, Vogel M. HIV and hepatitis C co-infection: acute HCV therapy. *Curr Opin HIV AIDS* 2011;6:459-64.

67. Wasley A, Grytdal S, Gallagher K. Surveillance for acute viral hepatitis--United States, 2006. *MMWR Surveill Summ* 2008;57:1-24.
68. Laperche S. Blood safety and nucleic acid testing in Europe. *Euro Surveill* 2005;10:3-4.
69. Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000;132:296-305.
70. Farci P, Alter HJ, Wong D, Miller RH, Shih JW, Jett B, Purcell RH. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1991;325:98-104.
71. Shimizu YK, Weiner AJ, Rosenblatt J, Wong DC, Shapiro M, Popkin T, Houghton M, Alter HJ, Purcell RH. Early events in hepatitis C virus infection of chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:6441-4.
72. Mosley JW, Operskalski EA, Tobler LH, Andrews WW, Phelps B, Dockter J, Giachetti C, Busch MP. Viral and host factors in early hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2005;42:86-92.
73. Sulkowski MS, Ray SC, Thomas DL. Needlestick transmission of hepatitis C. *JAMA* 2002;287:2406-13.
74. Cox AL, Netski DM, Mosbrugger T, Sherman SG, Strathdee S, Ompad D, Vlahov D, Chien D, Shyamala V, Ray SC, Thomas DL. Prospective evaluation of community-acquired acute-phase hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis* 2005;40:951-8.
75. Villano SA, Vlahov D, Nelson KE, Cohn S, Thomas DL. Persistence of viremia and the importance of long-term follow-up after acute hepatitis C infection. *Hepatology* 1999;29:908-14.
76. Mosley JW, Operskalski EA, Tobler LH, Buskell ZJ, Andrews WW, Phelps B, Dockter J, Giachetti C, Seeff LB, Busch MP. The course of hepatitis C viraemia in transfusion recipients prior to availability of antiviral therapy. *J Viral Hepat* 2008;15:120-8.
77. Thimme R, Oldach D, Chang KM, Steiger C, Ray SC, Chisari FV. Determinants of viral clearance and persistence during acute hepatitis C virus infection. *J Exp Med* 2001;194:1395-406.
78. Prince AM, Brotman B, Inchauspe G, Pascual D, Nasoff M, Hosein B, Wang CY. Patterns and prevalence of hepatitis C virus infection in posttransfusion non-A, non-B hepatitis. *J Infect Dis* 1993;167:1296-301.
79. Erickson AL, Kimura Y, Igarashi S, Eichelberger J, Houghton M, Sidney J, McKinney D, Sette A, Hughes AL, Walker CM. The outcome of hepatitis C virus infection is predicted by escape mutations in epitopes targeted by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity* 2001;15:883-95.
80. Takaki A, Wiese M, Maertens G, Depla E, Seifert U, Liebetrau A, Miller JL, Manns MP, Rehermann B. Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. *Nat Med* 2000;6:578-82.

81. Chang KM, Thimme R, Melpolder JJ, Oldach D, Pemberton J, Moorhead-Loudis J, McHutchison JG, Alter HJ, Chisari FV. Differential CD4(+) and CD8(+) T-cell responsiveness in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2001;33:267-76.
82. Gruener NH, Lechner F, Jung MC, Diepolder H, Gerlach T, Lauer G, Walker B, Sullivan J, Phillips R, Pape GR, Klenerman P. Sustained dysfunction of antiviral CD8+ T lymphocytes after infection with hepatitis C virus. *J Virol* 2001;75:5550-8.
83. Nelson DR, Marousis CG, Davis GL, Rice CM, Wong J, Houghton M, Lau JY. The role of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C. *J Immunol* 1997;158:1473-81.
84. Rutebemberwa A, Ray SC, Astemborski J, Levine J, Liu L, Dowd KA, Clute S, Wang C, Korman A, Sette A, Sidney J, Pardoll DM, Cox AL. High-programmed death-1 levels on hepatitis C virus-specific T cells during acute infection are associated with viral persistence and require preservation of cognate antigen during chronic infection. *J Immunol* 2008;181:8215-25.
85. Goodman ZD, Ishak KG. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin Liver Dis* 1995;15:70-81.
86. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, Nevens F, Solinas A, Mura D, Brouwer JT, Thomas H, Njapoum C, Casarin C, Bonetti P, Fuschi P, Basho J, Tocco A, Bhalla A, Galassini R, Noventa F, Schalm SW, Realdi G. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463-72.
87. Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S35-46.
88. Gebo KA, Herlong HF, Torbenson MS, Jenckes MW, Chander G, Ghanem KG, El-Kamary SS, Sulkowski M, Bass EB. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology* 2002;36:S161-72.
89. Massard J, Ratziu V, Thabut D, Moussalli J, Lebray P, Benhamou Y, Poynard T. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006;44:S19-24.
90. Svrtlih N, Jevtovic D, Simonovic J, Delic D, Dokic L, Gvozdenovic E, Boricic I, Nestic Z, Neskovic G, Urban V. Older age at the time of liver biopsy is the important risk factor for advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2007;54:2324-7.
91. Bissell DM. Sex and hepatic fibrosis. *Hepatology* 1999;29:988-9.
92. Sterling RK, Stravitz RT, Luketic VA, Sanyal AJ, Contos MJ, Mills AS, Shiffman ML. A comparison of the spectrum of chronic hepatitis C virus between Caucasians and African Americans. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2:469-73.

93. Hraber P, Kuiken C, Yusim K. Evidence for human leukocyte antigen heterozygote advantage against hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2007;46:1713-21.
94. Gebo K. HIV and hepatitis C. *Hopkins HIV Rep* 2002;14:5-6.
95. Zimmer V, Lammert F. Genetics in liver disease: new concepts. *Curr Opin Gastroenterol* 2011;27:231-9.
96. Jonsson JR, Purdie DM, Clouston AD, Powell EE. Recognition of genetic factors influencing the progression of hepatitis C : potential for personalized therapy. *Mol Diagn Ther* 2008;12:209-18.
97. Eurich D, Boas-Knoop S, Bahra M, Neuhaus R, Somasundaram R, Neuhaus P, Neumann U, Seehofer D. Role of IL28B polymorphism in the development of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma, graft fibrosis, and posttransplant antiviral therapy. *Transplantation* 2012;93:644-9.
98. Tillmann HL, Patel K, Muir AJ, Guy CD, Li JH, Lao XQ, Thompson A, Clark PJ, Gardner SD, McHutchison JG, McCarthy JJ. Beneficial IL28B genotype associated with lower frequency of hepatic steatosis in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2011;55:1195-200.
99. Abe H, Ochi H, Maekawa T, Hayes CN, Tsuge M, Miki D, Mitsui F, Hiraga N, Imamura M, Takahashi S, Ohishi W, Arihiro K, Kubo M, Nakamura Y, Chayama K. Common variation of IL28 affects gamma-GTP levels and inflammation of the liver in chronically infected hepatitis C virus patients. *J Hepatol* 2010;53:439-43.
100. Gitto S, Micco L, Conti F, Andreone P, Bernardi M. Alcohol and viral hepatitis: a mini-review. *Dig Liver Dis* 2009;41:67-70.
101. Pessione F, Ramond MJ, Njapoum C, Duchatelle V, Degott C, Erlinger S, Rueff B, Valla DC, Degos F. Cigarette smoking and hepatic lesions in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001;34:121-5.
102. Ratziu V, Saboury M, Poynard T. Worsening of steatosis and fibrosis progression. *Gut* 2003;52:1386-7.
103. Painsil E, He H, Peters C, Lindenbach BD, Heimer R. Survival of hepatitis C virus in syringes: implication for transmission among injection drug users. *J Infect Dis* 2010;202:984-90.
104. Urbanus AT, van de Laar TJ, Stolte IG, Schinkel J, Heijman T, Coutinho RA, Prins M. Hepatitis C virus infections among HIV-infected men who have sex with men: an expanding epidemic. *AIDS* 2009;23:F1-7.
105. Urbanus AT, van Houdt R, van de Laar TJ, Coutinho RA. Viral hepatitis among men who have sex with men, epidemiology and public health consequences. *Euro Surveill* 2009;14.
106. van de Laar T, Pybus O, Bruisten S, Brown D, Nelson M, Bhagani S, Vogel M, Baumgarten A, Chaix ML, Fisher M, Gotz H, Matthews GV, Neifer S, White P, Rawlinson W, Pol S, Rockstroh J, Coutinho R, Dore GJ, Dusheiko GM, Danta M. Evidence of a large, international network of HCV transmission in HIV-positive men who have sex with men. *Gastroenterology* 2009;136:1609-17.

107. Danta M, Brown D, Bhagani S, Pybus OG, Sabin CA, Nelson M, Fisher M, Johnson AM, Dusheiko GM. Recent epidemic of acute hepatitis C virus in HIV-positive men who have sex with men linked to high-risk sexual behaviours. *AIDS* 2007;21:983-91.
108. Briat A, Dulioust E, Galimand J, Fontaine H, Chaix ML, Letur-Konirsch H, Pol S, Jouannet P, Rouzioux C, Leruez-Ville M. Hepatitis C virus in the semen of men coinfecting with HIV-1: prevalence and origin. *AIDS* 2005;19:1827-35.
109. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009;49:1335-74.
110. Wasmuth HE, Weiskirchen R. Personalized medicine in hepatitis C: from genome-wide association studies to clinical practice. *Hepatology* 2010;51:2223-5.
111. Rockstroh JK, Spengler U. HIV and hepatitis C virus co-infection. *Lancet Infect Dis* 2004;4:437-44.
112. Sulkowski MS. Viral hepatitis and HIV coinfection. *J Hepatol* 2008;48:353-67.
113. Bonnard P, Lescure FX, Amiel C, Guiard-Schmid JB, Callard P, Gharakhanian S, PIALOUX G. Documented rapid course of hepatic fibrosis between two biopsies in patients coinfecting by HIV and HCV despite high CD4 cell count. *J Viral Hepat* 2007;14:806-11.
114. Martinez-Sierra C, Arizcorreta A, Diaz F, Roldan R, Martin-Herrera L, Perez-Guzman E, Giron-Gonzalez JA. Progression of chronic hepatitis C to liver fibrosis and cirrhosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 2003;36:491-8.
115. Gebo KA, Diener-West M, Moore RD. Hospitalization rates differ by hepatitis C status in an urban HIV cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;34:165-73.
116. Merchante N, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, Torre-Cisneros J, Garcia-Garcia JA, Arizcorreta A, Ruiz-Morales J, Cano-Llitas P, Lozano F, Martinez-Sierra C, Macias J, Pineda JA. Survival and prognostic factors of HIV-infected patients with HCV-related end-stage liver disease. *AIDS* 2006;20:49-57.
117. Pineda JA, Romero-Gomez M, Diaz-Garcia F, Giron-Gonzalez JA, Montero JL, Torre-Cisneros J, Andrade RJ, Gonzalez-Serrano M, Aguilar J, Aguilar-Guisado M, Navarro JM, Salmeron J, Caballero-Granado FJ, Garcia-Garcia JA. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology* 2005;41:779-89.
118. Weber R, Sabin CA, Friis-Moller N, Reiss P, El-Sadr WM, Kirk O, Dabis F, Law MG, Pradier C, De Wit S, Akerlund B, Calvo G, Monforte A, Rickenbach M, Ledergerber B, Phillips AN, Lundgren JD. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. *Arch Intern Med* 2006;166:1632-41.

119. Hernandez MD, Sherman KE. HIV/hepatitis C coinfection natural history and disease progression. *Curr Opin HIV AIDS* 2011;6:478-82.
120. Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao X, Astemborski J, Cheng J, Goedert JJ, Vlahov D, Hilgartner M, Cox S, Little AM, Alexander GJ, Cramp ME, O'Brien SJ, Rosenberg WM, Thomas DL, Carrington M. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* 2004;305:872-4.
121. Iannello A, Debbeche O, Samarani S, Ahmad A. Antiviral NK cell responses in HIV infection: II. viral strategies for evasion and lessons for immunotherapy and vaccination. *J Leukoc Biol* 2008;84:27-49.
122. Iannello A, Debbeche O, Samarani S, Ahmad A. Antiviral NK cell responses in HIV infection: I. NK cell receptor genes as determinants of HIV resistance and progression to AIDS. *J Leukoc Biol* 2008;84:1-26.
123. Sajadi MM, Shakeri N, Talwani R, Redfield RR. Hepatitis C infection in HIV-1 natural viral suppressors. *AIDS* 2010;24:1689-95.
124. Rohrbach J, Robinson N, Harcourt G, Hammond E, Gaudieri S, Gorgievski M, Telenti A, Keiser O, Gunthard HF, Hirschel B, Hoffmann M, Bernasconi E, Battegay M, Furrer H, Klenerman P, Rauch A. Cellular immune responses to HCV core increase and HCV RNA levels decrease during successful antiretroviral therapy. *Gut* 2010;59:1252-8.
125. Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1957;147:258-67.
126. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359-62.
127. Davis GL, Hoofnagle JH, Waggoner JG. Acute type A hepatitis during chronic hepatitis B virus infection: association of depressed hepatitis B virus replication with appearance of endogenous alpha interferon. *J Med Virol* 1984;14:141-7.
128. Zachoval R, Abb J, Zachoval V, Eisenburg J, Pape GR, Paumgartner G, Deinhardt F. Interferon alpha in hepatitis type B and non-A, non-B. Defective production by peripheral blood mononuclear cells in chronic infection and development of serum interferon in acute disease. *J Hepatol* 1988;6:364-8.
129. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, Rustgi V, Di Bisceglie A, Peters M, Waggoner JG, Park Y, Jones EA. Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *N Engl J Med* 1986;315:1575-8.
130. Davis GL, Balart LA, Schiff ER, Lindsay K, Bodenheimer HC, Jr., Perrillo RP, Carey W, Jacobson IM, Payne J, Dienstag JL, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1989;321:1501-6.

131. Markus C. Standard Therapy of Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology*: Flying publisher, 2012:205.
132. Franciscus A. A brief history of Hepatitis C. <http://www.hcvadvocate.org/hepatitis/factsheets.asp>. Volume Marzo 2010:Hepatitis C support project. hcspFACTsheet.
133. Sen GC. Viruses and interferons. *Annual Review of Microbiology* 2001;Vol. 55:255-281.
134. Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C, Lisker-Melman M, Murray L, Waggoner J, Goodman Z, Banks SM, Hoofnagle JH. Recombinant interferon alfa therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1989;321:1506-10.
135. Poynard T, Leroy V, Cohard M, Thevenot T, Mathurin P, Opolon P, Zarski JP. Meta-analysis of interferon randomized trials in the treatment of viral hepatitis C: effects of dose and duration. *Hepatology* 1996;24:778-89.
136. Lau JY, Tam RC, Liang TJ, Hong Z. Mechanism of action of ribavirin in the combination treatment of chronic HCV infection. *Hepatology* 2002;35:1002-9.
137. Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature* 2005;436:967-72.
138. Wishart D. Ribavirin. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00811>, University of Alberta.
139. Yu C-HCaM-L. Evolution of Interferon-Based Therapy for Chronic Hepatitis C. *Hepatitis Research and Treatment* 2010.
140. Schalm SW, Hansen BE, Chemello L, Bellobuono A, Brouwer JT, Weiland O, Cavalletto L, Schvarcz R, Ideo G, Alberti A. Ribavirin enhances the efficacy but not the adverse effects of interferon in chronic hepatitis C. Meta-analysis of individual patient data from European centers. *J Hepatol* 1997;26:961-6.
141. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goodman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998;339:1485-92.
142. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, Bain V, Heathcote J, Zeuzem S, Trepo C, Albrecht J. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998;352:1426-32.
143. EASL International Consensus Conference on hepatitis C. *Journal of Hepatology*;31:3-8.
144. Rajender Reddy K, Modi MW, Pedder S. Use of peginterferon alfa-2a (40 KD) (Pegasys) for the treatment of hepatitis C. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;54:571-86.
145. He Q, Li ZY. [Effect of peginterferon alpha-2a combined with ribavirin in the treatment of rebound patient with chronic hepatitis C: a case report]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2010;18:794.

146. Liu CH, Liang CC, Liu CJ, Lin JW, Chen SI, Hung PH, Tsai HB, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Pegylated interferon alfa-2a monotherapy for hemodialysis patients with acute hepatitis C. *Clin Infect Dis* 2010;51:541-9.
147. Lindsay KL, Trepo C, Heintges T, Shiffman ML, Gordon SC, Hoefs JC, Schiff ER, Goodman ZD, Laughlin M, Yao R, Albrecht JK. A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001;34:395-403.
148. Zeuzem S, Sulkowski MS, Lawitz EJ, Rustgi VK, Rodriguez-Torres M, Bacon BR, Grigorescu M, Tice AD, Lurie Y, Cianciara J, Muir AJ, Cronin PW, Pulkstenis E, Subramanian GM, McHutchison JG. Albinterferon Alfa-2b was not inferior to pegylated interferon-alpha in a randomized trial of patients with chronic hepatitis C virus genotype 1. *Gastroenterology* 2010;139:1257-66.
149. Heathcote EJ, Shiffman ML, Cooksley WG, Dusheiko GM, Lee SS, Balart L, Reindollar R, Reddy RK, Wright TL, Lin A, Hoffman J, De Pamphilis J. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med* 2000;343:1673-80.
150. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL, Jr., Haussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-82.
151. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, Goodman ZD, Koury K, Ling M, Albrecht JK. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-65.
152. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadori G, Bodenheimer H, Jr., Bernstein D, Rizzetto M, Zeuzem S, Pockros PJ, Lin A, Ackrill AM. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140:346-55.
153. Zeuzem S. Induction therapy in chronic hepatitis C: deja-vu with pegylated interferons? *J Hepatol* 2004;41:488-90.
154. Lange CM, Sarrazin C, Zeuzem S. Review article: specifically targeted anti-viral therapy for hepatitis C - a new era in therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:14-28.
155. Sarrazin CLaC. *New Drugs. The 2012 Short Guide to Hepatitis C*, 2012:58-82.
156. McHutchison JG, Poynard T. Combination therapy with interferon plus ribavirin for the initial treatment of chronic hepatitis C. *Semin Liver Dis* 1999;19 Suppl 1:57-65.

157. Hepburn MJ, Hepburn LM, Cantu NS, Lapeer MG, Lawitz EJ. Differences in treatment outcome for hepatitis C among ethnic groups. *Am J Med* 2004;117:163-8.
158. Muir AJ, Bornstein JD, Killenberg PG. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in blacks and non-Hispanic whites. *N Engl J Med* 2004;350:2265-71.
159. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:639-44.
160. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, Heinzen EL, Qiu P, Bertelsen AH, Muir AJ, Sulkowski M, McHutchison JG, Goldstein DB. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461:399-401.
161. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, Bassendine M, Spengler U, Dore GJ, Powell E, Riordan S, Sheridan D, Smedile A, Fragomeli V, Muller T, Bahlo M, Stewart GJ, Booth DR, George J. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009;41:1100-4.
162. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009;41:1105-9.
163. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, Kidd J, Kidd K, Khakoo SI, Alexander G, Goedert JJ, Kirk GD, Donfield SM, Rosen HR, Tobler LH, Busch MP, McHutchison JG, Goldstein DB, Carrington M. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009;461:798-801.
164. Balagopal A, Thomas DL, Thio CL. IL28B and the control of hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010;139:1865-76.
165. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, Lewis-Antes A, Shen M, Shah NK, Langer JA, Sheikh F, Dickensheets H, Donnelly RP. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol* 2003;4:69-77.
166. Marcello T, Grakoui A, Barba-Spaeth G, Machlin ES, Kotenko SV, MacDonald MR, Rice CM. Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics. *Gastroenterology* 2006;131:1887-98.
167. Shin EC, Protzer U, Untergasser A, Feinstone SM, Rice CM, Hasselschwert D, Rehmann B. Liver-directed gamma interferon gene delivery in chronic hepatitis C. *J Virol* 2005;79:13412-20.

168. Siren J, Pirhonen J, Julkunen I, Matikainen S. IFN-alpha regulates TLR-dependent gene expression of IFN-alpha, IFN-beta, IL-28, and IL-29. *J Immunol* 2005;174:1932-7.
169. Han JQ, Barton DJ. Activation and evasion of the antiviral 2'-5' oligoadenylate synthetase/ribonuclease L pathway by hepatitis C virus mRNA. *RNA* 2002;8:512-25.
170. Han JQ, Wroblewski G, Xu Z, Silverman RH, Barton DJ. Sensitivity of hepatitis C virus RNA to the antiviral enzyme ribonuclease L is determined by a subset of efficient cleavage sites. *J Interferon Cytokine Res* 2004;24:664-76.
171. Mihm U, Ackermann O, Welsch C, Herrmann E, Hofmann WP, Grigorian N, Welker MW, Lengauer T, Zeuzem S, Sarrazin C. Clinical relevance of the 2'-5'-oligoadenylate synthetase/RNase L system for treatment response in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2009;50:49-58.
172. Sarrazin C, Zeuzem S. Resistance to direct antiviral agents in patients with hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010;138:447-62.
173. Zeuzem S, Herrmann E, Lee JH, Fricke J, Neumann AU, Modi M, Colucci G, Roth WK. Viral kinetics in patients with chronic hepatitis C treated with standard or peginterferon alpha2a. *Gastroenterology* 2001;120:1438-47.
174. 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;38:645-52.
175. Davis GL. Monitoring of viral levels during therapy of hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S145-51.
176. Huang CF, Yang JF, Huang JF, Dai CY, Chiu CF, Hou NJ, Hsieh MY, Lin ZY, Chen SC, Wang LY, Chang WY, Chuang WL, Yu ML. Early identification of achieving a sustained virological response in chronic hepatitis C patients without a rapid virological response. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;25:758-65.
177. Lee SS, Ferenci P. Optimizing outcomes in patients with hepatitis C virus genotype 1 or 4. *Antivir Ther* 2008;13 Suppl 1:9-16.
178. Ramos B, Nunez M, Rendon A, Berdun MA, Losada E, Santos I, Echevarria S, Ocampo A, Miralles C, Arazo P, Barreiro P, Romero M, Labarga P, Guardiola JM, Garcia-Samaniego J, Soriano V. Critical role of ribavirin for the achievement of early virological response to HCV therapy in HCV/HIV-coinfected patients. *J Viral Hepat* 2007;14:387-91.
179. Nunez M, Camino N, Ramos B, Berdun MA, Barreiro P, Losada E, Santos I, Echevarria S, Ocampo A, Miralles C, Arazo P, Martin-Carbonero L, Romero M, Garcia-Samaniego J, Soriano V. Impact of ribavirin exposure on early virological response to hepatitis C therapy in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2005;10:657-62.

180. 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;22:555-65.
181. Rendon AL, Nunez M, Romero M, Barreiro P, Martin-Carbonero L, Garcia-Samaniego J, Jimenez-Nacher I, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. 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;39:401-5.
182. Maynard M, Pradat P, Gagnieu MC, Souvignet C, Trepo C. Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 of therapy in hepatitis C virus genotype 1 patients. *Antivir Ther* 2008;13:607-11.
183. Aguilar Marucco D, Gonzalez de Requena D, Bonora S, Tettoni C, Bonasso M, De Blasi T, D'Avolio A, Sciandra M, Siccardi M, Baietto L, Trentini L, Sinicco A, Cariti G, Di Perri G. The use of trough ribavirin concentration to predict sustained virological response and haematological toxicity in HIV/HCV-co-infected patients treated with ribavirin and pegylated interferon. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:919-24.
184. van Vlerken LG, van Oijen MG, van Erpecum KJ. Ribavirin concentration is a more important predictor of sustained viral response than anemia in hepatitis C patients. *Gastroenterology* 2011;140:1693-4; author reply 1694.
185. Nicot F, Legrand-Abravanel F, Lafont T, Dubois M, Saune K, Pasquier C, Chatelut E, Izopet J. Serum concentrations of ribavirin and pegylated interferon and viral responses in patients infected with HIV and HCV. *J Med Virol* 2008;80:1523-9.
186. Furusyo N, Murata M, Ogawa E, Toyoda K, Ihara T, Ikezaki H, Hayashi T, Koga T, Kainuma M, Hayashi J. Ribavirin concentration in the later stages of 48 week pegylated interferon-alpha2b plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C is useful for predicting virological response. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:1127-39.
187. Donnerer J, Grahovac M, Stelzl E, Kessler HH, Bankuti C, Stadlbauer V, Stauber RE. Ribavirin levels and haemoglobin decline in early virological responders and non-responders to hepatitis C virus combination therapy. *Pharmacology* 2006;76:136-40.
188. Crespo M, Pou L, Esteban JI, Falco V, Ribera E, Lopez R, Sauleda S, Curran A, Villar del Saz S, Feijoo M, Ocana I, Pahissa A. Early monitoring of ribavirin serum concentration is not useful to optimize hepatitis C virus treatment in HIV-coinfected patients. *Antivir Ther* 2007;12:1217-23.
189. Lopez-Cortes LF, Valera-Bestard B, Gutierrez-Valencia A, Ruiz-Valderas R, Jimenez L, Arizcorreta A, Terron A, Viciano P. Role of pegylated interferon-alpha-2a and ribavirin concentrations in sustained viral response in HCV/HIV-coinfected patients. *Clin Pharmacol Ther* 2008;84:573-80.

190. Dahari H, Markatou M, Zeremski M, Haller I, Ribeiro RM, Licholai T, Perelson AS, Talal AH. Early ribavirin pharmacokinetics, HCV RNA and alanine aminotransferase kinetics in HIV/HCV co-infected patients during treatment with pegylated interferon and ribavirin. *J Hepatol* 2007;47:23-30.
191. Breilh D, Foucher J, Castera L, Trimoulet P, Djabarouti S, Merrouche W, Couzigou P, Saux MC, de Ledinghen V. Impact of ribavirin plasma level on sustained virological response in patients treated with pegylated interferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:487-94.
192. Labarga P, Barreiro P, da Silva A, Guardiola JM, Rubio R, Aguirrebengoa K, Miralles P, Portu J, Tellez MJ, Morano L, Castro A, Pineda JA, Terron A, Hernandez-Quero J, Marino A, Rios MJ, Echeverria S, Asensi V, Vispo E, Soriano V. Comparison of high ribavirin induction versus standard ribavirin dosing, plus peginterferon-alpha for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients: the PERICO trial. *J Infect Dis* 2012;206:961-8.
193. Glue P, Rouzier-Panis R, Raffanel C, Sabo R, Gupta SK, Salfi M, Jacobs S, Clement RP. A dose-ranging study of pegylated interferon alfa-2b and ribavirin in chronic hepatitis C. The Hepatitis C Intervention Therapy Group. *Hepatology* 2000;32:647-53.
194. Gupta SK, Pittenger AL, Swan SK, Marbury TC, Tobillo E, Batra V, Sack M, Glue P, Jacobs S, Affrime M. Single-dose pharmacokinetics and safety of pegylated interferon-alpha2b in patients with chronic renal dysfunction. *J Clin Pharmacol* 2002;42:1109-15.
195. Glue P, Fang JW, Rouzier-Panis R, Raffanel C, Sabo R, Gupta SK, Salfi M, Jacobs S. Pegylated interferon-alpha2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and preliminary efficacy data. Hepatitis C Intervention Therapy Group. *Clin Pharmacol Ther* 2000;68:556-67.
196. Jen JF, Glue P, Ezzet F, Chung C, Gupta SK, Jacobs S, Hajian G. Population pharmacokinetic analysis of pegylated interferon alfa-2b and interferon alfa-2b in patients with chronic hepatitis C. *Clin Pharmacol Ther* 2001;69:407-21.
197. Glue P, Schenker S, Gupta S, Clement RP, Zambas D, Salfi M. The single dose pharmacokinetics of ribavirin in subjects with chronic liver disease. *Br J Clin Pharmacol* 2000;49:417-21.
198. Pegasys®(Interferón alfa 2a pegilados). Ficha técnica del producto. Productos Roche S.A. y The European Agency for the Evaluation of Medical Product.
199. Xu Z-X HJ, Patell, Joubert P. Single-dose safety/tolerability and pharmacokinetic/pharmacodynamics (PK/PD) following administration of ascending subcutaneous doses of pegylated-interferon (PEG-interferon) and interferon a-2a to healthy subjects. 49th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease. *Hepatology* 1998.

200. Heathcote EJ PP, Fried MW, Bain MA, DePambilis J, Modi M. . The pharmacokinetics of pegylated-40 K interferon alfa-2a (PEG-IFN) in chronic hepatitis C. 50th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease 1999.
201. Modi M FM, Reindollar R, Rustgi VR, Kenny R, Wright TL, et al. The pharmacokinetic behavior of pegylated (40 kD) interferon alfa-2a in chronic hepatitis C patients after multiple dosing. 51th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. 2000.
202. JM AP. Interferones pegilados: revisión preliminar de sus características farmacocinéticas. Revista Clínica Española 2001.
203. D'Alessandro U. Existing antimalarial agents and malaria-treatment strategies. Expert Opin Pharmacother 2009;10:1291-306.
204. Xu Z-X HJ, Patell,Joubert P. Single-dose safety/tolerability and pharmacokinetic/pharmacodynamics (PK/PD) following administration of ascending subcutaneous doses of pegylated-interferon (PEG-interferon) and interferon a-2a to healthy subjects. Hepatology 1998.
205. Heathcote EJ PP, Fried MW, Bain MA, DePambilis J, Modi M. The pharmacokinetics of pegylated-40 K interferon alfa-2a (PEG-IFN) in chronic hepatitis C. Hepatology 1999.
206. Modi M FM, Reindollar R, Rustgi VR, Kenny R, Wright TL, et al. The pharmacokinetic behavior of pegylated (40 kD) interferon alfa-2a in chronic hepatitis C patients after multiple dosing. 51th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology 2000.
207. Azanza Perea JR. [Pegylated interferons: preliminary review of their pharmacokinetic characteristics]. Rev Clin Esp 2001;201:205-12.
208. Bruno R SP, Ciappina V, et al. Pharmacokinetics of PEG-interferon alfa-2a (40KD) compared to PEG-interferon alfa -2b (12KD) in naïve patients with chronic hepatitis C. 2003.
209. Keating GM, Curran MP. Peginterferon-alpha-2a (40kD) plus ribavirin: a review of its use in the management of chronic hepatitis C. Drugs 2003;63:701-30.
210. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-Garcia J, Lazzarin A, Carosi G, Sasadeusz J, Katlama C, Montaner J, Sette H, Jr., Passe S, De Pamphilis J, Duff F, Schrenk UM, Dieterich DT. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. N Engl J Med 2004;351:438-50.
211. Hadigan C, Kottlilil S. Hepatitis C virus infection and coinfection with human immunodeficiency virus: challenges and advancements in management. JAMA 2011;306:294-301.

212. Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE, Peters MG, Koziel MJ, Bhan AK, Alston B, Colquhoun D, Nevin T, Harb G, van der Horst C. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med* 2004;351:451-9.
213. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel-Fabiani F, Benzekri A, Morand P, Goujard C, Pialoux G, Piroth L, Salmon-Ceron D, Degott C, Cacoub P, Perronne C. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;292:2839-48.
214. Nunez M, Miralles C, Berdun MA, Losada E, Aguirrebengoa K, Ocampo A, Arazo P, Cervantes M, de Los Santos I, San Joaquin I, Echeverria S, Galindo MJ, Asensi V, Barreiro P, Sola J, Hernandez-Burruezo JJ, Guardiola JM, Romero M, Garcia-Samaniego J, Soriano V. Role of weight-based ribavirin dosing and extended duration of therapy in chronic hepatitis C in HIV-infected patients: the PRESCO trial. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007;23:972-82.
215. Laguno M, Blanch J, Murillas J, Blanco JL, Leon A, Lonca M, Larrousse M, Biglia A, Martinez E, Garcia F, Miro JM, de Pablo J, Gatell JM, Mallolas J. Depressive symptoms after initiation of interferon therapy in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C. *Antivir Ther* 2004;9:905-9.
216. Rodriguez-Torres M, Sulkowski MS, Chung RT, Hamzeh FM, Jensen DM. Factors associated with rapid and early virologic response to peginterferon alfa-2a/ribavirin treatment in HCV genotype 1 patients representative of the general chronic hepatitis C population. *J Viral Hepat* 2010;17:139-47.
217. Laguno M, Cifuentes C, Murillas J, Veloso S, Larrousse M, Payeras A, Bonet L, Vidal F, Milinkovic A, Bassa A, Villalonga C, Perez I, Tural C, Martinez-Rebollar M, Calvo M, Blanco JL, Martinez E, Sanchez-Tapias JM, Gatell JM, Mallolas J. Randomized trial comparing pegylated interferon alpha-2b versus pegylated interferon alpha-2a, both plus ribavirin, to treat chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus patients. *Hepatology* 2009;49:22-31.
218. Thomas DL, Bartlett JG, Peters MG, Sherman KE, Sulkowski MS, Pham PA. Provisional guidance on the use of hepatitis C virus protease inhibitors for treatment of hepatitis C in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis* 2012;54:979-83.
219. Kato T, Date T, Miyamoto M, Sugiyama M, Tanaka Y, Orito E, Ohno T, Sugihara K, Hasegawa I, Fujiwara K, Ito K, Ozasa A, Mizokami M, Wakita T. Detection of anti-hepatitis C virus effects of interferon and ribavirin by a sensitive replicon system. *J Clin Microbiol* 2005;43:5679-84.

220. Buti M, Sanchez-Avila F, Lurie Y, Stalgis C, Valdes A, Martell M, Esteban R. Viral kinetics in genotype 1 chronic hepatitis C patients during therapy with 2 different doses of peginterferon alfa-2b plus ribavirin. *Hepatology* 2002;35:930-6.
221. Hofmann WP, Chung TL, Osbahr C, Susser S, Karey U, Mihm U, Welsch C, Lotsch J, Sarrazin C, Zeuzem S, Herrmann E. Impact of ribavirin on HCV replicon RNA decline during treatment with interferon-alpha and the protease inhibitors boceprevir or telaprevir. *Antivir Ther* 2011;16:695-704.
222. Fried MW, Jensen DM, Rodriguez-Torres M, Nyberg LM, Di Bisceglie AM, Morgan TR, Pockros PJ, Lin A, Cupelli L, Duff F, Wang K, Nelson DR. Improved outcomes in patients with hepatitis C with difficult-to-treat characteristics: randomized study of higher doses of peginterferon alpha-2a and ribavirin. *Hepatology* 2008;48:1033-43.
223. Bruno R, Sacchi P, Ciappina V, Zochetti C, Patruno S, Maiocchi L, Filice G. Viral dynamics and pharmacokinetics of peginterferon alpha-2a and peginterferon alpha-2b in naive patients with chronic hepatitis c: a randomized, controlled study. *Antivir Ther* 2004;9:491-7.
224. Talal AH, Ribeiro RM, Powers KA, Grace M, Cullen C, Hussain M, Markatou M, Perelson AS. Pharmacodynamics of PEG-IFN alpha differentiate HIV/HCV coinfecting sustained virological responders from nonresponders. *Hepatology* 2006;43:943-53.
225. Asahina Y, Izumi N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Doi F, Tsuchiya K, Nakanishi H, Matsunaga K, Kitamura T, Kurosaki M, Uchihara M, Higaki M, Miyake S. Pharmacokinetics and enhanced PKR response in patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin. *J Viral Hepat* 2007;14:396-403.
226. Di Bisceglie AM, Fan X, Chambers T, Strinko J. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and hepatitis C viral kinetics during antiviral therapy: the null responder. *J Med Virol* 2006;78:446-51.
227. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991;13:372-4.
228. 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;47:124-9.
229. Khattab MA, Ferenci P, Hadziyannis SJ, Colombo M, Manns MP, Almasio PL, Esteban R, Abdo AA, Harrison SA, Ibrahim N, Cacoub P, Eslam M, Lee SS. Management of hepatitis C virus genotype 4: recommendations of an international expert panel. *J Hepatol* 2011;54:1250-62.
230. [Recommendations of Gesida/PNS/AEEH for the management and treatment of the adult patient co-infected with HIV and hepatitis A, B and C virus]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010;28:31 e1-31.

231. Rockstroh JK, Bhagani S, Benhamou Y, Bruno R, Mauss S, Peters L, Puoti M, Soriano V, Tural C. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults. *HIV Med* 2008;9:82-8.
232. Martin-Carbonero L, Puoti M, Garcia-Samaniego J, De Luca A, Losada E, Quinzan G, Bruno R, Marino A, Gonzalez M, Nunez M, Soriano V. Response to pegylated interferon plus ribavirin in HIV-infected patients with chronic hepatitis C due to genotype 4. *J Viral Hepat* 2008;15:710-5.
233. Mira JA, Rivero A, de Los Santos-Gil I, Lopez-Cortes LF, Giron-Gonzalez JA, Marquez M, Merino D, del Mar Vilorio M, Tellez F, Rios-Villegas MJ, Omar M, Rivero-Juarez A, Macias J, Pineda JA. Hepatitis C virus genotype 4 responds better to pegylated interferon with ribavirin than genotype 1 in HIV-infected patients. *AIDS* 2012;26:1721-4.
234. Feld JJ, Nanda S, Huang Y, Chen W, Cam M, Pusek SN, Schweigler LM, Theodore D, Zacks SL, Liang TJ, Fried MW. Hepatic gene expression during treatment with peginterferon and ribavirin: Identifying molecular pathways for treatment response. *Hepatology* 2007;46:1548-63.
235. Sarasin-Filipowicz M, Oakeley EJ, Duong FH, Christen V, Terracciano L, Filipowicz W, Heim MH. Interferon signaling and treatment outcome in chronic hepatitis C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:7034-9.
236. Urban TJ, Thompson AJ, Bradrick SS, Fellay J, Schuppan D, Cronin KD, Hong L, McKenzie A, Patel K, Shianna KV, McHutchison JG, Goldstein DB, Afdhal N. IL28B genotype is associated with differential expression of intrahepatic interferon-stimulated genes in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010;52:1888-96.
237. Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Nakamura M, Shirasaki T, Horimoto K, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M, Kaneko S. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2010;139:499-509.
238. Younossi ZM, Bireddinc A, Estep M, Stepanova M, Afendy A, Baranova A. The impact of IL28B genotype on the gene expression profile of patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon alpha and ribavirin. *J Transl Med* 2012;10:25.
239. Tural C, Sola R, Rubio R, Santin M, Planas R, Quereda C, Berenguer J, Montes-Ramirez M, Clotet B. Safety and efficacy of an induction dose of pegylated interferon alpha-2a on early hepatitis C virus kinetics in HIV/HCV co-infected patients: the CORAL-1 multicentre pilot study. *J Viral Hepat* 2007;14:704-13.
240. Roberts SK, Weltman MD, Crawford DH, McCaughan GW, Sievert W, Cheng WS, Rawlinson W, Desmond PV, Marks PS, Yoshihara M, Rizkalla B, Depamphilis JK, Dore GJ. Impact of high-dose peginterferon alfa-2A

- on virological response rates in patients with hepatitis C genotype 1: a randomized controlled trial. *Hepatology* 2009;50:1045-55.
241. Reddy KR, Shiffman ML, Rodriguez-Torres M, Cheinquer H, Abdurakhmanov D, Bakulin I, Morozov V, Silva GF, Geyvandova N, Stanciu C, Rabbia M, McKenna M, Thommes JA, Harrison SA. Induction pegylated interferon alfa-2a and high dose ribavirin do not increase SVR in heavy patients with HCV genotype 1 and high viral loads. *Gastroenterology* 2010;139:1972-83.
242. Brady DE, Torres DM, An JW, Ward JA, Lawitz E, Harrison SA. Induction pegylated interferon alfa-2b in combination with ribavirin in patients with genotypes 1 and 4 chronic hepatitis C: a prospective, randomized, multicenter, open-label study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:66-71 e1.
243. Chevaliez S, Hezode C, Soulier A, Costes B, Bouvier-Alias M, Rouanet S, Foucher J, Bronowicki JP, Tran A, Rosa I, Mathurin P, Alric L, Leroy V, Couzigou P, Mallat A, Charaf-Eddine M, Babany G, Pawlotsky JM. High-dose pegylated interferon-alpha and ribavirin in nonresponder hepatitis C patients and relationship with IL-28B genotype (SYREN trial). *Gastroenterology* 2011;141:119-27.
244. Murphy AA, Herrmann E, Osinusi AO, Wu L, Sachau W, Lempicki RA, Yang J, Chung TL, Wood BJ, Haagmans BL, Kottlilil S, Polis MA. Twice-weekly pegylated interferon-alpha-2a and ribavirin results in superior viral kinetics in HIV/hepatitis C virus co-infected patients compared to standard therapy. *AIDS* 2011;25:1179-87.
245. Glue P. The clinical pharmacology of ribavirin. *Semin Liver Dis* 1999;19 Suppl 1:17-24.
246. Hezode C, Forestier N, Dusheiko G, Ferenci P, Pol S, Goeser T, Bronowicki JP, Bourliere M, Gharakhanian S, Bengtsson L, McNair L, George S, Kieffer T, Kwong A, Kauffman RS, Alam J, Pawlotsky JM, Zeuzem S. Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2009;360:1839-50.
247. Kwo PY, Lawitz EJ, McCone J, Schiff ER, Vierling JM, Pound D, Davis MN, Galati JS, Gordon SC, Ravendhran N, Rossaro L, Anderson FH, Jacobson IM, Rubin R, Koury K, Pedicone LD, Brass CA, Chaudhri E, Albrecht JK. Efficacy of boceprevir, an NS3 protease inhibitor, in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in treatment-naive patients with genotype 1 hepatitis C infection (SPRINT-1): an open-label, randomised, multicentre phase 2 trial. *Lancet* 2010;376:705-16.
248. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, Jacobson IM, Reddy KR, Goodman ZD, Boparai N, DiNubile MJ, Sniukiene V, Brass CA, Albrecht JK, Bronowicki JP. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;364:1195-206.

249. Loustaud-Ratti V, Alain S, Rousseau A, Hubert IF, Sauvage FL, Marquet P, Denis F, Lunel F, Cales P, Lefebvre A, Fauchais AL, Liozon E, Vidal E. Ribavirin exposure after the first dose is predictive of sustained virological response in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2008;47:1453-61.
250. van Vlerken LG, Huisman EJ, van Soest H, Boland GJ, Drenth JP, Siersema PD, Burger DM, van Erpecum KJ. Ribavirin rather than PEG-interferon pharmacodynamics predict nonresponse to antiviral therapy in naive chronic hepatitis C patients. *J Viral Hepat* 2012;19:39-46.
251. Bochud PY, Bibert S, Negro F, Haagmans B, Soulier A, Ferrari C, Missale G, Zeuzem S, Pawlotsky JM, Schalm S, Hellstrand K, Neumann AU, Lagging M. IL28B polymorphisms predict reduction of HCV RNA from the first day of therapy in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2011;55:980-8.
252. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, Urban T, Afdhal NH, Jacobson IM, Esteban R, Poordad F, Lawitz EJ, McCone J, Shiffman ML, Galler GW, Lee WM, Reindollar R, King JW, Kwo PY, Ghalib RH, Freilich B, Nyberg LM, Zeuzem S, Poynard T, Vock DM, Pieper KS, Patel K, Tillmann HL, Noviello S, Koury K, Pedicone LD, Brass CA, Albrecht JK, Goldstein DB, McHutchison JG. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010;139:120-9 e18.
253. Rallon NI, Pineda JA, Soriano V, Neukam K, Vispo E, Rivero A, Labarga P, Caruz A, Restrepo C, Camacho A, Barreiro P, Benito JM. Differences in virological response to peginterferon-alpha plus ribavirin in HIV-positive patients coinfecting with HCV subtypes 1a or 1b. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012;60:117-23.
254. Holmes JA, Desmond PV, Thompson AJ. Does IL28B genotyping still have a role in the era of direct-acting antiviral therapy for chronic hepatitis C infection? *J Viral Hepat* 2012;19:677-84.
255. Mascolini M. Ribavirin trough affects early HCV response with unfavourable IL28B profile. 14th International Workshop on Clinical Pharmacology of HIV Therapy, April 22-24, 2013, Amsterdam.

