



**UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

*Tasas plasmáticas de ribavirina (RBV) en pacientes
con hepatitis C crónica (HCC) tratados con
interferón pegilado (IFN-peg) más RBV: relación
con la respuesta al tratamiento y la anemia.*

José Miguel Candel Erenas

Granada 2011

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: José Miguel Candel Erenas
D.L.: GR 2329-2012
ISBN: 978-84-9028-216-8

Dr. FRANCISCO JAVIER SALMERÓN ESCOBAR, CATEDRÁTICO DE DIGESTIVO DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta al superior juicio del Tribunal D. José Miguel Candel Erenas sobre el tema “*Tasas plasmáticas de ribavirina (RBV) en pacientes con hepatitis C crónica (HCC) tratados con interferón pegilado (IFN-peg) más RBV: relación con la respuesta al tratamiento y la anemia*” ha sido realizada bajo mi dirección, siendo expresión de la capacidad técnica y científica de su autor, en condiciones tan aventajadas que le hacen acreedor del título de Doctor, siempre que así lo considere el citado Tribunal.

Granada, a 1 de Mayo de 2011

Fdo. Dr. Javier Salmerón Escobar.

Dra. PALOMA MUÑOZ DE RUEDA, TÉCNICO SUPERIOR DE APOYO
A LA INVESTIGACIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIONES
MÉDICAS MORA LARA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO SAN
CECILIO DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta al superior juicio del Tribunal D. José Miguel Candel Erenas obre el tema “*Tasas plasmáticas de ribavirina (RBV) en pacientes con hepatitis C crónica (HCC) tratados con interferón pegilado (IFN-peg) más RBV: relación con la respuesta al tratamiento y la anemia*” ha sido realizada bajo mi dirección, siendo expresión de la capacidad técnica y científica de su autor, en condiciones tan aventajadas que le hacen acreedor del título de Doctor, siempre que así lo considere el citado Tribunal.

Granada, a 1 de Mayo de 2011

Fdo. Dra. Paloma Muñoz de Rueda

Dra. ÁNGELA RUIZ EXTREMEIRA, DOCTORA Y PROFESORA
TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA DE LA FACULTAD
DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta al superior juicio del Tribunal D. José Miguel Candel Erenas sobre el tema “*Tasas plasmáticas de ribavirina (RBV) en pacientes con hepatitis C crónica (HCC) tratados con interferón pegilado (IFN-peg) más RBV: relación con la respuesta al tratamiento y la anemia*” ha sido realizada bajo mi dirección, siendo expresión de la capacidad técnica y científica de su autor, en condiciones tan aventajadas que le hacen acreedor del título de Doctor, siempre que así lo considere el citado Tribunal.

Granada, a 1 de Mayo de 2011

Fdo. Dra. Ángela Ruíz Extremera

Agradecimientos

Me gustaría dedicar la realización de esta tesis a mis padres, hermanos y amigos por su cariño y comprensión durante todos los años de trabajo, siendo especial a mi padre por sus sabios consejos y recomendaciones, y por ser un verdadero ejemplo a seguir en la profesión médica.

A mis directores de tesis Javier Salmerón, Paloma Muñoz de Rueda y Ángela Ruiz Extremera, por su inmensa paciencia y apoyo durante este largo tiempo, y por despertar en mi el interés en la investigación, cuyos frutos aplico hoy en mi práctica clínica en los pacientes con hepatitis C.

A los miembros de la Unidad Clínica de Aparato Digestivo del Hospital Universitario San Cecilio, por haber compartido con vosotros unos años maravillosos de mi vida a nivel personal y profesional, por haberme enseñado tanto sobre la especialidad de forma tan generosa, y por haberme inculcado el concepto precioso y clásico de la visión clínica de la medicina.

A mis grandes amigos y compañeros del Servicio de Digestivo del Hospital Santa Lucía y Santa María del Rosell de Cartagena. Muchas gracias por darme la oportunidad de trabajar como adjunto, por compartir el día a día, y por seguir aprendiendo de vosotros.

Al Departamento de Medicina de la Universidad de Granada por haberme facilitado la realización de esta tesis.

Especial agradecimiento a todos los miembros del Grupo de Investigación de “Enfermedades hepáticas y transmisión sanguínea (CTS-227)” al cual pertenecen los directores, por su imprescindible labor diaria en el laboratorio, y ser las estrellas en la sombra de este largo trabajo. En especial a Ana Martín; sin ellos esta tesis no hubiera sido posible.

Paloma, muchísimas gracias por tu especial esfuerzo, dedicación, ánimo y valiosísima implicación durante todo este tiempo, por estar siempre ahí cada vez que necesitaba tu ayuda, y porque gracias a ti, he terminado la tesis.

Índice

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	19
1.1. EPIDEMIOLOGÍA E HISTORIA NATURAL DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C	21
1.1.1. Epidemiología.....	21
1.1.2. Historia natural de la enfermedad.....	25
1.2. EL VIRUS DE LA HEPATITIS C	30
1.2.1. Organización genómica.....	30
1.2.2. Genotipos virales.....	33
1.2.3. Inmunopatogénesis del VHC.....	35
1.3. TRATAMIENTO ANTIVIRAL	39
1.3.1. Interferón.....	39
1.3.2. Ribavirina.....	40
1.3.2.1. Mecanismo de acción.....	41
1.3.2.2. Farmacocinética de la RBV.....	45
1.3.2.3. Dosificación de la RBV.....	47
1.3.2.4. Contraindicaciones de la RBV.....	49
1.3.2.5. Efectos adversos de la RBV.....	50
1.3.2.5.1. Anemia.....	50
Mecanismo de producción de la anemia.....	54
Manejo de la anemia.....	57
Nuevas alternativas terapéuticas para la anemia.....	60
1.3.3. Tratamiento combinado con interferón más ribavirina.....	61
1.3.3.1. Patrones de respuesta al tratamiento.....	61
1.3.3.2. Tratamiento combinado de la hepatitis C.....	66
1.3.3.3. No respondedores.....	72

1.4. FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL.....	74
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	79
2.1. Hipótesis.....	81
2.2. Objetivos.....	82
3. PACIENTES Y METODOLOGÍA.....	85
3.1. Sujetos del estudio.....	87
3.1.1. Criterios de inclusión y exclusión.....	87
3.1.2. Criterios de respuesta al tratamiento.....	88
3.2. Variables del estudio.....	89
3.3. Recogida de datos y desarrollo del estudio.....	89
3.4. Metodología.....	92
3.4.1 Determinación del genotipo.....	92
3.4.2 Determinación del RNA-VHC.....	92
3.4.3 Determinación de la carga viral.....	92
3.4.4. Determinación de la tasa plasmática de ribavirina.....	92
3.4.5. Aclaramiento de creatinina.....	94
3.5. Estudio estadístico.....	94
4. RESULTADOS.....	97
5. DISCUSIÓN.....	123
6. CONCLUSIONES.....	133
7. BIBLIOGRAFÍA.....	139

Introducción

1.1. EPIDEMIOLOGÍA E HISTORIA NATURAL DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

1.1.1 Epidemiología

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) representa un problema de salud por su prevalencia, ya que se calcula que el 2% de la población general está infectada. Diversas teorías han indagado sobre el origen del virus. Es probable que los inicios del virus puedan remontarse a cerca de 35 millones de años y podría tener como origen el virus VHG/VBG-C como “pariente cercano”, cuyo principal reservorio eran los primates. En cuanto a los distintos genotipos el origen sería de 400 años, siendo más cercano el de los distintos subtipos cifrado en 200 años aproximadamente. Debido a la gran universalización del virus, es difícil buscar el origen geográfico de la infección ya que además se distribuye en lugares muy diversos y remotos en el mundo.

La problemática originada tras el contagio sanguíneo, obliga a un acercamiento en cuanto su descubrimiento en la era moderna y su detección en la actualidad. La detección del virus de la hepatitis B (VHB) ocurrió en 1963 y el de la hepatitis A diez años más tarde en 1973. Existía un cajón desastre donde se tipificaba la hepatitis no A no B¹, creyéndose en la actualidad que el VHC podría representar el 90-95% de dichos casos. La identificación del VHC ocurrió en los años 80, exactamente en 1989, y fue llevada a cabo por los investigadores Bradley y Houghton, pertenecientes a los centros de control de enfermedades y al laboratorio Chiron respectivamente. Desde 1990, los bancos de sangre detectan la existencia del VHC en cada donación, y el riesgo en la actualidad de contraer el virus por transfusión es del 1/10.000.

En cuanto a la repercusión clínica, el 80% de los infectados por VHC

desarrollan hepatitis C crónica (HCC). La HCC origina un problema de salud para los pacientes por su posible evolución a cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC), y para el Sistema Sanitario por las repercusiones de la enfermedad y su coste. El tratamiento con Interferón pegilado (IFN-peg) más Ribavirina (RBV) es el reconocido actualmente como más eficaz. Uno de los efectos secundarios más importantes es la anemia secundaria a la administración de RBV y por ello motivo de nuestro estudio.

Por un lado, la anemia afecta la calidad de vida de estos pacientes y obliga en muchos casos a reducir o incluso retirar el fármaco. A pesar de ser un efecto secundario manifiesto, existe poco interés en su estudio según los datos de la literatura.

Otro problema en la práctica clínica son los grupos especiales de pacientes infectados por el VHC, como los no respondedores (NR) al tratamiento estandarizado, los niños o los pacientes coinfectados por VIH. La dosificación de la RBV según los ensayos clínicos realizados, no está bien definida. Se sabe que para alcanzar la máxima respuesta virológica hay que usarla a dosis altas, unas veces se ha dosificado según el peso y otras con dosis fijas. También se conoce que aumentando la dosis de RBV, las posibilidades que aparezca anemia son mayores. Por todo lo anterior, creemos que sería un gran avance conocer la tasa plasmática idónea de RBV mediante la cual se obtiene el máximo efecto terapéutico con los menores efectos adversos y así poder monitorizar el tratamiento de los niños ajustando las dosis a las tasas plasmáticas preestablecidas, al igual que se hace con otros fármacos utilizados en pediatría.

Además si se demuestra que la tasa plasmática de RBV (TPR) es menor en los NR, sería necesario realizar un ensayo clínico aleatorizando a los NR al tercer mes en dos grupos: uno modificando la dosis de RBV según tasas plasmáticas hasta conseguir un nivel óptimo, el otro seguiría con la dosis

establecida previamente. A los tres meses se valorarían de nuevo los pacientes y se suspendería la medicación en aquellos que no cumplan criterios de respuesta. En resumen, es posible que algunos pacientes sean NR porque no alcanzan unos niveles plasmáticos de RBV suficientes para conseguir el efecto antiviral.

Se calcula que entre 170 y 240 millones de personas son portadoras del virus C lo que representa una prevalencia del 3% a nivel mundial². Según distintas áreas geográficas podemos encontrar zonas de alta prevalencia como son Asia oriental y Sudamérica, intermedias como Japón o bajas como ocurre en Europa occidental o Norteamérica. Dentro de estos países existe gran variabilidad en función de las distintas zonas donde midamos prevalencias. Aproximadamente existen cuatro millones de pacientes infectados en los Estados Unidos y cinco millones en la Unión Europea³. Muchos pacientes no han sido diagnosticados en la actualidad por encontrarse asintomáticos, y se especula que la prevalencia se multiplicará por cuatro en la próxima década.

En España existen 800.000 pacientes, lo que representa una prevalencia de infección según los distintos estudios poblacionales del 1 y el 2.7%⁴. Estos porcentajes son muy similares a países de la zona mediterránea como Italia o Francia. Según los distintos estudios realizados, los datos que se arrojan demuestran que existe una gran variabilidad demográfica o de distribución de la HCC. Así, podemos ver que la prevalencia de infección por edad es mayor en pacientes mayores de 65 años 4.7% vs el 1.7% en menores de 44.

En cuanto a la diferencia según sexos, la frecuencia de infección por VHC es mayor en el sexo masculino (3%) comparándolo con el femenino⁵ (2.3%).

Las vías de transmisión de la infección han sido objeto de numerosos

estudios. La transmisión parenteral supone la forma más importante de infección y es la mejor definida. El origen histórico del VHC se remonta a la infección secundaria con hemoderivados transfusionales como hemos comentado y se observó que la infección correspondía a un virus de la hepatitis no A no B¹. Dentro de la transmisión por vía parenteral incluimos grupos de riesgo como son los ADVP. El consumo de cocaína se considera uno de los mecanismos de contagio en países desarrollados y está relacionado con las lesiones producidas en el tabique nasal y al compartir el instrumento con el que se produce la inhalación.

La transmisión por vía sexual supone otra forma de contagio del VHC pero con varias puntualizaciones. Se ha observado una mayor tasa de infección de VHC por esta vía en pacientes con prácticas de riesgo como es el contacto con múltiples parejas sexuales, o la suma de varios cofactores como el consumo de drogas o la homosexualidad. Así también la coinfección por VIH incrementa el riesgo de infección⁶. Entre las distintas teorías que justifican la transmisión en este grupo de pacientes se encuentra la presencia de alta carga viral en secreciones, la existencia de lesiones mucosas o de otras ETS. En contraposición, la transmisión en parejas heterosexuales estables monógamas es baja y se estima inferior al 1% anual.

Por último, mencionar otras vías de transmisión como son la nosocomial que se produce en pacientes hospitalizados y que parece estar en relación con el contacto con otros pacientes ingresados en la misma habitación, o el mal uso de las medidas higiénicas establecidas por parte de personal de enfermería o facultativos. La hemodiálisis se establece como otra de las vías de contagio en pacientes con patología renal y supone la causa más frecuente de hepatitis aguda. En España, se estima una incidencia del 7% en pacientes con insuficiencia renal crónica y sometidos a hemodiálisis.

1.1.2 Historia natural de la enfermedad

Uno de los factores más determinantes y más difíciles a la hora de conocer la historia natural de la infección por VHC es establecer el diagnóstico de infección aguda por el virus. Calcular el momento justo de infección aguda, el largo periodo de la enfermedad y el carácter asintomático en muchos casos, suponen serios obstáculos para conocer en profundidad la historia natural o el curso que llevará la misma a lo largo del tiempo, así como el pronóstico y la capacidad de respuesta a distintos tratamientos.

En el caso de la hepatitis aguda por VHC, es obligado el uso y realización de estudios de tipo longitudinal para determinar la incidencia de hepatitis postransfusional y contagio esporádico. En una revisión publicada en *Journal Viral Hepatitis* en el 2006 ⁷ de 675 enfermos, se apreció que hasta un 80% de los pacientes infectados negativizan a los 6 meses el RNA viral y normalizan las transaminasas con una media del 26%. Entre los factores de buena evolución en fase aguda se encuentra el sexo femenino al igual que ocurre en la infección crónica como veremos más adelante, y la presencia de clínica de hepatitis aguda, definida clásicamente como “hepatitis icterica”. No se ha comprobado sin embargo que el genotipo del virus o el área geográfica modifiquen el curso de la historia de la enfermedad.

La infección crónica por VHC es definida por la persistencia del RNA viral durante un periodo superior a 6 meses tras el comienzo de la infección. La infección aguda por VHC se estima en un 15% de los pacientes, quedando un 85% restante que cronificarán la enfermedad. Se ha comprobado que la cronicidad por VHC no supone una mayor mortalidad en los pacientes infectados comparándolos con la población general⁸, pero sí supone un mayor riesgo de morbi-mortalidad hepática. Así pues del total de enfermos afectos, un 80% permanecerán estables a los 20 años de evolución y sin un claro deterioro de la función hepática; un 15-20% desarrollará cirrosis a los 20 años

posteriores a la infección y de éstos un cuarto entrarán en fase de descompensación en años venideros. Una vez establecida la cirrosis se estima en un 1 y 4% el riesgo anual de padecer CHC⁹. El grado de lesión histológica inicial y la consecuente fibrosis hepática, es uno de los factores más determinantes en la evolución natural de la enfermedad. Uno de los principales problemas es que no es posible cuantificar ni valorar la progresión de la fibrosis o del daño hepático ya que ésta es variable en el tiempo y se ve influenciada por otros parámetros. En la Figura 1 mostramos la historia natural de la enfermedad.

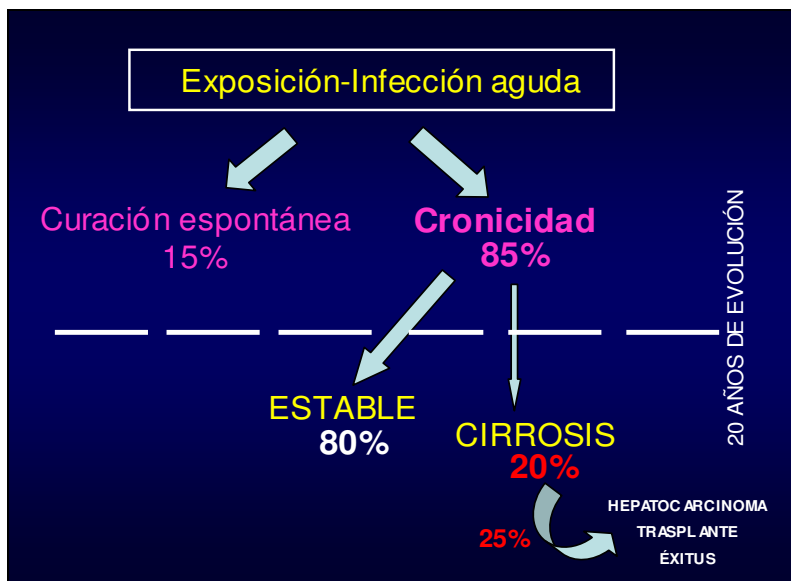


Figura 1. Historia natural

Se han estudiado los distintos factores que influyen en la progresión de la HCC:

- Factores generales

La *edad* en el momento de la infección, revela que existe un porcentaje bajo de progresión si la edad es inferior a 20 años en comparación con la mayor tendencia a fibrosis en pacientes por encima de los 40 años. Entre las distintas causas estudiadas parecen implicarse factores inmunológicos y la pérdida de resistencia de las células hepáticas con el paso del tiempo.

El *sexo* femenino se presenta como factor protector frente al masculino, así se evidencia tasas de cronicidad entre el 55% y el 46% de las mujeres jóvenes frente a mayores en el sexo masculino. La influencia hormonal parece ser determinante en una menor progresión de la fibrosis.

En cuanto a diferencia por *razas*, la población afroamericana presenta menor tendencia a evolución cirrótica si la comparamos con la raza blanca. No obstante, paradójicamente en todos los estudios presentados la raza negra presenta menor respuesta al tratamiento¹⁰.

El *alcohol* es un cofactor que aumenta la progresión de la enfermedad. Poynard y cols.¹¹ objetivaron que la ingesta diaria de más de 50 gramos/día presentaba un aumento del 34% de progresión de fibrosis. Parecen implicarse el estrés oxidativo, la esteatosis hepática, la resistencia a la insulina secundaria, el incremento de los depósitos del hierro y la activación de las células estrelladas hepáticas por aumento de los niveles del factor de necrosis tumoral. A su vez, los pacientes con mayor consumo de alcohol presentan menor cumplimiento terapéutico repercutiendo en las tasas de respuesta finales. Más en controversia se ha postulado que el hábito tabáquico supone

un mayor riesgo de progresión de la fibrosis.

- Factores genéticos

La presencia de polimorfismos¹² en genes que codifican proteínas reguladoras, citocinas inflamatorias y factores fibrogenéticos podrían condicionar la progresión de la enfermedad.

- Factores virales

En todos los estudios realizados no se ha confirmado que el genotipo ni la carga viral influyan en la historia natural de la enfermedad aunque sí en la respuesta al tratamiento. Sólo se ha objetivado que en situaciones de inmunosupresión, altos niveles de carga viral podrían ser determinantes. Se ha observado también una mayor progresión de la hepatopatía en pacientes coinfectados por el VHB junto a un mayor riesgo de desarrollar CHC¹³. A su vez, algunos estudios sugerían mayor riesgo de hepatitis fulminante en pacientes que presentan sobreinfección por virus de la hepatitis A¹⁴, por lo que algunos autores recomendaban la vacunación contra dicho virus. En la actualidad no se ha confirmado dicha evidencia.

- Factores metabólicos

La acumulación de grasa en el hepatocito condiciona el establecimiento de la esteatosis hepática. La presencia de esteatosis que se evidencia hasta en un 50% de los pacientes con HCC, es considerada como uno de los factores más influyentes en la progresión de la fibrosis hepática. La esteatosis puede ser intrínseca a la infección por determinado genotipo como es el 3, o puede ser secundaria a la ingesta de alcohol o la presencia de diabetes en los distintos pacientes.

- Factores inmunológicos

La inmunosupresión es un factor agravante en la progresión de la enfermedad. La coinfección por VIH, es un claro ejemplo de ello. En dichos pacientes se aprecia una elevación de la carga viral con aumento de la fibrosis y peor evolución clínica que en pacientes sólo afectados de HCC. En otros casos la inmunosupresión farmacológica inducida en pacientes sometidos a trasplante hepático, conduce a una recidiva precoz de la infección por el VHC, con el consiguiente agravamiento de la función hepática. La no recidiva de la infección en pacientes trasplantados supone un reto actual para la hepatología.

- Factores analíticos

En la actualidad la elevación de transaminasas se considera un factor indicador de actividad inflamatoria hepática, aunque no guarda estrecha relación con el grado de lesión que se ve influenciado por otros factores. Entre un 20 y 40% de los pacientes presentan transaminasas normales y de éstos en 2/3 la enfermedad es mínima. Del total de pacientes que no tienen alterados los niveles de transaminasas, sólo se observa entre 1-6% la presencia de cirrosis. De esta manera podemos concluir que la patología hepática es menor en presencia de transaminasas normales, con un menor índice de Knodell histológico.

1.2. EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

El VHC pertenece a la familia *Flaviviridae*, que incluye patógenos que afectan a humanos y animales. La familia *Flaviviridae* está compuesta al menos, por tres géneros diferentes; los pestivirus, entre los que se encuentra el virus de la diarrea bovina, los flavivirus, principales causantes de enfermedades virales transmitidas por artrópodos (como el dengue o la fiebre amarilla) y, finalmente, los hepacivirus, cuyo único miembro es el VHC¹⁵.

1.2.1. Organización genómica

El genoma del VHC está compuesto por una cadena simple de RNA de polaridad positiva de aproximadamente 9.600 nucleótidos y que codifica una larga poliproteína de unos 3.000 aminoácidos (Figura 2). La poliproteína codificada es posteriormente fragmentada por proteasas del huésped y del virus, en múltiples péptidos estructurales (S) y no estructurales (NS): los componentes estructurales consisten en un core de la nucleocápside (C) y dos glicoproteínas de la envoltura (E1 y E2), y las proteínas NS que se han numerado desde la NS2 hasta la NS5¹⁶ (Tabla 1).

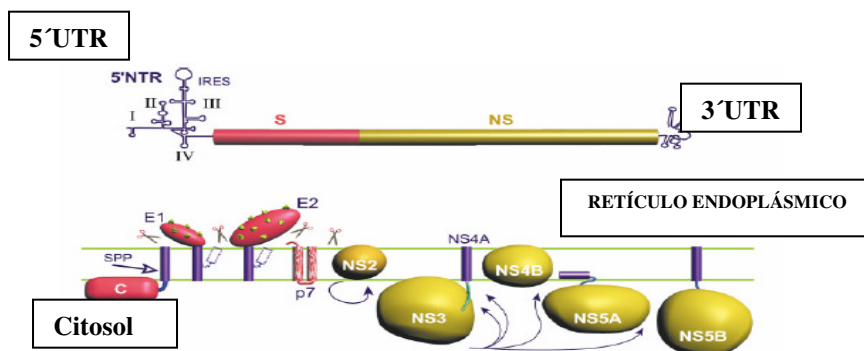


Figura 2¹⁷. Organización del RNA genómico del VHC (superior) y procesamiento en poliproteínas.

La proteína del core está compuesta por una secuencia altamente conservada de 191 aminoácidos con una masa molecular de unos 21 kDa. El extremo carboxiterminal de esta proteína contiene una región hidrofóbica, la cual actúa como una secuencia-señal para el transporte de E1 dentro del retículo endoplasmático y para el procesamiento dependiente de membrana del core¹⁸. Estudios *in vitro* han demostrado que la proteína del core podría interactuar con protooncogenes de las células del huésped y algunos trabajos la han implicado en el desarrollo de CHC en pacientes con infección crónica por el VHC, al igual que ha ocurrido con otras regiones genómicas¹⁹.

Las proteínas de la envoltura E1 y E2 son proteínas glucosiladas con peso molecular entre 31 y 70 kDa, respectivamente. Ambas glucoproteínas contienen un dominio hidrofóbico en el extremo N-terminal que tiene la función de anclaje a la membrana. E1 y E2 están implicadas en la unión a receptores celulares y su posterior difusión, es decir, en la entrada del virus dentro de las células del huésped. Las proteínas de la envoltura pertenecientes a diferentes aislados de VHC presentan un alto grado de heterogeneidad genética²⁰. El extremo N-terminal de E2 es el que mayor variabilidad presenta, por lo que la región situada en la posición 384-410 recibe el nombre de región hipervariable 1 (HVR 1).

El grupo de las proteínas no estructurales está formado por siete integrantes cuyas funciones no han sido aún completamente dilucidadas (Tabla 1). NS3 actúa como helicasa y proteasa, y la región NS5 contiene la actividad RNA polimerasa RNA dependiente, esencial para la replicación viral. Estas actividades enzimáticas son dianas potenciales para futuros tratamientos antivirales. La NS5A se ha implicado en la modulación de la respuesta antiviral del huésped mediada por el IFN. En concreto, se ha observado que la acumulación de mutaciones en una determinada región de NS5A, la conocida como ISDR (*interferon sensitivity determining region*) y

PKRBD²¹ se relaciona con una mejor respuesta al IFN en pacientes infectados por el genotipo 1b del VHC^{22, 23, 24}.

Tabla 1. Proteínas estructurales y no estructurales del virus de la hepatitis C

Proteína	Peso molecular (kDa)	Función
C	21	Proteína de la nucleocápside
E1	31-35 (21 sin N-glucosilación)	Proteína de la envoltura del virión
E2	68-72 (36 sin N-glucosilación)	Proteína de la envoltura del virión
P7	7	Desconocida
NS2	23	Componente de la proteasa NS2-3
NS3	70	Componente de la proteasa NS2-3, serínproteasa, NTPasa y helicasa
NS4A	8	Cofactor para la serínproteasa NS3
NS4B	27	Desconocida
NS5A	58	Desconocida, involucrada en la resistencia al IFN
NS5B	68	RNA polimerasa dependiente de RNA

Igualmente el genoma del VHC contiene regiones no codificantes altamente estables denominadas 5' y 3' UTR (*untranslated regions*). En la región UTR 5' se sitúa el lugar de unión del ribosoma para comenzar la transcripción de proteínas virales (IRES, *internal ribosomal entry site*), y en la región UTR 3' se encuentran elementos esenciales para la transcripción y replicación viral²⁵.

1.2.2 Genotipos virales

Se han descrito seis genotipos mayores (del 1 al 6) y más de 50 subtipos (Ej.:1*a*, 1*b*, 2*a*...) del VHC. Diferentes cepas virales del mismo subtipo pueden diferir en un 5-15% de su secuencia de nucleótidos, un 10-30% entre distintos subtipos, y un 30-50% entre distintos genotipos (Tabla 2).

Tabla 2. Heterogeneidad del virus de la hepatitis C.

Término	Nomenclatura	Grado de variación de la secuencia de nucleótidos
Cuasiespecies		1% al 5%
Cepas del mismo subtipo		5% al 15%
Subtipos	<i>a,b,c...</i>	15% al 30%
Genotipos	1 hasta 6	30% al 50%

Las frecuencias relativas de los genotipos varían según la localización geográfica (Figura 3). Así, el genotipo 1*a* es el más frecuente en EE.UU y el Norte de Europa. El genotipo 1*b* tiene una distribución mundial y es generalmente el más común. Los genotipos 2*a* y 2*b* también tienen una distribución mundial, representando un 10-30% de los genotipos, y son particularmente frecuentes en Japón y el Norte de Italia^{19, 26}.

El genotipo 3 es más frecuente en la India y el genotipo 4 en África, con presencia de alta prevalencia en Egipto. Los genotipos 5 y 6 son raros y predominan en Suráfrica y el Sudeste Asiático respectivamente.



Figura 3. Distribución geográfica de los diferentes genotipos del VHC.

En EE.UU, los genotipos *1a* y *1b* son los responsables de aproximadamente el 75% de los casos de HCC, los genotipos *2a* y *2b* del 13-15%, y el genotipo *3a* del 6-7% de los casos. El resto de genotipos son muy infrecuentes. En algunos pacientes se pueden presentar una mezcla de genotipos, siendo lo más común la coexistencia de los genotipos *1a* y *1b*. En raras ocasiones no es posible definir el genotipo, bien porque se trata de un nuevo genotipo aún no clasificado o bien porque los niveles de RNA son demasiado bajos para poder ser caracterizados.

Los genotipos virales difieren poco en sus expresiones clínicas y no están claramente asociados con distintos pronósticos o distinta severidad en la enfermedad hepática causada. Así, la infección por cualquier genotipo puede conducir a una cirrosis hepática y, finalmente a CHC, siendo la frecuencia de

estas complicaciones similar con cualquier genotipo. Sin embargo, hay dos manifestaciones de infección por distintos genotipos que merecen ser descritas. En primer lugar, la infección crónica por genotipo 3 se ha asociado con propensión a padecer esteatosis hepática confirmada histológicamente, con resolución posterior tras desarrollar respuesta al tratamiento antiviral²⁷. En segundo lugar, y más importante, es que la respuesta a la terapia con IFN- α es muy distinta entre genotipos, de modo que las tasas de respuesta entre pacientes infectados por genotipos 2 ó 3 es entre dos y tres veces más elevada que entre pacientes infectados por genotipo 1²⁸.

1.2.3. Inmunopatogénesis del VHC

El VHC causa una infección crónica clínicamente silente en pacientes inmunocompetentes. Los mecanismos mediante los cuales el VHC desarrolla una infección mantenida, implican la respuesta inmune celular como la responsable de la lesión hepática inflamatoria. La respuesta inmune a cualquier infección viral se compone de una respuesta inespecífica a cargo de natural killer (NK), neutrófilos y macrófagos que se activan, y proporcionan el tiempo suficiente a las células presentadoras de antígeno para procesar las proteínas virales y presentarlas a las células B, linfocitos T helper (Th) y células T citotóxicas (Tc) (Figura 4). Los linfocitos B producen anticuerpos que pueden aclarar el virus de la circulación y proteger al huésped de una eventual reinfección. Mediante receptores específicos situados sobre la superficie de los linfocitos T, las células Th reconocen péptidos virales que derivan de la fagocitosis y proteólisis y que son presentados a través de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de tipo II. Tras la activación de receptores específicos de los linfocitos T, las células Th activan la diferenciación e inducción de células B y estimulan a los linfocitos T citotóxicos específicos contra el virus.

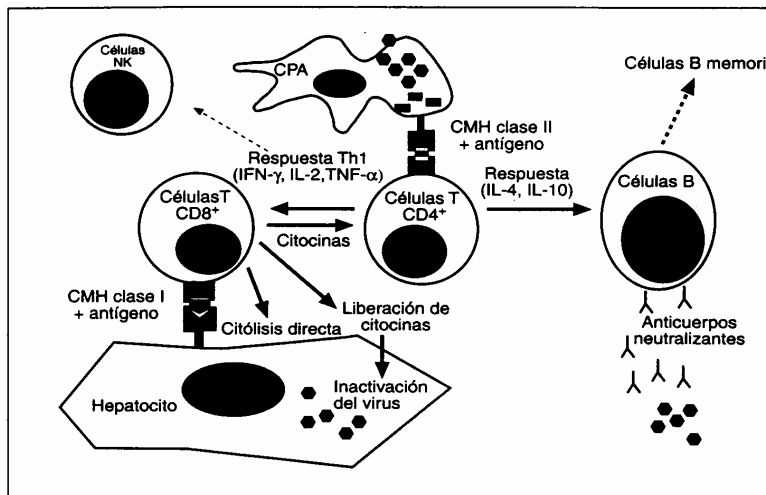


Figura 4. Activación del sistema inmune tras una infección viral.

Se distinguen dos tipos principales de células cooperadoras: Th₁ y Th₂. Tras el contacto con el antígeno mediante las células presentadoras de antígeno, los linfocitos CD4+ Th₁ secretan citoquinas de tipo 1 como el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , mientras que los linfocitos CD4+ Th₂ secretan citoquinas de tipo 2 como IL-4 e IL-10. Una respuesta dominada por citoquinas de tipo Th₁ favorece la inmunidad dirigida por células T CD8+ y NK, mientras que una respuesta CD4+ dominada por citoquinas Th₂ inhibe la respuesta Th₁ y favorece la producción de anticuerpos por los linfocitos B²⁹. El tipo de citocinas secretadas por estas células T CD4+ específicas desempeñan un papel relevante en la evolución de la infección aguda^{30, 31, 32}. Así, una respuesta CD4+ caracterizada por la secreción de citocinas de Th₁ se asocia con infección aguda autolimitada, mientras que la secreción de tipo Th₂ se asocia con el curso a la cronicidad. La expresión elevada de citocinas Th₁ en el hígado también podría relacionarse con el daño tisular²⁹.

Mediante MHC de tipo I, los linfocitos citotóxicos CD8+ reconocen los péptidos virales que han sido procesados y sintetizados por las células infectadas, y la lisis de las células infectadas por el virus por citotoxicidad directa, induciendo la formación de poros en la membrana de las células diana mediante la secreción de perforinas y serinproteasas en los gránulos, o de forma indirecta, liberando mediadores proapoptóticos como el TNF- α .

Respuesta inmune humoral

El VHC puede desarrollar una infección crónica a pesar de una respuesta inmune humoral y celular contra las proteínas virales. El virus puede escapar a la respuesta humoral si la cinética de infección y replicación viral no permite que los anticuerpos específicos frente al VHC producidos tras la infección primaria lo neutralicen por completo. Aunque los anticuerpos específicos frente al VHC pueden interferir en la entrada viral hacia las células del huésped y opsonizar el virus para su eliminación por los macrófagos, no son capaces de eliminar la infección de las células ya infectadas. Además, el VHC posee una alta tasa de mutación, especialmente en la región hipervariable que codifica las proteínas de la envoltura que podrían ser reconocidas por los anticuerpos neutralizantes (anticuerpos que podrían unirse y eliminar al virus)^{33, 34}. Varios estudios han demostrado que la respuesta inmune humoral puede seleccionar variantes del VHC con cambios en su secuencia genómica que le permitan escapar del reconocimiento por los anticuerpos³⁵. Sin embargo algunos estudios han sugerido la posibilidad de que el VHC cause infección persistente en ausencia de mutaciones de la región hipervariable^{36, 37}. De este modo, la progresión hacia la cronicidad en la infección por el VHC es muy probablemente un proceso multifactorial que depende de distintos aspectos de la interacción virus-huésped.

Respuesta inmune celular

La respuesta inmune durante la fase aguda de la infección de los linfocitos Th y Tc difiere entre pacientes que se recuperan de la infección y aquellos que desarrollan una infección crónica³⁸. La respuesta celular contra el VHC podría verse interrumpida por distintos mecanismos. En primer lugar, el VHC induce una débil respuesta en pacientes que desarrollan una infección crónica. En la sangre de pacientes con HCC, la cantidad de precursores de células Tc que son específicas para péptidos virales es bastante inferior a la que existe para los virus de la influenza o el citomegalovirus. Las razones que explican esta relativa debilidad de la respuesta inmune son por el momento desconocidas. De hecho, una inmunosupresión o una inmunotolerancia hacia las proteínas virales no son las causas que explican la persistencia de la infección, ya que la mayoría de los pacientes crónicamente infectados activan respuestas inmunes normales contra otros agentes virales³⁹. Paradójicamente, una respuesta inmune ineficaz para aclarar la infección viral puede ser más dañina para el hígado, causando inflamación crónica y, tras varios años, fibrosis hepática y cirrosis.

1.3. TRATAMIENTO ANTIVIRAL DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C

1.3.1 Interferón (IFN)

Los distintos resultados obtenidos en el tratamiento con IFN- α han sido pobres. Sólo entre el 15-20% del total de pacientes tratados durante un año negativizaban el RNA-VHC. Aproximadamente un 25% de los pacientes tratados respondían de forma transitoria, recidivando la enfermedad al suspender el tratamiento.

Las formas de IFN-peg han sido desarrolladas con el propósito de prolongar la vida media plasmática del fármaco desde unas horas hasta varios días. Esto permite la administración del fármaco una vez por semana obteniendo una mejoría considerable tanto en la farmacocinética como en la farmacodinámica, con una mayor y más eficaz supresión de la actividad antiviral en comparación con la administración del IFN estándar tres veces por semana.

Dos formas de IFN-peg han sido desarrolladas y evaluadas, tanto en monoterapia como en combinación con RBV. Estas formas difieren en su estructura fisicoquímica: IFN-peg α 2b (Schering-Plough) consiste en una molécula de polietilenglicol de 12 kDa unida al IFN- α 2b, mientras que IFN-peg α 2a (Hoffmann-Roche) se compone de una molécula de 40 kDa unida al IFN- α 2a. Estas diferencias determinan distintas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas, así, IFN-peg α 2a tiene una vida media más larga y un menor volumen de distribución corporal en comparación con el IFN-peg α 2b. Esta última forma es metabolizada principalmente por vía renal, mientras que la primera lo hace por vía hepática. A pesar de estas diferencias, la eficacia de ambos fármacos es bastante similar en los estudios publicados.

1.3.2 Ribavirina (RBV)

La RBV es un nucleósido sintético de la purina cuyo mecanismo de acción se basa en que inhibe la actividad de la inosin-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), enzima encargada de la síntesis de nucleótidos. Entre los otros mecanismos de actuación se encuentra la unión a receptores Th1 y Th2 de los linfocitos, por lo que inhibe posteriormente la enzima RNA polimerasa. El tratamiento con monoterapia de RBV reduce el RNA viral en sólo 0.5 log₁₀ copias por ml; la asociación con IFN permite obtener unas tasas de respuesta mejores en un 20-30%.

El mecanismo de producción de anemia, está basado en el aumento de la oxidación debido a la acumulación de trifosfato de RBV, metabolito de la RBV, en el interior del hematíe, y este mecanismo se ve agravado porque la concentración de RBV dentro del hematíe es 100 veces mayor que en el plasma.

En un principio se pensó que la RBV tenía un efecto “cosmético”, disminuyendo solo las transaminasas. En 1995 se publicó un estudio aleatorizado en 58 pacientes con HCC, comparando la RBV a una dosis de 1200 mg/día durante 48 semanas con placebo. La reducción de ALT fue del 54% en el grupo de RBV, mientras que en los controles era del 5%. En cambio, no modificaba la carga viral del VHC ni durante el tratamiento ni después del mismo⁴⁰. Esto significa que la RBV no tiene un efecto antiviral propio frente al VHC y no es eficaz en monoterapia. Sin embargo, cuando se asocia al IFN- α mejora claramente la tasa de respuesta virológica sostenida (RVS).

En un ensayo aleatorizado, se comparó la eficacia del IFN- α en monoterapia o en combinación con RBV(1.000-1.200 mg/día) durante 24 ó 48 semanas. Se demostró que el tratamiento combinado durante 48 semanas era

el más efectivo. Al suspender el tratamiento, se observó una tasa de recidivas del 46% en el grupo de IFN- α frente al 24% con IFN- α y RBV⁴¹.

1.3.2.1 Mecanismo de acción

Se podría pensar que la RBV es un adyuvante del IFN- α , ya que aparentemente no disminuye la carga viral. La realidad es que la RBV tiene un efecto sinérgico, y actúa cooperando y potenciando al IFN- α . Aunque su mecanismo de acción no se conoce con exactitud, recientemente se ha demostrado que tiene una leve acción sobre la replicación viral y que es un mutágeno del VHC.

La RBV entra en la célula hepática como un profármaco y es convertida en monofosfato, difosfato y trifosfato (RTP) de RBV, a través de una acción secuencial de 3 kinasas celulares. Hasta este momento se han propuesto los siguientes mecanismos de acción:

- Favorece la inmunidad del huésped frente al VHC potenciando una respuesta Th1 con aumento de citocinas como IFN- γ y TNF- α e IL-2, que aumenta la lisis de los hepatocitos infectados y reduce la producción de viriones.

- Inhibición de IMPDH, una enzima que transitoriamente depleciona el pool intracelular de trifosfato de guanosina, que es esencial para la transcripción viral y la replicación de los virus RNA. No obstante, otros inhibidores específicos de IMPDH como el merimepodib (VX-497) no han demostrado de una manera clara un efecto antiviral VHC.

- Tampoco parece que la RBV sea un potente inhibidor de la RNA polimerasa, ya que solo produce una leve disminución de la carga viral (<0,5

\log_{10}), y no aumenta la pendiente de la primera fase de reducción del RNA-VHC.

- La RBV actuaría como un mutágeno del VHC al incorporarse dentro de los nuevos genomas sintetizados, dando lugar a mutaciones y originando un “error catastrófico” de la replicación (mutaciones suicidas). El resultado final es que los viriones infecciosos van desapareciendo, y se evita que el virus ataque a los hepatocitos sanos.

Se ha comprobado, que la administración de RBV en monoterapia produce una precoz y leve reducción de la carga viral. Este efecto es transitorio y desaparece al cuarto día⁴². Por tanto, la RBV actúa en esta primera fase reduciendo la carga viral. Estos datos se confirmaron en un estudio posterior administrando RBV en monoterapia durante 4 semanas seguido de IFN- α y RBV. Durante el periodo de administración de RBV la reducción de la carga viral fue solo de 0,34 \log_{10} . Al añadir el IFN- α la reducción diaria de la carga viral en la primera fase fue de 2 \log_{10} /día, y en la segunda fase de 0,15 \log_{10} /día⁴³.

El efecto mutagénico de la RBV se ha demostrado *in vitro*. No obstante, la extrapolación de los resultados no es fácil, ya que la concentración de RBV era muy alta, y nunca se ha observado esas concentraciones plasmáticas en humanos. Los estudios *in vivo* son escasos y en cierta manera contradictorios. Estudiando la región NS5B en pacientes tratados con RBV en monoterapia, Young y cols.⁴⁴ observaron un incremento de las mutaciones no estadísticamente significativo de 3 veces su valor con respecto al periodo basal.

En un estudio más reciente, Asahina y cols.⁴³ siguen a 34 pacientes infectados por el VHC genotipo1 por un tiempo variable antes del tratamiento, después administran RBV en monoterapia durante 4 semanas, seguido de

IFN- α y RBV durante 24 semanas. Secuencian la región NS5A y NS5B antes y después de las 4 semanas de RBV. De los 34 pacientes 10 mostraron nuevas mutaciones en la región NS5A después del tratamiento con RBV en monoterapia, y 8 en la región NS5B. En estos pacientes la tasa de mutaciones fue significativamente mayor después de la RBV comparada con el periodo de observación (proporción de mutaciones en NS5A antes de RBV $0,6 \times 10^{-2}$, después $2,9 \times 10^{-2}$, $P=0.02$; NS5B antes $0,24 \times 10^{-2}$ y después $1,3 \times 10^{-2}$, $P=0.02$). También la proporción de pacientes que presentaron mutaciones en la región NS5A con la monoterapia fue mayor entre los que tenían una RVS que en los NR (80% y 8%, respectivamente, $P<0.001$). Estos datos, si son confirmados, indican que la RBV favorece las mutaciones del genoma viral y progresivamente inactiva al virus.

Se ha intentado probar el efecto mutagénico de la RBV en un modelo matemático hipotético y muy complejo. Este modelo también intenta demostrar el aumento de la respuesta al final de tratamiento (RFT) y de la RVS en el tratamiento combinado (Figura 5)⁴⁵. Los hepatocitos infectados producen una liberación de viriones infecciosos y no infecciosos. El IFN inhibe la producción del VHC, y la RBV introduce mutaciones dentro del genoma VHC e incrementa la producción de viriones no infecciosos. Se piensa que el IFN y la RBV favorecen la respuesta inmunológica a través de los NK y T linfocitos, consiguiendo la muerte de las células infectadas por el VHC. También la RBV puede actuar a través de un mecanismo no citolítico, curando las células infectadas sin destruirlas. Esto explicaría por qué la RBV tiene ese efecto llamado “cosmético” y normaliza las transaminasas⁴⁰. Las células dianas del virus, que son los hepatocitos sanos, pueden ser atacadas por los viriones infecciosos pero no por los no infecciosos. También las células que han sido curadas por el IFN- α y la RBV, son potencialmente una diana del VHC si persiste la infección activa. Además, este modelo, intenta explicar el aumento de la RFT y RVS al añadir la RBV, que aumenta la disminución de la carga viral en la segunda fase. El efecto de la RBV depende

de la capacidad del IFN- α al bloquear la producción de viriones. Cuando la efectividad del IFN es mejor, como en el genotipo no-1, la RBV probablemente tiene un efecto algo menor, ya que la producción de viriones está bloqueada por el IFN- α . En estos casos una dosis más baja de RBV (800 mg/día) puede ser eficaz. En cualquier caso la RBV es necesaria, ya que la RVS fue en el genotipo no1 del 29% en los tratados con IFN- α y del 66% con IFN- α y RBV, ambos durante 48 semanas⁴¹.

En pacientes difíciles de tratar, como en el genotipo-1, la efectividad del IFN- α es menor, y es cuando las dosis máximas de RBV (1.000-1.400 mg/día) son más necesarias para aumentar la RVS. En resumen, la RBV tiene un efecto antiviral leve. No obstante, actúa sinérgicamente con el IFN- α a través de su probable acción mutagénica, disminuyendo la proporción de recidivas y aumentando la tasa de RVS, especialmente en aquellos pacientes difíciles de tratar.

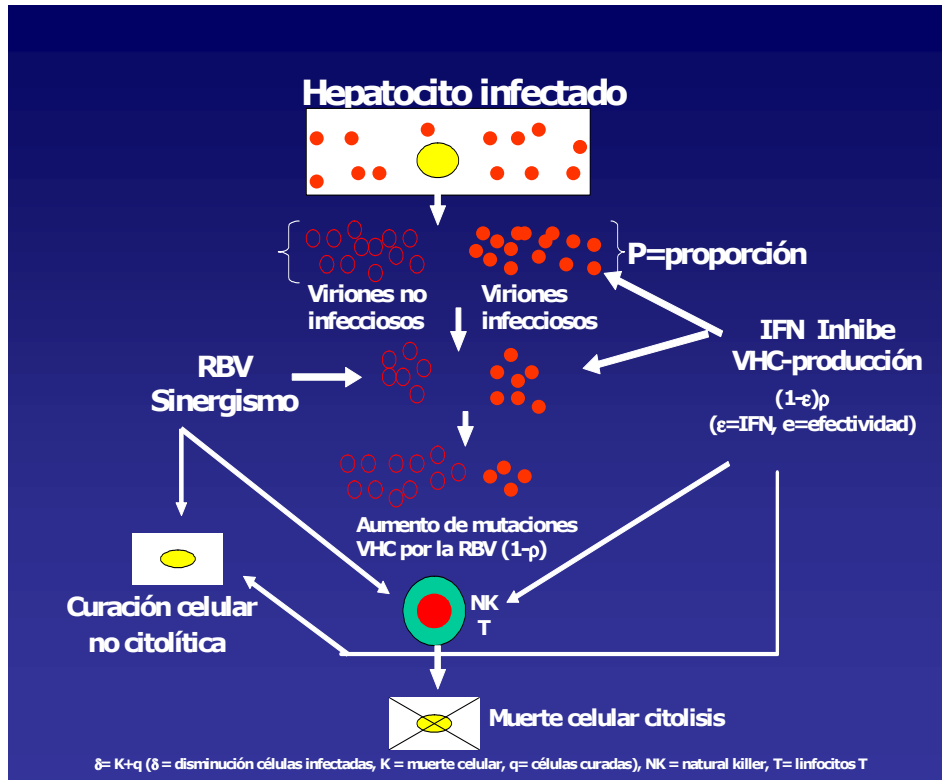


Figura 5. Mecanismo de acción de IFN y RBV.

1.3.2.2 Farmacocinética de la RBV

La RBV penetra rápidamente en el interior de las células eucarióticas. De su fosforilación intracelular, para formar estructuras nucleotídicas de mono-, di- y trifosfato, depende la actividad antivírica. La farmacocinética de la RBV conlleva tres fases: absorción, distribución y eliminación. Después de una dosis oral la RBV es rápidamente transportada vía gastrointestinal, con un tiempo de concentración máxima (T_{\max}) de 1,5 horas. La biodisponibilidad de la RBV es de un 50%. Se distribuye rápidamente por casi todas las células del organismo y tiene una fase de eliminación muy lenta. Se acumula

progresivamente después de múltiples dosis, alcanzando a la cuarta semana una concentración estable. La vida media, como consecuencia de la lenta eliminación del compartimento celular, es de 298 horas.

La concentración de RBV plasmática disminuye en la fase de eliminación, y tiende a salir de las células para mantener un gradiente de concentración intra-extracelular. El transporte de RBV a través de la membrana plasmática celular se debe a un transportador sensible a los análogos de nucleósidos sintéticos. El transportador de nucleósidos es incapaz de transportar la RBV fosforilada, lo que significa que en las células nucleadas hay un proceso lento de desfosforilación. Estas células incluyen a los espermatozoides y óvulos, lo que obliga a tomar medidas contraceptivas por su efecto teratógeno. Sin embargo, esto no ocurre en los eritrocitos. Por tanto, en ausencia de desfosforilación, los eritrocitos se lisan para liberar la RBV y dan lugar a la hemólisis. Después de múltiples dosis de RBV se ha observado una acumulación en los eritrocitos, que es 60-70 veces mayor que en las células nucleadas, con una vida media de eliminación que puede alcanzar las 960 horas (40 días).

La RBV en su mayoría es aclarada por el riñón, y las concentraciones plasmáticas están determinadas por la función renal. Por tanto, la RBV se debería dosificar de acuerdo con la función renal. Jen y cols.⁴⁶ realizaron un estudio clínico retrospectivo sobre la farmacocinética de la RBV en pacientes con HCC en tratamiento combinado. Utilizaron 3.450 sueros de 1.105 pacientes, y demostraron que el peso corporal, género, edad y la creatinina sérica afectaban el aclaramiento metabólico de la RBV. Es necesario resaltar que habitualmente los pacientes con HCC tienen una buena función renal y no se modifica el aclaramiento de la RBV. En cambio, en los cirróticos avanzados el riñón puede jugar un papel más importante, y hay que tenerlo en cuenta a la hora de tratar a los pacientes en el periodo pretrasplante.

1.3.2.3 Dosificación de la RBV

Ya se ha comentado la importancia de la dosis de RBV en relación con la RVS. En la práctica clínica con IFN-peg, en los pacientes con genotipo-1 se dosifica según peso, 1.000 mg/día en los que tienen ≤ 75 kg, y 1.200 mg/día para los >75 kg. También se puede dosificar en mg/kg, al menos es necesario una dosis $>10,6$ mg/kg. Esta última forma de dosificación, quizá más exacta, es complicada en la práctica clínica, y los ajustes de la dosis con las presentaciones actuales de 200 mg no facilitan una dosificación en mg/kg: Copegus[®] 200 mg, comprimidos con cubierta pelicular, los comprimidos no se deben romper ni triturar; Rebetol[®] 200 mg, cápsulas duras. En la actualidad se ha propuesto la necesidad de comercializar comprimidos de 50 mg para el ajuste de dosis más óptimo.

En los pacientes con genotipo-2 y 3, a partir del estudio de Hadziyannis y cols.⁴⁷, 800 mg de RBV asociado a IFN-peg $\alpha 2a$ durante 24 semanas es suficiente. En la época del IFN- α los primeros estudios se realizaron con una dosis de 800 mg de RBV y ya mostró su efectividad. Por el contrario, una dosis de 600 mg no mejoraba la respuesta⁴⁸.

La importancia de la dosis de RBV se reflejó en el estudio de Manns y cols.⁴⁹ para el registro del IFN-peg 2b. No solo se observó una mayor tasa de RVS en los pacientes que recibieron la mayor dosis de IFN-peg, sino que también la RVS estaba relacionada con una mayor dosis de RBV. De acuerdo con este análisis la RVS se fue incrementando hasta una dosis de 13 mg/kg, entre 13 y 15 mg/kg el aumento de la tasa de RVS era escaso y después de 15 mg/kg no aumentaba. En resumen, se podría afirmar que la dosis más efectiva de RBV oscila entre 11-13 mg/kg, que corresponde a 800-1.400 mg dependiendo del peso. Los pacientes que recibieron una dosis de RBV $>10,6$ mg/kg presentaron una tasa de RVS del 61%; en cambio, si la dosificación es $\leq 10,6$ mg/kg la RVS fue del 50%. Esto puede reflejar un menor peso en los

individuos que respondían favorablemente. La importancia de la dosificación queda representado en la Tabla 3. En función del peso, un paciente puede recibir dosis por kilo bajas o altas según el esquema de tratamiento actual. Así, un paciente de 45 kilos con un tratamiento de RBV de 800 mg, recibe casi 18 mg/k comparándolo con un paciente de 90 kilos que con la misma dosis recibe sólo 8,8 que es una dosis subóptimo para alcanzar RVS.

Tabla 3. Dosificación ideal de RBV

Dosificación ideal de RBV

800 mg/día < 50 Kg
1000 mg/día 50-75 Kg
1200 mg/día > 75 Kg

13 \pm 2 mg/k día

Dosis RBV

		800 mg	1.000 mg	1200 mg
Peso	45 k	18 mg/k		
	70 k		14 mg/k	
	90 k			13 mg/k
	100 k			12 mg/k

La dosificación máxima de la RBV ha sido de 1.400 mg, pero una aproximación interesante en el tratamiento de la HCC es aumentar la dosis de RBV para conseguir una mayor tasa de RVS. Se han ensayado dosis altas de RBV en pacientes con genotipo-1 VHC y alta carga viral tratados por primera vez. En este estudio piloto de solo 10 pacientes se demostró que una dosis de RBV entre 1.600 y 3.600 mg/día, asociado a la dosis estándar de IFN-peg,

conseguía una RVS en el 90%. Los efectos adversos fueron importantes y fue necesaria la administración de eritropoyetina en el 100% y transfusión sanguínea en el 20% de los casos⁵⁰. Este estudio, que debería ir dirigido a NR, demuestra que aumentando la dosis de RBV se consigue incrementar la tasa de RVS, sin embargo, es necesario ajustar una dosis óptima que no origine tantos problemas de anemia.

1.3.2.4 Contraindicaciones de la RBV

El tratamiento combinado con RBV está contraindicado en los pacientes con insuficiencia renal avanzada, por sus características farmacocinéticas que inducen graves anemias hemolíticas. Además la RBV es escasamente eliminada por la hemodiálisis. De hecho en la ficha técnica se indica claramente que “la farmacocinética de la RBV se encuentra alterada en los pacientes con disfunción renal como consecuencia de una reducción de su aclaramiento. Aquellos pacientes con un aclaramiento de creatinina < 50ml/minuto no deben recibir RBV. Si la creatinina sérica aumenta a > 2 mg/dl, su administración debe suspenderse. No obstante, hay alguna experiencia con el tratamiento combinado en pacientes en diálisis con infección por el VHC. Esto está reservado a centros especializados, que puedan mantener un control estricto de la Hb y que ajusten las dosis de RBV según las tasas plasmáticas. En esas experiencias limitadas se ha controlado la anemia con eritropoyetina. En resumen, en la insuficiencia renal está contraindicado el uso de RBV y se puede administrar IFN en monoterapia, aunque la incidencia de efectos adversos es más alta que en pacientes IRC. En los pacientes trasplantados el IFN- α está contraindicado porque aumenta el riesgo de rechazo.

La RBV está contraindicada en pacientes con enfermedad cardíaca grave, incluida la cardiopatía inestable. También hay que tener precaución en

la enfermedad pulmonar crónica y en la enfermedad cardiaca compensada, ya que la anemia puede exacerbar los síntomas de disnea y cansancio y descompensar estos procesos. Por tanto, se requiere un control más estricto y reducir la dosificación de RBV. En la cirrosis descompensada, antes del trasplante, sería ideal erradicar el virus, pero el manejo de estos pacientes es muy complicado y las alteraciones hematológicas se ven incrementadas por el hipersplenismo de base; también estos pacientes se deben tratar en centros especializados. Las hemoglobinopatías graves, como la talasemia mayor, son otra contraindicación. Por último, la RBV no se puede usar durante el embarazo ni durante la lactancia.

1.3.2.5 Efectos adversos de la RBV

Se trata de un fármaco caro y con efectos adversos importantes relacionados con la dosis: anemia hemolítica, alteraciones gastrointestinales, mialgias, prurito, tos, cefalea, sequedad de boca, sabor metálico, disnea, degeneración retiniana, cataratas subcapsulares, incremento del ácido úrico y genotoxicidad⁵¹.

Anemia

La incidencia de anemia en pacientes con HCC es elevada, siendo el origen de la misma multifactorial abarcando desde la propia anemia por trastornos crónicos, la derivada del tratamiento farmacológico, el sangrado o déficit nutricionales.

La anemia es una de las enfermedades hematológicas más frecuentes y tiene múltiples implicaciones en el aumento de la morbi-mortalidad. La presencia de anemia supone un marcado incremento de mortalidad cardiovascular y de cualquier actuación a nivel de ámbito quirúrgico⁵².

El tratamiento combinado de IFN y RBV incrementa las tasas de anemia secundaria a depresión de médula ósea y hemólisis respectivamente, obligando a disminuir la dosis o incluso a la suspensión del mismo. Entre los factores más importantes en relación con la anemia relacionada con el uso de RBV está la pérdida de adherencia al tratamiento debido a este efecto secundario así como la posterior disminución de RVS. La disminución de su dosis o la suspensión de la toma provoca una considerable alteración de la respuesta final al tratamiento. Al reducir la dosis de RBV, en las primeras 20 semanas de tratamiento ($\geq 80\%$ dosis inicial a $\leq 60\%$), también se reducía la RVS, del 21% al 11%⁵³, aunque estos datos pueden ser sometidos a debate por la existencia de otros estudios realizados.

En un metanálisis elaborado por Chang y cols.⁵⁴, se apreció un riesgo del 9% de desarrollar anemia durante el tratamiento y se observó que el riesgo era mayor en los estudios desarrollados en Asia. El tratamiento combinado de IFN y RBV puede hacer que más del 50% de los pacientes presenten astenia o fatiga como síntoma principal⁵⁵. La anemia puede liderar dichos síntomas y puede exacerbar patología de base cardíaca o pulmonar, así como afectar gravemente la calidad de vida⁵⁶. El análisis de varios estudios publicados evidencia que el tratamiento combinado produce un empeoramiento marcado de la astenia, incrementando en consecuencia los indicadores de predicción de suspensión de tratamiento. La dosis de RBV es fundamental a la hora de obtener una mayor RVS.

Múltiples estudios han permitido obtener en cifras objetivas los descensos de Hb durante el tratamiento así como los porcentajes de disminución de dosis de RBV. Uno de ellos realizado por Sulkowski y cols.⁵⁷ sobre 595 pacientes evidenció el descenso de Hb en las primeras 2-4 semanas de tratamiento con descensos medios entre 2 y 3 g/dl. De todos ellos, por lo menos un tercio de los pacientes disminuyó el nivel de Hb basal en 25%, cayó por debajo del 11% en un 33% y hasta en un 12% las cifras de Hb eran

menores de 10 g/dl. Por sexo, las mujeres tenían 4 veces más riesgo de disminuir los valores de Hb por debajo de 10 g comparadas con los hombres.

Los efectos secundarios derivados del tratamiento obligan a modificar dosis de RBV. Así tenemos varios estudios que corroboran dichos hechos. Fried y cols.⁵⁸ estudiaron los efectos adversos de un grupo de 1.121 pacientes que recibieron tratamiento con IFN-peg α 2a, α 2b más RBV y otro α 2a con placebo. En el 20% de los pacientes que recibieron IFN-peg y RBV fue obligado modificar dosis debido a la presencia de anemia.

Entre los objetivos añadidos en el estudio de anemia se encuentra el encontrar factores que predispongan a la misma. En el metaanálisis de Chang y cols.⁵⁴, la edad por encima de 50 años, sexo femenino, bajo recuento plaquetario (<150.000) y bajo peso (menores de 65 kilos) estaban relacionados con un mayor riesgo de anemia severa y se sugiere que deben ser sometidos a una monitorización más estrecha durante el tratamiento.

Otro estudio muy interesante que volvía a enfatizar en la relación de la dosis de RBV con la anemia es el desarrollado por Hidetsugu y cols.⁵⁹ en Tokio. Incluyó a 97 pacientes que fueron sometidos a tratamiento combinado. Se trataba de confirmar los hallazgos de estudios previos que objetivaban el descenso de Hb a partir de la 1ª semana con estabilización posterior en la cuarta y que la suspensión de la terapia provoca una elevación progresiva hasta la cifras pretratamiento a las 3-10 semanas. Los efectos secundarios fueron evaluados y en aproximadamente el 25% de los pacientes requirieron ajuste de dosis por parte alguno de los fármacos. Entre las consecuencias sacadas del estudio se encuentra que no hay diferencias en la concentración plasmática de RBV y la forma de administración de la dosis diaria (junta o separada). Los niveles de Hb descendieron progresivamente en la primera semana y estaban estrechamente relacionados con la concentración de RBV. Un análisis de los factores que contribuyeron a disminuir la dosis o suspender

la RBV apreció que entre los mismos se encontraban el sexo femenino, ya descrito en otros estudios, la concentración de RBV en la primera semana y el descenso de Hb. Sin embargo en este estudio, no se apreció correlación entre concentración de RBV y RVS como se objetivaba en otros estudios.

Entre dichos estudios se encuentra el realizado por Maynard y cols.⁶⁰ en el año 2008 con 31 pacientes e intentando relacionar TPR asociadas a RVS, y en este estudio sí se observaron evidencias. Tras recibir dicho grupo tratamiento combinado, destacando además la existencia en el mismo de 23 pacientes NR, se apreció que concentraciones plasmáticas de RBV por encima de 2 mg/dl en la semana 4 de tratamiento, son un buen predictor de RVS. Los pacientes que presentaban a la semana 4 tasas mayores de 2 mg/l alcanzaban el 100% de respuesta virológica precoz (RVP) a la semana 12 y tenían una RVS alrededor del 80%. Así, la media de concentración de RBV en el grupo que alcanzó respuesta sostenida era de 2.28 mg/l, en comparación con las cifras del grupo de NR donde la media era menor de 2, exactamente 1.62 mg/l. Tras realizar análisis multivariante, dichos resultados eran independientes del genotipo, recordar que el 1 tiene peores resultados con respecto al 2 y al 3, de la carga viral y del tipo de paciente que recibió tratamiento naive y no respondedor.

Por último en un estudio llevado a cabo en Japón por Inoue y cols.⁶¹ con 19 pacientes, se apreció una fuerte correlación entre los niveles intraeritrocitarios de RBV, sus metabolitos fosforilados y la caída de niveles de Hb y hematocrito (Figura 6). Tras recibir IFN- α -2a y RVB a dosis estándar, se apreció que niveles intraeritrocitarios mayores de 1000 μ M se asociaba a un marcado descenso de Hb en los días 7 y 14 y hasta el 28 con el posterior desarrollo de anemia. No se apreció correlación entre la dosis de RBV y el descenso de Hb. Como conclusión más importante del estudio es que el hematíe juega un papel fundamental y se convierte en el principal reservorio de la RBV y sus metabolitos, con vital importancia en el desarrollo

de anemia.

$$C_{rbc} = \frac{C_w - C_p(1 - Ht)}{Ht}$$

Crbc: Concentración de RBV intraeritocitaria
Cw: Concentración total RBV hemática
Cp: Concentración de RBV en plasma
Ht: Hematocrito

Figura 6. Cálculo de RBV intraeritocitaria.

Algunas poblaciones son más susceptibles a la anemia, como la cirrosis hepática por el hiperesplenismo, coinfectados por VIH y los pacientes con trasplante hepáticos. En este último grupo hasta un 81% de los pacientes pueden presentar una Hb <10 g/dL. En el 12% a 17% de los coinfectados hay que suspender el tratamiento, casi un 5% presentan una Hb inferior a 8 g/dL, a pesar de las dosis bajas de RBV. También hay que evitar el tratamiento conjunto con zidovudina, ya que incrementa el riesgo de anemia hemolítica.

- **Mecanismo de producción de anemia**

Como hemos comentando el tratamiento combinado contribuye al desarrollo de la anemia. El IFN produce depresión de médula ósea y es causante de neutropenia, trombopenia y anemia, aunque ésta última es más ocasional y la causa fundamental de la misma es por la RBV. El mecanismo

de producción de anemia por parte de la RBV es hemolítico y dosis dependiente. El efecto es reversible y desaparece a las 4-8 semanas de suspender el tratamiento.

Después de entrar la RBV en el interior del hematíe, gracias al transportador ENT-1, es fosforilada lo que conlleva una disminución de adenosina trifosfato. El acúmulo de derivados fosforilados en el interior del hematíe produce un descenso marcado de ATP junto a los niveles de adenosina ya comentados. La concentración de RBV plasmática disminuye en la fase de eliminación y tiende a salir de las células eritrocitarias para mantener un gradiente de concentración intra-extracelular. Este transporte de RBV a través de la membrana plasmática celular se debe a un transportador sensible a análogos de nucleósidos sintéticos⁶².

El transportador de nucleósidos es incapaz de transportar la RBV fosforilada en las células anucleadas, como los eritrocitos, y es probable que ello sea debido a que las células anucleadas carezcan de las enzimas necesarias para la desfosforilación como podría ser el caso de las 5' nucleotidasas o de la fosfatasa alcalina. Por tanto, en ausencia de desfosforilación, los eritrocitos se lisan para liberar la RBV y dan lugar a la hemólisis. Después de múltiples dosis de RVB se ha observado una acumulación en los eritrocitos, que es 60-70 veces mayor que en las células nucleadas, con una vida media de eliminación que puede alcanzar las 960 horas (40 días)⁶³. Los niveles séricos de RBV podrían tener relación con el aumento de efectos adversos. Un hallazgo curioso fue descrito por Homma y cols.⁶⁴, y ya comentado previamente, al apreciar que la marcada elevación de metabolitos fosforilados de RBV en el interior del hematíe estaba muy asociada al descenso de Hb, aunque la concentración de Hb durante los primeros días no se objetivara. La causa de este hallazgo podría estar en que casi toda la RBV absorbida en la primera semana es almacenada en los hematíes, y si los niveles de RBV plasmáticos son altos se produce una

distribución rápida por otros órganos con la consecuente aparición de efectos adversos de forma precoz. También el almacenaje en el interior del eritrocito, puede hacer que no sea fácil calcular los niveles reales de RBV plasmática. En Figura 7 se representa el mecanismo de producción de anemia hemolítica por RBV. La membrana del eritrocito es susceptible al estrés oxidativo resultando una hemólisis extravascular. También la RBV induce anemia a través de la supresión de la eritropoyesis. Otro mecanismo es la toxicidad mitocondrial cuando se asocia con otros análogos de nucleósidos como sucede en el tratamiento de pacientes coinfectados por VIH y VHC ^{65,66}.

Se han descrito algunos factores que influyen en hemólisis inducida por la RBV, como el nivel de plaquetas previo al tratamiento, el fenotipo de la haptoglobina y la administración conjunta con IFN. El IFN- α puede contribuir a la anemia por su efecto supresor sobre la hematopoyesis y por la inducción de hemólisis inmune así como acelerar el proceso de apoptosis de células precursoras. No obstante, la anemia relacionada exclusivamente con el IFN- α es muy rara.

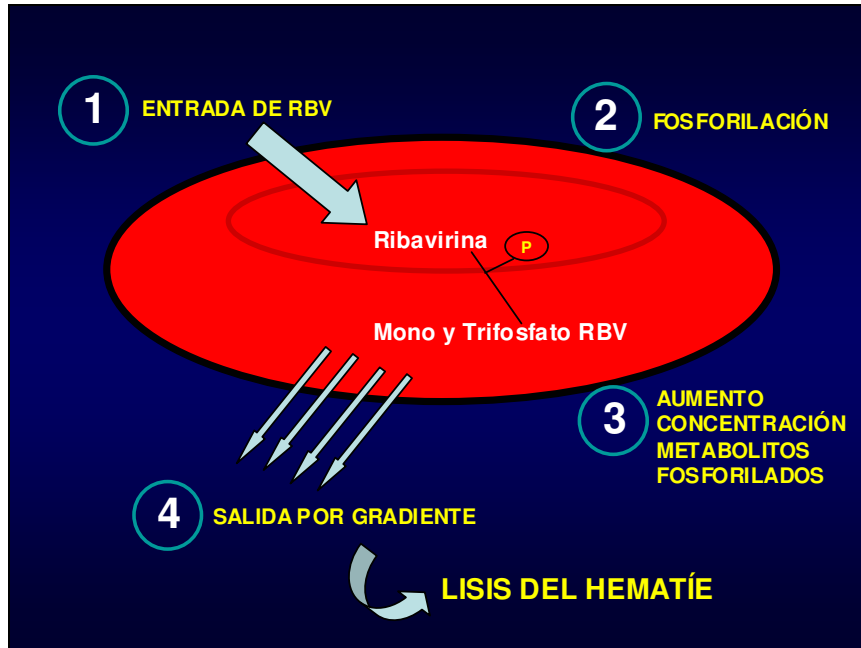


Figura 7. Mecanismo de producción de anemia hemolítica por RBV.

- **Manejo de la anemia**

Existen múltiples opciones para el manejo de la anemia en el tratamiento combinado de la enfermedad. Uno de los objetivos prioritarios sería intentar mantener las cifras de Hb en rangos mayores a los 10 g/dl así como prevenir el descenso de Hb. Lo ideal en el tratamiento es intentar mantener una dosis de RBV mayor de 10.6 mg/k que como hemos comentando se asocia a mayores tasas de RVS. La disminución de la dosis de RBV a 600 mg/día debería aplicarse cuando tengamos cifras de Hb de 10 g/dl, y la suspensión de la misma llegaría cuando alcanzara los 8.5 g/dl. La transfusión sanguínea, raramente es utilizada para corregir la anemia durante el tratamiento. De todos modos en caso de precisarla, suele estar indicada cuando la Hb está alrededor de los 10 g/dl (Tabla 4).

Tabla 4. Manejo de efectos secundarios hematopoyéticos

HALLAZGO	NIVELES	AJUSTE
ANEMIA	Hb < 10 g/dl	Bajar RBV a 600 mg o EPO 40.000-60.000 UI/semana
	Hb < 8.5 g/dl	Suspender RBV
NEUTROPENIA	< 750 cel/ mm ³	Bajar IFN-peg a 135 µg o Filgastrim ^R -G-CSF* 150-300 µg
	< 500 cel/mm ³	Suspender RBV
TROMBOPENIA	50.000cel/ mm ³	Bajar dosis IFN-peg a 135 µg G-CSF*: factor estimulante colonias de granulocitos

Fisiológicamente cualquier situación de hipoxia tisular es percibida por los túbulos renales y dicho estímulo permite la producción y secreción de Eritropoyetina (EPO) por parte de los riñones. La concentración en sangre de EPO aumenta de forma progresiva cuando se produce una caída en las cifras de Hb por debajo de 15 g/dl. A continuación, la EPO produce un estímulo en la médula ósea con el aumento de formación de hematíes secundario al aumento de la mitosis y la inhibición de la apoptosis de los mismos. Comercialmente recibe el nombre de Epoetin alfa o Darbepoetin alfa y la dosis y forma de administración suele ser de 40.000 unidades por vía subcutánea una vez a la semana. El tiempo requerido para incrementar las cifras de Hb una vez administrado el fármaco va desde 2 a las 6 semanas. La administración de EPO es una de las alternativas para el tratamiento de la anemia asociada a tratamiento combinado, y ya ha sido empleada anteriormente con éxito en la IRC⁶⁷, y en el tratamiento de anemia secundaria a neoplasias y en el VIH.

Tres estudios han evaluado el uso de EPO en el manejo de la anemia. El primero desarrollado por Dieterich y cols.⁶⁸ comparó EPO a dosis de 40.000 unidades vs tratamiento estándar de anemia en un grupo de 64 pacientes. Los pacientes que recibieron EPO incrementaron los niveles de Hb y mantuvieron sus dosis de RBV durante el tratamiento. A la semana 16, los pacientes tratados con EPO tuvieron cifras de Hb de 14.2 g/dl comparado con los 11.2 g/dl del grupo que no la recibió. A su vez la dosis de RBV en el primer grupo fue de 805 mg vs 707 del segundo. Sólo el 5.7% de los pacientes que recibieron EPO tuvieron que reducir dosis en comparación con el 33% que no la recibió.

El segundo estudio realizado por Afdhal y cols.⁶⁹ se realizó con 185 pacientes y se evidenció también que los pacientes con EPO eran capaces de mantener el 88% de la dosis de RBV frente al 60% que recibió placebo. Los niveles de Hb fueron de 13 g/dl en el grupo EPO vs 10.9 del placebo. A su vez se objetivó una mejora en la calidad de vida refiriendo los pacientes mayor energía, vitalidad y actividad física, tras puntuación score valorada por test. Lo único que se echa en falta es apreciar si todos estos hallazgos se relacionan con una mejora en las tasas de RVS.

La mejoría de la calidad de vida vuelve a ser confirmado en el estudio prospectivo realizado por Pockros y cols.⁷⁰ junto a la evidencia de que los pacientes con HCC, presentan una peor calidad de vida que la población general. En la actualidad no hay un claro consenso a la hora de clarificar cuándo es el mejor momento para pautar EPO. Las estrategias podrían ir desde el uso de la misma cuando la Hb baja a niveles cercanos a 10 g/dl, u otra más agresiva que sería el uso de EPO cuando las cifras de Hb bajen rápidamente a 12 g/dl. Otros autores van más allá y plantean su uso de forma profiláctica en pacientes con factores de riesgo cardiovasculares.

En resumen, el uso de EPO mejora la adherencia al tratamiento, mantiene altos los niveles de Hb, mejora la calidad de vida de los pacientes, ya de por sí disminuida, y lo más importante, permite mantener la dosis de RBV lo que se asocia a mayores tasas de RVS, aunque dicho hallazgo no se halla confirmado en los estudios. Entre los efectos secundarios mencionar el mayor riesgo de trombosis y de hipertensión arterial, aunque los más frecuentes son las náuseas y cefalea. En líneas generales es bien aceptada y tolerada por los pacientes. El uso de EPO podría ser una gran alternativa en pacientes con fibrosis y en los que los efectos secundarios del tratamiento obliga a disminuir dosis o suspender el mismo.

- **Nuevas alternativas terapéuticas**

Existe en la actualidad otras alternativas en el tratamiento del VHC que disminuyen la tasa de anemia. La viramidina es un profármaco de la RBV que en el hígado se convierte en RBV por acción de la adenosindeaminasa hepática. La RBV y viramidina son rápidamente eliminadas, sus moléculas y los metabolitos son excretados por el riñón y tienen una T_{max} de 1,5-3 h. Experimentalmente, la retención hepática de la RBV derivada de una dosis oral de viramidina, es 3 veces mayor que la RBV oral. En cambio, la concentración de fosfatos de RBV en los hematíes es mucho menor, de ahí que se pueda mantener una concentración más estable de Hb.

La viramidina es un fármaco seguro y se tolera bien. Los efectos adversos con dosis de 200, 600 y 1200 mg fueron: 0, 26 y 50%, respectivamente; la mayoría leves y desaparecieron sin secuelas⁷¹.

En una revisión sobre profármacos y análogos RBV publicada por Gish⁷², se aleatorizaron los pacientes en varios brazos para recibir: viramidina 400, 600 u 800 mg dos veces al día y RBV 1.000-1.200 mg/día. La RVS fue

algo menor en los tratados con viramidina, aunque no estadísticamente significativa: RVS de la viramidina 23%, 37% y 29%, respectivamente, y en el brazo de RBV del 44%. La anemia se presentó con menos frecuencia en el grupo de la viramidina que en la RBV (4% frente a 27%, $P < 0,001$). La incidencia de anemia fue en los brazos de la viramidina del 0%, 2% y 11%, respectivamente; en el grupo de la RBV fue del 27%. Basados en estos datos se consideró que la mejor dosis para futuros estudios sería de 600 mg/12 h.

Otra alternativa es la levovirina es la L-enantiomero de la RBV y no origina anemia hemolítica. Tiene una actividad inmunomoduladora similar a la RBV, pero no tiene actividad antiviral directa. El desarrollo de la levovirina se suspendió por la pobre actividad antiviral.

1.3.3. Tratamiento combinado con IFN y RBV

1.3.3.1 Patrones de respuesta al tratamiento

- Respondedores: obtienen respuesta virológica con RNA indetectable
- NR o respondedores nulos: no son capaces de alcanzar respuesta y es detectable RNA viral que obliga a suspender tratamiento.
- Breakthrough y recidivantes: ambos presentan respuesta virológica inicial; en el caso del breakthrough la pierden durante el tratamiento y los recidivantes presentan tras haber respondido durante el tratamiento, positivización de carga viral una vez terminado el mismo.

RESPUESTA VIROLÓGICA RÁPIDA (RVR)

La semana 4 tiene especial relevancia como factor predictor de buena respuesta durante el tratamiento (Figura 8). Una negativización de la carga viral en dicha semana se denomina respuesta virológica rápida (RVR), y se asocia a una tasa de RVS prácticamente del 90%. Los genotipos 2 y 3, tienen mejor respuesta a tratamiento combinado ya que el 66% de los mismos alcanzan RVR y posteriormente obtienen tasas de RVS del 75-80%. Por el contrario, sólo el 15% de los pacientes con genotipo-1 obtienen RVR con la consiguiente disminución de RVS. Los datos obtenidos fueron evidenciados tras el estudio retrospectivo realizado por Ferenci y cols.⁷³.

Todo ello tiene especial importancia ya que alcanzar RVR, permitiría en muchos pacientes disminuir dosis o incluso llegar a suspender la RBV, permitiendo seguir con tasas de RVS cercanas al 90%; se evidenció en pacientes con genotipo-1 en el estudio realizado por Bronowicki y cols.⁷⁴.

RESPUESTA VIROLÓGICA PRECOZ (RVP)

Se define como la negativización de la carga viral por debajo de 50 UI/ml o la caída de la misma más de 2 logaritmos en la semana 12. Los pacientes que no obtienen la RVP se denominan NR (Figura 9) y no deben continuar el tratamiento por lo que se ha definido que la RVP tiene un alto valor predictivo negativo. La RVP se considera un buen marcador de no respuesta, pero no predice sin embargo la RVS. Del 80% de pacientes con genotipo-1 que obtienen respuesta en la semana 12, sólo el 65% obtendrán respuesta sostenida.

RESPUESTA VIROLÓGICA PRECOZ COMPLETA

Se define como la negativización de la carga viral en la semana 4 y 12. Aproximadamente el 35% de los pacientes negativizan la carga en este periodo.

RESPUESTA FIN DE TRATAMIENTO (RFT)

Se define como respuesta virológica al finalizar el tratamiento. Sí se ha obtenido la misma se debe solicitar carga viral a los 6 meses para comprobar si existe RVS.

RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA (RVS)

Persistencia de RNA negativo a los 6 meses de terminar el tratamiento. La RVS depende de los distintos genotipos. Así podemos obtener tasas alrededor del 80% en genotipos 2 y 3, y del 50% en genotipo-1. El genotipo 4, menos prevalente, presenta tasas de curación intermedias entre ambos estimándose en un 65%.

RESPONDEDORES LENTOS

Corresponde a los pacientes que presentan negativización de la carga viral por debajo de 50 UI/ml entre la semana 12 y 24. Existe un 15% de los pacientes con genotipo-1 que presentan esta característica y han sido objeto de debate en los últimos años a la hora de estudiar cuál es el tratamiento más correcto para este grupo. Es de vital importancia durante el tratamiento, reconocer el punto exacto en el que los pacientes presentan niveles indetectables de RNA viral para valorar la continuidad o no del tratamiento (Figura 8).

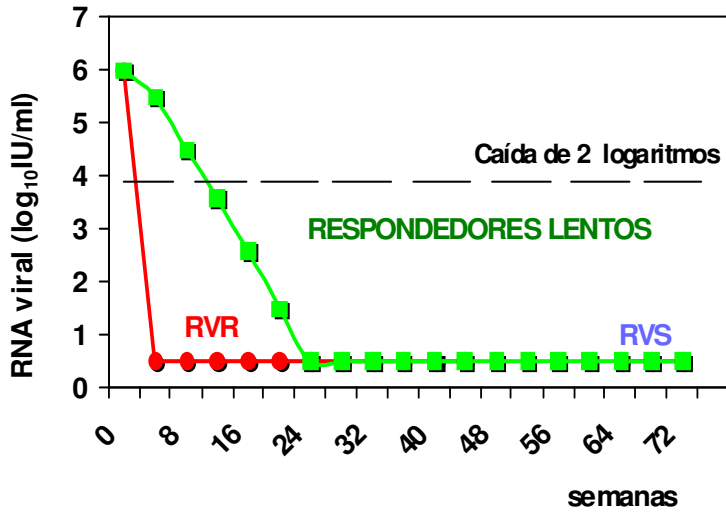


Figura 8. Patrones de respuesta virológica rápida y respondedores lentos.

RESPUESTA VIROLÓGICA PARCIAL

Se define como la caída de 2 log de carga viral en la semana 12 con presencia de RNA detectable en la semana 24 (Figura 9).

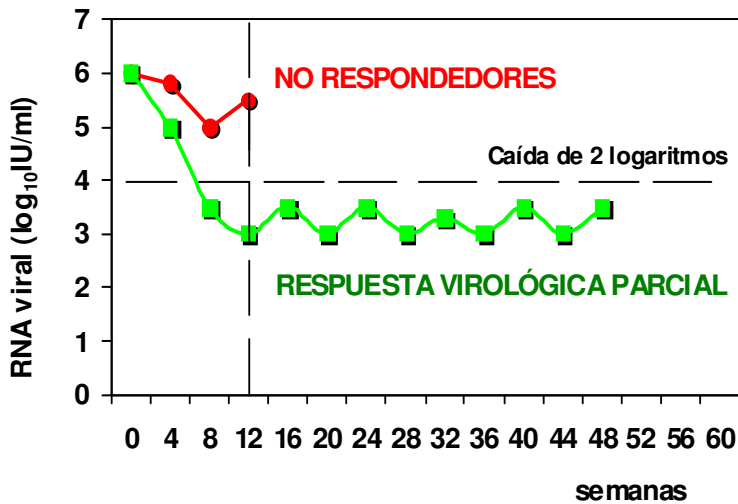


Figura 9. Patrones de NR y respuesta virológica parcial

BREAKTHROUGH Y RECIDIVANTES

Los dos conceptos implican la reaparición de carga viral después de haber llegado a tener niveles indetectables en el suero durante el tratamiento (Figura 10). En el primero, también denominado “rebote virológico”, la carga viral se eleva tras haberse negativizado en algún momento del tratamiento, mientras que la recidiva es la elevación de la carga tras haber tenido RFT y ésta suele ocurrir en los primeros meses una vez cumplido el tratamiento combinado. La presencia de recidiva es una característica de los respondedores lentos.

Entre las causas de recidiva, aparte de la suspensión o disminución de la dosis durante el tratamiento, se encuentra el inicio de tratamiento con dosis insuficientes de RBV o no haber prolongado el tratamiento en caso de haberse tratado de respondedores lentos. Evidencias de varios estudios demuestran que los pacientes que empezaron el tratamiento con altas dosis de RBV, tuvieron menor porcentaje de recidivas. En el caso de la aparición de anemia, el uso de EPO no se asocia a mejoría de RVS ni en este caso a disminución de las tasas de recidiva⁷⁵.

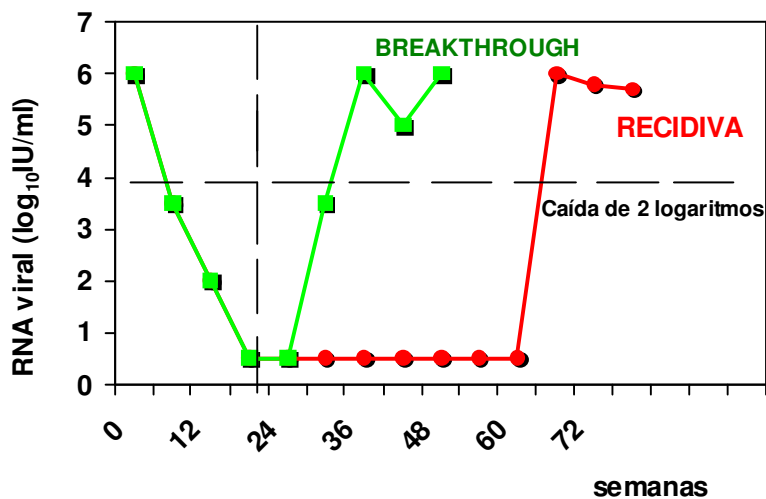


Figura 10. Patrones de breakthrough y recidiva.

1.3.3.2 Tratamiento combinado de la hepatitis C crónica (HCC)

El tratamiento para la HCC ha mejorado en los últimos años. Las tasas de RVS han aumentado de forma significativa gracias a la introducción del IFN-peg en asociación con la RBV (Figura 11).

En un ensayo aleatorizado muy importante, publicado en NEJM en 1998 ⁴¹, en una muestra de 912 pacientes con HCC, se comparó la eficacia del IFN α en monoterapia o en combinación con RBV (1.000-1.200 mg/día) durante 24 ó 48 semanas. Este estudio demostró claramente que el tratamiento combinado durante 48 semanas era el más efectivo: la RVS con IFN fue del 6% en el tratamiento corto y del 13% en el largo, mientras que la RVS con el tratamiento combinado fue del 31% y del 38%, respectivamente. Pero quizás el aspecto más significativo fue que la proporción de pacientes recidivantes con IFN α fue mayor que con el tratamiento combinado: al suspender el tratamiento, se observó una tasa de recidivas del 46% en el grupo de IFN α frente al 24% con IFN α y RBV ⁴¹. Por tanto, la mayor tasa de RVS con el tratamiento combinado estaba relacionada con una mayor RFT y una menor proporción de recidivas.

La contribución de la RBV en el tratamiento del VHC es que consigue una mayor tasa de RVS al disminuir la proporción de recidivas. Hay que destacar este punto, pues hasta que no se descubran nuevos fármacos capaces de curar a los NR al tratamiento, que son muy resistentes, la única oportunidad que tenemos para mejorar nuestros resultados es conseguir reducir la tasa de pacientes que parece que van a responder, sin embargo, cuando se suspende el tratamiento se reactivan.

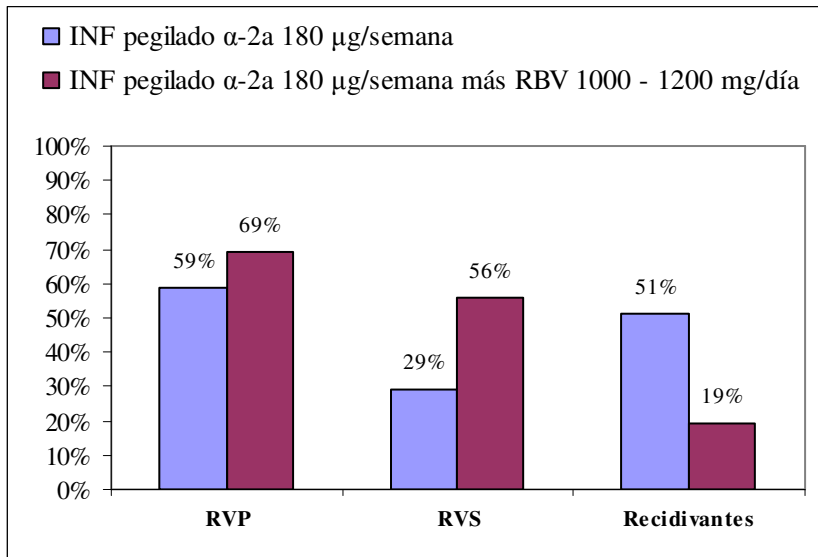


Figura 11⁷⁶. Aumento de las tasas de RVS por la prevención de recaídas en pacientes con HCC tras la adición de RBV durante 48 semanas al tratamiento con IFN-peg α -2a.

Tres grandes estudios han evaluado la combinación de IFN-peg más RBV^{49, 58, 77} cuyos resultados se resumen en la Tabla 5. Las principales conclusiones fueron las siguientes:

En primer lugar, las tasas de RVS fueron casi idénticas con IFN-peg α -2b (54%) que con IFN-peg α -2a (56%) en combinación con RBV, y fueron significativamente más elevadas que cuando se empleaba IFN estándar más RBV. En los estudios realizados con IFN-peg α -2b se demostró que las tasas de RVS eran dependientes de la dosis de RBV, estableciendo la dosis de 10.6 mg/kg como la recomendada.

También se observó que el beneficio terapéutico aportado por la combinación de IFN-peg y RBV (en comparación con IFN estándar más RBV) difería según los distintos subgrupos de pacientes; así, cuando se empleaba IFN-peg α -2b aumentaba significativamente la tasa de RVS en

pacientes con genotipo-1 y baja carga viral, pero no en aquellos con genotipos 2 ó 3 y elevada carga viral, mientras que cuando se empleaba IFN-peg α -2a los incrementos en las tasas de RVS eran más limitados en comparación con el IFN α -2a estándar.

En uno de los estudios se administró IFN-peg α -2a en combinación con RBV durante 24 o 48 semanas⁷⁷, observando que en los pacientes con genotipo-1 se obtenían tasas de RVS significativamente mayores cuando eran tratados durante más tiempo, independientemente de la carga viral al comienzo del tratamiento, mientras que tales diferencias no se objetivaron con pacientes infectados por genotipos 2 ó 3, independientemente de la carga viral pretratamiento. Además, una dosis fija de 800 mg/día de RBV fue suficiente para maximizar las tasas de respuesta sostenida en pacientes con genotipos 2 ó 3, mientras que los pacientes con genotipo-1 respondían mejor a dosis más elevadas (1.000-1.200 mg/día) de RBV.

Tabla 5. Ensayos aleatorizados con IFN-peg más RBV

Autor	Pauta terapéutica	N	RFT (IC 95%)	RVS (IC 95%)	
Manns y cols.,2001 ⁴⁹	IFN- α 2b, 3 mU/día + RBV (1.000-1.200mg) durante 48 sem	505	54% (49-58)	47% (42-51)	
	IFN-peg α 2b, 1,5 μ g/kg/sem + RBV (1.000-1.200mg) durante 4 sem y luego 0,5 μ g/kg/sm + RBV (1.000-1.200mg) durante 44 sem	514	56% (52-60)	47% (43-52)	
	IFN-peg α 2b, 1,5 μ g/kg/sem + RBV (800mg/día) durante 48 sem	511	65% (61-69)	54% (49-58)	
Fried y cols.,2002 ⁵⁸	IFN- α 2b, 3 mU/día + RBV (1.000-1.200mg) durante 48 sem	444	52% (47-57)	44% (40-49)	
	IFN- α 2a, 180 μ g/sem + placebo durante 48 sem	224	59% (53-66)	29% (24-36)	
	IFN- α 2a, 180 μ g/sem + RBV (1.000-1.200mg) durante 48 sem	453	69% (65-73)	56% (52-61)	
Hadziyannis y cols.2002 ⁷⁷	IFN- α 2a, 180 μ g/sem + RBV (800 mg) durante 24 sem	207	No disponible	Genotipo1 29% (21-38)	Genotipo 2/3 78% (70-85)
	IFN- α 2a, 180 μ g/sem + RBV (800mg) durante 48 sem	361	No disponible	40% (34-46)	73% (64-80)
	IFN- α 2a, 180 μ g/sem + RBV (1.000-1.200mg) durante 24 sem	280	No disponible	41% (32-50)	78% (71-84)
	IFN- α 2a, 180 μ g/sem + RBV (1.000-1.200mg) durante 48 sem	436	No disponible	51% (45-57)	77% (70-83)

N: número de pacientes; RFT: respuesta fin de tratamiento, RVS: respuesta virológica sostenida.

En base a los resultados de estos estudios, ambas formas de IFN-peg fueron aprobadas en los Estados Unidos y en Europa para el tratamiento de la HCC. La recomendación actual es emplear la combinación de IFN-peg más RBV en todos los casos de HCC, excepto en aquellas situaciones en las que la RBV esté contraindicada. La dosis recomendada de IFN-peg α -2a es 180 μ g/semana, independientemente del peso corporal, mientras que la dosificación de IFN-peg α -2b se debe ajustar al peso, debiendo administrar 1,5 μ g/kg/semana. La dosis de RBV y la duración del tratamiento debería decidirse en función del genotipo viral. Pacientes “fáciles de tratar” (genotipos 2 ó 3) deberían recibir una dosis fija de 800 mg/día de RBV durante 24 semanas, mientras que aquellos “difíciles de tratar” (genotipo-1 y, probablemente el 4) deberían recibir una dosis completa de RBV (1.000-1.200 mg/día según el peso sea superior o inferior a 75 kg) y durante 48 semanas (Tabla 6).

Tabla 6. Tratamiento de la hepatitis C crónica

GENOTIPO	DOSIS IFN-peg	DOSIS de RBV	DURACIÓN (semanas)
1	IFN-peg α -2a 180 μ g/semana	<75 kg: 1000 mg/día \geq 75 kg: 1200 mg/día	48
	IFN-peg α -2b 1,5 μ g/kg/semana	<65 kg: 800 mg/día 65-85 kg: 1000 mg/día 86-105 kg: 1200 mg/día >105 kg 1400 mg/día	48
2/3	IFN-peg α -2a 180 μ g/semana	800 mg/día	24
	IFN-peg α -2b 1,5 μ g/kg/semana	800 mg/día	24

Recientemente se han dado a conocer los resultados del estudio IDEAL⁷⁸. Tres mil setenta pacientes con genotipo-1 del VHC fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos de tratamiento: IFN-peg α -2b (1,5 μ g/kg/semana) y RBV (800-1400 mg/día), IFN-peg α -2b (1 μ g/kg/semana) y RBV (800-1400 mg/día) y, por último, IFN-peg α -2a (180 μ g/kg/semana) y RBV (1000-1200 mg/día) durante 48 semanas y un periodo de seguimiento de 24 semanas tras el tratamiento. En este estudio se han comparado dos dosis distintas de IFN-peg α -2b (1 μ g/kg/semana y 1,5 μ g/kg/semana) y no se han observado diferencias en los parámetros de eficacia y seguridad entre ellas. Estos hallazgos son interesantes, ya que podrían abrir perspectivas futuras de planteamiento terapéutico a menor dosis con IFN-peg α -2b. Por otro lado, la tasa de RFT (en la semana 48) fue mayor con IFN-peg α -2a, aunque no hubo diferencias significativas desde el punto de vista estadístico en la RVS entre los dos IFNs pegilados, dado que la tasa de recidivas fue mayor con IFN-peg α -2a. Estas diferencias no pudieron ser explicadas por una distinta exposición a RBV entre ambos grupos de tratamiento⁷⁸.

También se ha comenzado a evaluar la posible eficacia del IFN-peg en los pacientes con cirrosis hepática. Las tasas de RVS con IFN estándar en los pacientes con cirrosis son de alrededor del 6%, mientras que el IFN-peg incrementa las tasas de RVS al 29%⁷⁹, si bien los estudios realizados con este subgrupo de pacientes son aún escasos. Distintos estudios han comunicado resultados que sugieren que en los pacientes cirróticos tratados con IFN puede disminuir la progresión de la fibrosis hepática, incluso en los pacientes NR, y evitar el desarrollo de CHC. La mayoría de los estudios son retrospectivos y no controlados por lo que parece necesario esperar a la realización de ensayos clínicos aleatorizados con un número suficiente de pacientes para establecer definitivamente la influencia del tratamiento con IFN en el desarrollo del CHC.

1.3.3.3. No respondedores

En los pacientes que no respondieron o recayeron tras la monoterapia con IFN estándar, el retratamiento con dosis adecuadas de IFN-peg más RBV puede lograr una RVS en alrededor del 20-40% de los casos⁵³.

Si los pacientes habían recibido tratamiento combinado con IFN estándar más RBV, la respuesta que puede esperarse al retratamiento con IFN-peg y RBV es inferior, de alrededor del 15% para los pacientes con genotipo-1 y del 30% en los pacientes con genotipo 3. En los pacientes incluidos en el estudio HALT-C⁸⁰, NR a monoterapia con IFN estándar o en combinación con RBV, y que tenían una fibrosis avanzada o cirrosis, el retratamiento con IFN-peg α -2a y RBV logró una RVS global del 18%, que incluye un 12% en los tratados inicialmente con tratamiento combinado y a un 28% a los que habían recibido monoterapia⁸⁰.

La exploración de la efectividad del retratamiento con IFN-peg, en este caso α -2b, y RBV es objetivo de un estudio⁸¹, en el que se han incluido a 2333 pacientes NR o que recidivaron tras un tratamiento con IFN estándar y RBV, presentando RVS en un 14% de los NR y un 38% de los recidivantes.

Un estudio reciente ha analizado la eficacia y la seguridad del retratamiento con IFN-peg α -2a y RBV en pacientes que no habían respondido al tratamiento con IFN-peg α -2b y RBV⁸². El estudio incluyó a 950 pacientes, de los que más del 90% estaban infectados por el genotipo-1. Los pacientes fueron aleatorizados en 4 grupos para recibir tratamiento durante 48 o 72 semanas con dosis estándar (180 μ g/ semana) de IFN-peg o con una dosis doble (360 μ g/ semana) durante las primeras 12 semanas. Se administró una dosis de 1.000-1.200 mg/día de RBV. Aunque la respuesta a las 12 semanas fue superior en los pacientes tratados con una dosis inicial elevada de IFN, la RFT fue similar en todos los grupos. Sin embargo, la tasa

Ode recaída fue menor en los pacientes tratados durante 72 semanas. La diferencia alcanzó significación estadística cuando se agruparon los pacientes según la duración del tratamiento.

Un estudio ha explorado la eficacia y la seguridad del retratamiento de pacientes NR al IFN-peg y RBV utilizando dosis diarias de IFN consenso y RBV³⁹. El 94% estaban infectados por genotipo-1 y el 59% tenía fibrosis hepática avanzada. Los pacientes recibieron tratamiento durante 48 semanas con RBV y con dosis de 9 o 15 µg/día de IFN consenso y la tasa de RVS fue baja, del 5 y el 10% respectivamente.

Todos los estudios precedentes indican que la probabilidad de conseguir erradicar la infección en los pacientes que no han respondido a un primer tratamiento es realmente baja.

1.4. FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO ANTIVIRAL

Existe una serie de factores que pueden influir en la respuesta al tratamiento entre los distintos pacientes. Unos factores son fijos y dependen del virus o del huésped, y otros son modificables como podría ser el abuso de alcohol o aspectos psicológicos pudiendo afectar a la adherencia y a la posterior RVS. A continuación procedemos a describirlos:

- Factores no modificables:

Factores Virales

El *genotipo viral* representa uno de los mejores factores predictivos de respuesta al tratamiento. Los genotipos 2 y 3 presentan una tasa de respuesta del 82%, siendo mejor en el genotipo 2, comparándolo con los pacientes con genotipo-1 que son los más prevalentes (51%).

La *carga viral* basal pretratamiento constituye otro factor relacionado con la respuesta. Una carga viral basal menor de 600.000 UI/ml tanto en genotipos 2 y 3 como en 1, permite obtener mayores posibilidades de curación, aumentado incluso éstas cuando se asocia a RVR en la semana 4.

La presencia de una población de VHC mutante que recibe el nombre de *cuasiespecies*^{21, 83, 84, 85, 86} y la existencia de *mutaciones* en regiones del genoma del VHC (proteína no estructural 5 A-NS5A)²¹, influyen negativamente en la respuesta al tratamiento.

Factores del Huésped

La edad, el sexo y los distintos grupos étnicos¹⁰ condicionan la respuesta al tratamiento combinado. La edad avanzada se establece como un factor de mal pronóstico, que queda confirmado en un estudio realizado por Foster y cols.⁸⁷ en el que se comprobó que una edad de menos de 20 años en el comienzo del tratamiento, se asocia a altas tasas de RVS. El sexo masculino y la raza negra presenta peor respuesta. Los pacientes de origen asiático^{88,89} presentan tasas más altas de respuesta que los latinos, caucásicos o los afroamericanos. Por motivos que todavía no están claros, los afroamericanos⁹⁰ tienen una peor respuesta al tratamiento obteniendo RVS en un 19% comparado con el 52% de los caucásicos. Entre las hipótesis que se barajan podría estar la existencia de polimorfismos génicos, una mayor resistencia al IFN, o la mayor presencia de genotipos 1 en esta raza. También se aprecia la existencia de mayor sobrecarga férrica y actividad inflamatoria IL28B en los hallazgos histológicos.

Polimorfismos genéticos. Muy recientemente, un cambio de nucleótido simple (SNP, single nucleotide polymorphism), en rs12979860, en el cromosoma 19q13, se ha asociado fuertemente con la RVS del tratamiento con IFNpeg y RBV en una cohorte de aproximadamente 1600 individuos⁹¹. Esta variante genómica se localiza cerca del locus de la IL28B, el cual codifica para los IFN- λ o IFNs tipo III. La variante es un cambio de citosina por timina (C>T) en rs12979860. Estos datos han sido corroborados por otros autores^{92, 93}. De acuerdo con todos los resultados obtenidos en estos últimos meses, se ha llegado a la conclusión de que este polimorfismo es el mejor marcador genético que predice la respuesta al tratamiento combinado IFNpeg/RBV, incluso mejorando a los factores virales ya conocidos.

- Factores modificables

La vía de transmisión es un factor importante a la hora de obtener respuesta. En los casos de transmisión esporádica o desconocida, y la vía endovenosa en los casos de ADVP (adicción a drogas por vía parenteral), se aprecia una mejor respuesta al tratamiento^{94, 95}. La explicación podría deberse a que los pacientes infectados por transfusión de hemoderivados, suelen estar afectados por los genotipos 1b, en contraposición con los ADVP en los que la prevalencia de éstos es menor. La ADVP no condiciona un descenso significativo en las tasas de RVS^{96,97,98}. Por todo lo mencionado los pacientes drogadictos pueden obtener buenas respuestas al tratamiento^{99,100}, siempre y cuando presenten mayor adherencia al mismo.

El abuso de alcohol se asocia a peor cumplimiento de tratamiento con la consiguiente disminución de la respuesta. Hasta un 23% de los pacientes alcohólicos presentan anticuerpos para el VHC. Si se comparan las tasas de respuesta en un estudio¹⁰¹ realizado en pacientes con antecedentes de alcoholismo y que presentan 6 meses de abstinencia, la RVS fue del 33% en este grupo comparada con el 9% del grupo que bebía más de 70 g/día. El alcohol produce además un aumento de la actividad inflamatoria con un aumento significativo de la fibrosis y una peor evolución^{102,103,104} en la historia natural. Otros mecanismos postulados en una menor respuesta sería la interacción que ejerce el alcohol sobre el efecto antiviral del IFN, o la mayor producción de *cuasiespecies* virales^{105,106}. Por lo tanto, al igual que en el grupo de los ADVP, se establece una recomendación de abstinencia de 1 o 2 años¹⁰⁷ y un compromiso por parte del paciente del correcto cumplimiento del tratamiento.

Factores metabólicos

El peso corporal influye de forma negativa al modificar el volumen del fármaco por la superficie corporal e influyendo en la concentración efectiva final del mismo. La obesidad, se establece como un factor de respuesta negativa. Por los motivos referidos, una dosis fija en el tratamiento reduce la biodisponibilidad del fármaco con la consiguiente menor tasa de respuesta. Esto quedó confirmado en un estudio¹⁰⁸ en 253 pacientes que recibieron tratamiento combinado, y en el que se estableció que el sobrepeso condiciona de forma negativa una respuesta sostenida.

Entre los *factores metabólicos* que influyen a la hora de obtener respuesta se encuentran la esteatosis hepática y la sobrecarga de hierro. La esteatosis hepática, condiciona una peor respuesta al tratamiento. En un estudio realizado por Tarantino y cols.¹⁰⁹, la presencia de esteatosis hepática, sobrecarga de hierro y mayores índices de fibrosis, era objetivado en el grupo de los NR. La resistencia a la insulina parece ser el mecanismo fisiopatológico implicado según quedó demostrado por Camma y cols.¹¹⁰, en el que se analizó 291 pacientes no diabéticos, y se apreció una estrecha relación entre la resistencia a la insulina y la esteatosis. Sin embargo, de forma paradójica, la presencia de esteatosis asociada al genotipo 3, no condiciona una peor respuesta¹¹¹. En pacientes con HCC la esteatosis no sólo se relaciona con fibrosis avanzada sino que también afecta a la regresión de la fibrosis¹¹² y condiciona resistencia al tratamiento antiviral^{113,114}.

El estado avanzado de *fibrosis hepática* es un factor negativo en la respuesta al tratamiento. Así, en pacientes con cirrosis establecida, la tasas de remisión virológica son menores que en pacientes que no presentan un daño hepático tan avanzado.

Hipótesis y objetivos

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

El tratamiento establecido para el VHC es IFN-peg más RBV, no obstante casi la mitad de los pacientes se consideran NR. Según los diferentes ensayos clínicos, la RBV se dosifica según peso o con dosis fijas. Se sabe que es necesaria una dosis alta de RBV para alcanzar una alta tasa de respuesta sostenida, sobre todo en los pacientes con genotipo-1 y una carga viral alta, que son los más resistentes al tratamiento. También se conoce que el efecto adverso más importante de la RBV es la anemia, que se relaciona con la dosis y que puede obligar a reducirla o suspenderla.

Los estudios que relacionan las TPR con la respuesta al tratamiento y con la toxicidad son escasos, la mayoría retrospectivos e incluyen pocos pacientes, y aquellos en los que el número de pacientes es mayor, no usan IFN-peg. Además no hay ningún estudio que examine la farmacocinética de la RBV en tantos puntos durante el tratamiento.

Con este estudio prospectivo de pacientes tratados con IFN-peg más RBV a las dosis establecidas, se pretende demostrar que los pacientes con RVS presentan TPR más altas que los no-RVS (NR y recidivantes). Así mismo, se espera relacionar la anemia con una mayor TPR y no con la dosis de RBV. Si esta hipótesis es cierta, se podría aumentar la dosificación de la RBV para incrementar sus tasas plasmáticas sin alcanzar los rangos tóxicos y de esta manera disminuir el número de NR, sobre todo en pacientes con genotipo-1 del VHC que es muy resistente al tratamiento.

2.2 Objetivos

- ***Principal:***

Estudiar la correlación que existe entre las TPR durante el tratamiento (semanas 4, 8, 12, 16, 24, 32 y 40) y los distintos tipos de respuesta virológica (RVP y RVS) en pacientes con HCC genotipo-1, *naive* tratados con IFN-peg más RBV.

- ***Secundario:***

Estudiar la asociación que existe entre anemia, peso corporal y TPR.

Pacientes y metodología

3. PACIENTES Y METODOLOGÍA

3.1. Sujetos del estudio

Se incluyeron de forma prospectiva 119 pacientes con HCC genotipo-1, tratados con IFN-peg más RBV a las dosis estándar durante 48 semanas: 180 µg de IFN-peg -α -2a (pegasys, Roche Diagnostic) inyectado por vía subcutánea una vez por semana, y RBV a dosis según peso (≤ 60 Kg, 800mg/día; >60 Kg- ≤ 75 Kg, 1000mg/día; >75 Kg, 1200mg/día; Copegus, Roche Diagnostic). 59 pacientes fueron tratados en el Hospital Universitario San Cecilio de Granada, 35 en el Hospital Universitario de Valencia, 13 en el Hospital Virgen de la Victoria de Málaga y 12 en el Hospital Costa del Sol de Marbella. Estos pacientes no estaban incluidos en ningún tipo de ensayo clínico.

3.1.1. Criterios de inclusión y de exclusión:

- Criterios de inclusión:

- Pacientes de ambos sexos con edades comprendidas entre los 18 y los 65 años.
- Pacientes con diagnóstico histológico de HCC con biopsia realizada.
- Evidencia de infección por VHC: positividad de anti-VHC y del RNA-VHC (PCR).
- Pacientes infectados por el genotipo-1 del VHC.
- Pacientes que no hayan recibido tratamiento previo con IFN y/o RBV.

- Criterios de exclusión:

- Presencia de enfermedad hepática de origen tóxico o autoinmune.

- Existencia de cirrosis hepática.
- Infección concomitante por VHB, VHD y/o VIH.
- Estados de inmunodeficiencia y enfermedades autoinmunes.
- Drogadicción y/o alcoholismo activos hasta 6 meses antes de iniciar el tratamiento
- Mujeres embarazadas o en período de lactancia.
- Enfermedad cardíaca previa.
- Otras enfermedades graves asociadas: insuficiencia respiratoria, insuficiencia renal crónica, epilepsia.

3.1.2. Criterios de respuesta al tratamiento:

Los criterios de respuesta al tratamiento utilizados en este estudio vienen resumidos en la Tabla 7 y son los ya admitidos en la práctica clínica.

Tabla 7. Definiciones tipos de respuesta virológica

Respuesta	Definición
RVR	RNA del VHC indetectable (<50 UI/ml) a la semana 4
RVP	Descenso del RNA del VHC $\geq 2 \log_{10}$ UI/ml (100 veces) del inicial o indetectable a la semana 12
RVS	RNA del VHC indetectable a los 6 meses de suspender el tratamiento
NR	Descenso del RNA del VHC $< 2 \log_{10}$ UI/ml (100 veces) del inicial a la semana 12
Recidiva	RNA del VHC detectable tras suspender el tratamiento con un RNA del VHC indetectable durante el mismo (recurrencia)

A los pacientes NR a las 12 semanas se les suspendió el tratamiento. Se continuó el tratamiento hasta las 48 semanas, en aquellos que presentaron RVP. Los pacientes NR y recidivantes se les consideró como pacientes con no-RVS

3.2. Variables del estudio

Las variables dependientes han sido las siguientes:

- El tipo de respuesta al tratamiento antiviral: RVP frente a no-RVP y RVS frente a no-RVS.
- La presencia o no de concentraciones de RBV plasmática superiores a 5 µg/ml durante el tratamiento.
- Disminución o no de un 25% de la Hb durante el tratamiento, con respecto a la Hb basal.

Las variables independientes han sido: las características clínicas y biológicas de los pacientes: sexo, edad, datos epidemiológicos, datos bioquímicos (ALT, AST, GGT, Hb), lesión histológica, así como parámetros asociados con la RBV (dosis/Kg, reducción de RBV durante el tratamiento, TPR durante el tratamiento, concentraciones de RBV superiores a 5 µg/ml) y carga viral, dependiendo del estudio realizado.

3.3. Recogida de los datos y desarrollo del estudio

El diagnóstico de HCC se realizó en base a la detección de RNA-VHC en suero y biopsia compatible con HCC.

Para la participación se requirió consentimiento informado de cada uno de los pacientes. El protocolo de estudio se realizó conforme a las guías éticas de la declaración de Helsinki de 1975, previa aprobación del estudio

por el comité ético del hospital.

En la inclusión al estudio se analizaron las características clínicas y biológicas de estos pacientes: el género, la edad, el peso, los datos bioquímicos (creatinina, aclaramiento de creatinina, ALT, AST, GGT, FA), hemograma (hematocrito, Hb, plaquetas), el índice de reticulocitos, los datos virológicos (genotipo, RNA-VHC y carga viral) y la lesión histológica. Todos estos datos se incluyeron en una base de datos realizada para este estudio.

El estudio histológico, grado de fibrosis y actividad necroinflamatoria, se ha realizado conforme a la clasificación de Scheuer con modificaciones leves¹¹⁵.

- **Grado de fibrosis:** F0 ausente, F1 fibrosis portal, F2 Fibrosis periportal ± algunos puentes, F3 Fibrosis periportal ± puentes y F4 cirrosis.
- **Actividad necroinflamatoria:** de 0 a 8 y consiste en sumar (A) y (B):

(A) Porta-periportal		(B) Lobulillar	
0	Ausente	0	Ausente
1	Inflamación Portal	1	Focos inflamatorios
2	Inflamación periportal leve	2	Focos necroinflamatorios
3	Inflamación periportal moderada	3	Focos necrosis
4	Inflamación periportal severa	4	Necrosis en puentes

Se realizaron extracciones de sangre: basal y en las semanas 4, 8, 12, 16, 24, 32, 40 y 48 de tratamiento, así como a los 6 meses postratamiento, para su posterior estudio farmacológico y virológico. En todas las muestras se procedió a la obtención de dos alícuotas de suero (estudio virológico) y dos de plasma (estudio de la farmacocinética de la RBV) almacenándose a -80°C , hasta su posterior análisis.

Estudio de las tasas plasmáticas de RBV (TPR)

Las TPR se determinaron en muestras de plasma extraídas dos horas antes de la toma de la dosis de RBV en ayunas, mensualmente hasta el cuarto mes. A partir de ese momento y hasta la 48 semana se determinó la RBV en plasma cada 2 meses, en los que presentaban una RVP. Se comparó la concentración de RBV en los pacientes con RVP frente a los no-RVP y entre los pacientes con RVS frente a no-RVS. Con esto se pretendió conocer si los pacientes con RVS tienen una mayor concentración de RBV en plasma que los NR y recidivantes. También se estudió la posible influencia del género, peso, y función renal sobre las TPR. Debido a que en el momento de la determinación de las TPR observamos que había pacientes que en un momento determinado del tratamiento, presentaban tasas de RBV superiores a la media ($2,5\mu\text{g/ml}$), se consideró concentraciones altas de RBV, cuando la tasa encontrada era $\geq 3\mu\text{g/ml}$.

Estudio de la anemia

Se ha hecho un estudio de los efectos adversos asociados al tratamiento relacionándolos con la TPR. La anemia es el efecto adverso más estudiado en relación con la RBV. La Hb se determinó en la muestra basal así como en todos los meses de tratamiento. Debido a que sólo un 15% de los pacientes desarrollaron una anemia significativa ($\text{Hb} \leq 10\text{g/dL}$), el estudio de la anemia se ha realizado, teniendo en cuenta un descenso $\geq 25\%$, con respecto al

valor de la Hb basal.

Estudio de la cinética viral y respuesta al tratamiento

La carga viral del VHC se determinó en las semanas 4, 12, 48 y 72, con el objetivo de conocer los distintos tipos de respuesta y por tanto hacer los distintos grupos de estudio.

3.4 Metodología

3.4.1. Determinación del genotipo

El genotipo viral fue determinado mediante técnicas de hibridación inversa (Inno-LIPA II HCV; Innogenetics, S.A., Ghent, Belgium).

3.4.2. Detección del RNA-VHC

Para la detección cualitativa del RNA-VHC se utilizó la técnica COBAS AMPLICOR HCV V2.0 (Roche Diagnostics).

3.4.3. Determinación de la carga viral

La concentración del VHC se realizó mediante CA MONITOR-HCV V2.0 (Roche Diagnostics).

3.4.4. Extracción y determinación de la tasa plasmática de RBV (TPR)

- Extracción de la RBV plasmática: se procede a la extracción de aproximadamente 6 ml de sangre en un tubo con heparina, con cuidado de no hemolizarla para evitar la salida de RBV intracelular. Se centrifuga 5

min a 1500 x g a temperatura ambiente. El sobrenadante obtenido (plasma) se almacena a -20°C hasta su posterior análisis. La RBV se extraerá de 500 μl de plasma utilizando columnas de PBA (ácido fenil borónico) [100mg/10ml] de Varian (Bond Elut LRC-PBA, 100mg) y un Vac Elut (Varian).

- Pretratamiento de las columnas: lavar las columnas con:

1. 1 ml de metanol
2. 1 ml de ac. fosfórico 0.1M
3. 1 ml de amoníaco 0.5M
4. 1 ml de amoníaco 0.5M

-Muestra: echar en las columnas 500 μl de plasma previamente descongelado.

-Lavados: lavar dos veces con 1 ml de agua MilliQ.

-Elución: eluir la RBV con 1 ml de ac. Fosfórico 0.1 M en tubos de 12 ml de cristal.

-250 μl serán inyectados en la columna de HPLC.

- Determinación de RBV: se utilizó un HPLC Waters M-510 HPLC pump, una columna C18 de fase reversa, un detector UV Spectroflow 783 y un integrador HP (modelo 3396A). La fase móvil utilizada fue Ac. Fosfórico 20mM, con un flujo de 0.7ml/min, y una longitud de onda de 207nm.
- Curvas de calibración y control: se procedió a la realización de una curva de calibración con concentraciones de RBV pura (0.5, 1, 5, 10, 20 y 50 μM) diluida en agua. También se realizó una curva control con plasma

libre de RBV y distintas concentraciones del fármaco (1.67, 10 y 40 μ M). La RBV pura utilizada se ha obtenido de Sigma.

3.4.5 Aclaramiento de creatinina

El aclaramiento de la creatinina se calculó de la siguiente forma:

$$\frac{\text{Ccreat en orina} / \text{Ccreat en sangre} \times \text{Vol. orina}/24}{1440 \times \text{m}^2 \text{ sc}}$$

donde Ccreat es la concentración de creatinina, Vol. orina es el volumen de orina y m² sc es m² de superficie corporal.

3.5 Estudio estadístico

Análisis bivalente: para las variables cualitativas se ha aplicado el test estadístico Chi² o el test exacto de Fisher y para las cuantitativas el test de la *t* de student. Debido a que las variables dependientes de este estudio han sido cualitativas, el grado de asociación entre variables dependientes e independientes se determinó mediante el cálculo de la odds ratio cruda (ORc) mediante regresión logística, con un intervalo de confianza (IC) del 95% .

Análisis multivariante: para determinar el efecto de cada uno de los factores, la OR se ajustó (ORa) usando un modelo de regresión logística binaria. Todas las variables analizadas con relevancia clínica fueron incluidas en el análisis multivariante. El test de Hosmer and Lemeshow, se utilizó para validar el modelo estadístico ($P \geq 0.05$).

Se utilizó un análisis de regresión lineal para analizar variables cuantitativas (disminución de Hb y concentración plasmática de RBV) y un test ANOVA para poder asociar la pérdida de peso (categorizada en tres estratos: entre 0 y 1kg; 2 y 7kg; >7 kg) y las TPR (variable cuantitativa) así como el descenso de Hb durante el tratamiento (variable cuantitativa). El criterio para determinar significación estadística fue $P \leq 0.05$. Todos los cálculos estadísticos se realizaron usando el programa SPSS versión 15.0 para Windows.

Resultados

4. RESULTADOS

Características basales de pacientes con hepatitis crónica C (HCC) genotipo-1 y su relación con la RVP y RVS al tratamiento antiviral

Se analizaron un total de 119 pacientes con HCC genotipo-1. Las principales características clínicas, virológicas y parámetros histológicos basales se muestran en la Tabla 8. Los pacientes tenían una media de edad de 43 ± 10 años, un 59% fueron hombres (n=70) y un 41% mujeres (n=49). El 82% se contagiaron del VHC de forma parenteral y la media del peso corporal era de 71 kilos. Los valores medios de las transaminasas (ALT, AST, GGT) eran respectivamente de 87, 68 y 66 U/ml. La media de creatinina era de 0.89 mg/dl y el aclaramiento de 98 ml/min. La cifra media de Hb era de 15 g/dl, y 43 pacientes (37%) presentaron un descenso de la misma mayor del 25% con respecto a la basal. El grado necroinflamatorio medio era de 3.9 y el estadio de fibrosis de 2.8. Por último, 51 pacientes, el 45%, tenían una carga viral menor a 600.000 UI/ml.

Tabla 8. Características clínicas, bioquímicas, virológicas e histológicas basales de los pacientes.

	Pacientes n=119
Edad (años)	43±10
Sexo, hombres	70 (59)
Parenteral	97 (82)
Peso corporal (Kg)	71±11
ALT (U/ml)	87±14
AST (U/ml)	68±67
GGT (U/ml)	66±71
Creatinina (mg/dL)	0.89±0,2
Aclaramiento de creatinina (ml/min)	98±32
Hb (g/dl)	15±1.5
Descenso Hb ≥25% respecto a basal	43 (37)
Grado necroinflamatorio	3.9±1.6
Estadío de Fibrosis	2.8±2
Carga viral ≤600000 (UI/ml)	51 (45)

Los valores se representan por media ± desviación estándar o como valores absolutos con porcentajes entre paréntesis. ALT: alanín aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa; GGT: gamma-glutamil- transpeptidasa; Hb: hemoglobina.

Se obtuvo RVP en el 80% (95/119) de los pacientes y del total un 50% fue RVS (Tabla 9). Los pacientes con RVP tenían un peso corporal y niveles de GGT más bajos que los pacientes que no tenían RVP (P=0.016 y P=0.01, respectivamente); así el peso medio de los que obtenían respuesta era

de 70 kilos, 6 kilos menos que los que no la tuvieron. Como cabría esperar, los pacientes que no consiguieron RVP, presentaban niveles de ALT y AST más altos que los que obtuvieron respuesta, aunque no es estadísticamente significativo. Los pacientes con RVS eran más jóvenes que los no-RVS (59/119; 50%), con una media de edad de 42 años ($P=0.01$) y presentaban una carga viral basal más baja ($P=0.001$) (33/119). A la semana 4, sólo disponíamos de sueros de 39 pacientes. De éstos, el 59% (23/39) obtuvieron RVR.

Tabla 9.1. Factores asociados con la respuesta virológica precoz (RVP) y respuesta virológica sostenida (RVS) para el tratamiento antiviral

	RVP n=95(80%)	No-RVP n=24(19%)	RVS n=60(50%)	No-RVS n=59(50%)
Edad (años)	44±10	42±10	42±11*	46±8
Sexo, Hombres	54 (56)	16 (69)	37(62)	33(56)
Peso Basal (Kg)	70±11**	76±11	70±10	72±11
ALT (U/mL)	78±43	130±156	82±43	93±104
AST (U/mL)	61±40	100±130	61±38	76±87
GGT (U/mL)	58±62**	101±96	54±45	80±91
Aclaramiento creatinina (mL/min)	95±31	110±32	98±35	97±28
Hb (g/dL)	15±1.5	16±1.2	15±1.5	15±1.5
Disminución de Hb durante tratamiento	3.7±1.4	2.9±1.5*	3.7±1.4	3.5±1.5
Grado Necroinflamatorio	3.8±1.7	4.1±1.6	3.8±1.6	3.9±1.8
Estadio de Fibrosis	2.9±2.2	2.3±1.2	2.8±2	7±2.1
RBV dosis/Kg basal (mg/Kg)	15.3±1.9	14.6±1.5	15.3±1.8	15.4±1.95
Carga Viral ≤600000 (UI/mL)	40(42)	11(48)	33(55)**	18(30)

Los valores se representan por media ± desviación estándar o como valores absolutos con porcentajes entre paréntesis. RVP: Respuesta virológica precoz; RVS: Respuesta virológica sostenida; ALT: alanin aminotransferasa; AST: aspartato aminotransferasa; GGT: Gamma-glutamyl transpeptidasa; Hb: hemoglobina; RBV: ribavirina. Análisis bivariente: *P≤0.05; **P≤0.01.

En cuanto a la dosis por kg de RBV que tomaron los pacientes al comienzo del tratamiento, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con RVP y no-RVP, ni entre los pacientes con RVS y no-RVS (Tabla 9).

Cuando diferenciamos a los pacientes en RVS, recidivantes, respuesta virológica parcial (PVR) y NR a la semana 12 de tratamiento (Tabla 9.1), los únicos factores asociados con las diferentes respuestas fue la edad y la carga viral.

Tabla 9.2 Factores asociados con los diferentes tipos de respuesta al tratamiento antiviral.

	RVS n=60(50%)	Recidivante n=20(17%)	RVParcial n=16(14%)	NR Semana12 n=23(19%)	†P
Edad, (años)	42±11	45±7	49±6	41±9	0.02
Sexo, hombre	37 (62)	9 (45)	8 (50)	16 (70)	0.3
ALT (U/mL)	82±43	97±123	69±41	106±119	0.4
AST (U/mL)	61±38	88±97	52±22	82±106	0.2
GGT (U/mL)	54±45	84±128	64±38	85±68	0.2
Hb (g/dL)	15±1.5	15±1.8	15±1.2	15±1.2	0.4
Disminución Hb (g/dL)	3.7±1.4	3.8±1.6	3.6±0.8	2.9±1.5	0.2
Grado Necroinflamatorio	3.8±1.6	3.6±1.7	4.1±2.1	4±1.7	0.9
Estadio de Fibrosis	2.8±2	2.7±1.7	3.4±3.2	2.2±1.6	0.4
Carga Viral ≤600000(IU/mL)	33 (55)	3 (15)	4 (28)	11 (48)	0.006
Pacientes con TPR≥5mg/L^(*)	12 (20)	2 (10)	0 (0)	2 (8)	0.063

Los valores representan media±DS o valores absolutos con % en paréntesis. Los % vienen expresados por columnas. RVS, Respuesta Viroológica Sostenida; RV Parcial, Respuesta Viroológica Parcial (semana 12); NR, Respuesta Nula(semana 12); ALT,

†Análisis bivalente: ANOVA; Variable dependiente: Respuesta al tratamiento categorizada en 4 estratos: RVS (VHC-RNA indetectable en suero 24 semanas después de eliminar el tratamiento, Recidivante (VHC-RNA indetectable durante el tratamiento pero detectable después de discontinuarlo), RV Parcial (disminución de $\geq 2 \log_{10}$ IU/mL en VHC-RNA desde la basal a las 12 semanas de tratamiento con VHC-RNA detectable a la semana 24 de tratamiento), y NR (disminución de $< 2 \log_{10}$ IU/mL del VHC-RNA de la basal a la semana 12 de

tratamiento). (*)Pacientes con $TPR \geq 5\text{mg/L}$ durante los 4 primeros meses de tratamiento.

Estudio de las tasas plasmáticas de RBV (TPR)

De los 119 pacientes, 28 (23,5%) redujeron en algún momento del tratamiento la dosis de RBV. De estos, 18 (64,3%) obtuvieron RVS y 10 (35,7%) no-RVS. Las TPR se determinaron en las semanas 4, 8, 12, 16, 24, 32 y 40 de tratamiento. La media de las TPR obtenidas en cada mes del tratamiento se muestra en la Figura 12. La media de las TPR total fue de 2.5 μg

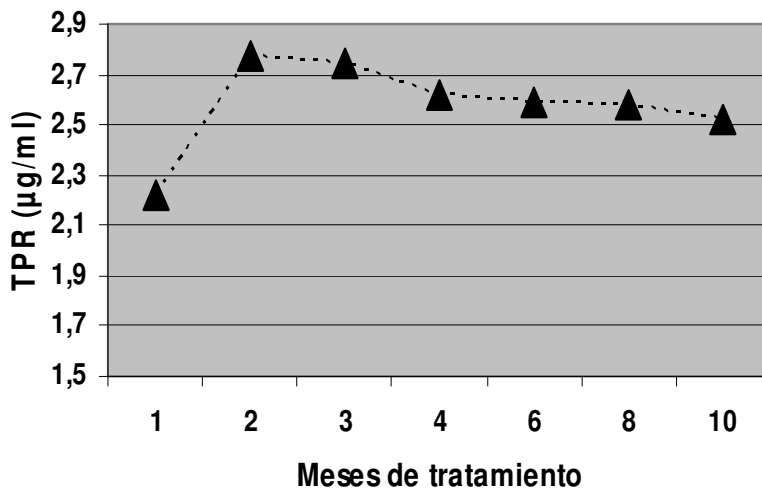
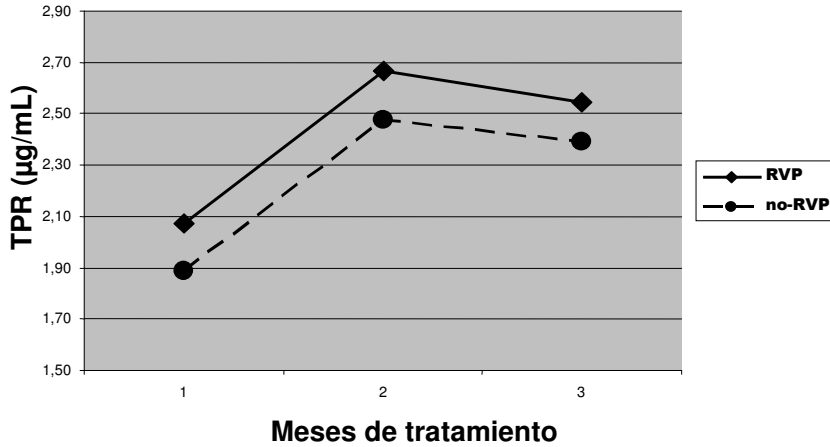


Figura 12. Media de las tasas plasmáticas de RBV ($\mu\text{g/ml}$) en cada uno de los meses de tratamiento.

No se encontraron diferencias significativas en las TPR comparando mes a mes, entre los pacientes con RVP y no-RVP (Figura 13A), ni entre los pacientes con RVS frente a los recidivantes (Figura 13B), siendo más bajas la de los no-RVP y recidivantes que la de los RVP y RVS. Tampoco encontramos diferencias estadísticas cuando comparamos los pacientes con

RVS frente a los no-RVS (RVS: $2,6 \pm 1,1$ $\mu\text{g/ml}$ frente no-RVS: $2,5 \pm 0,7$ $\mu\text{g/ml}$).

A)



B)

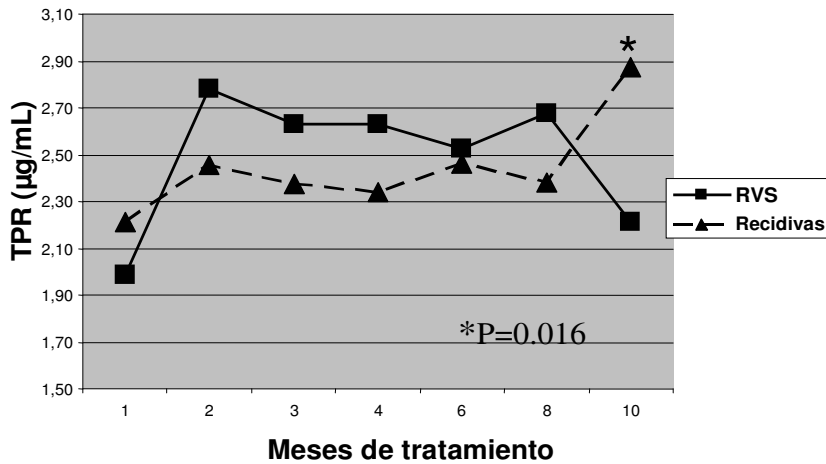


Figura 13. (A) Media de las tasas plasmáticas de RBV ($\mu\text{g/ml}$) durante el tratamiento de los pacientes con respuesta virológica precoz (RVP) (\blacklozenge) frente a no-RVP (\bullet). (B) Media de las tasas plasmáticas de RBV ($\mu\text{g/ml}$) durante el tratamiento de los pacientes con respuesta virológica sostenida (RVS) (\blacksquare) frente a recidivantes (\blacktriangle).

Una vez determinadas las TPR de todos los pacientes, observamos que algunos, en determinados, meses presentaban TPR muy superiores a la media ($2.5 \mu\text{g/ml}$) que habían obtenido durante el tratamiento completo. Por lo tanto, se decidió considerar altas concentraciones de RBV plasmática cuando dichas tasas eran mayores o iguales a $3 \mu\text{g/ml}$. El 56% (67/119) de los pacientes tenían por lo menos una elevación $\geq 3 \mu\text{g/ml}$ y el 33% (22/67) de éstos tenían concentraciones $\geq 5 \mu\text{g/ml}$; en el 73% (16/22) de estos últimos, las concentraciones $\geq 5 \mu\text{g/ml}$ se producían entre el segundo y el cuarto mes de tratamiento: 12 de los 16 (75%) presentaron RVS y los 4 restantes (25%) fueron no-RVS (2 eran recidivantes y 2 no-RVP), mientras que en los pacientes que no presentaban concentraciones $\geq 5 \mu\text{g/ml}$ antes de los 4 primeros meses de tratamiento, 48 (47%) presentaban RVS y el 53% (n=55) no respondían al tratamiento (P=0.03).

También se ha encontrado una asociación entre las altas concentraciones de RBV durante el tratamiento y la tasa de RVS (Figura 14); las diferencias entre los pacientes con RVS y no-RVS eran estadísticamente significativas cuando las concentraciones eran $\geq 5 \mu\text{g/ml}$ o $\geq 6 \mu\text{g/ml}$ (P=0.02).

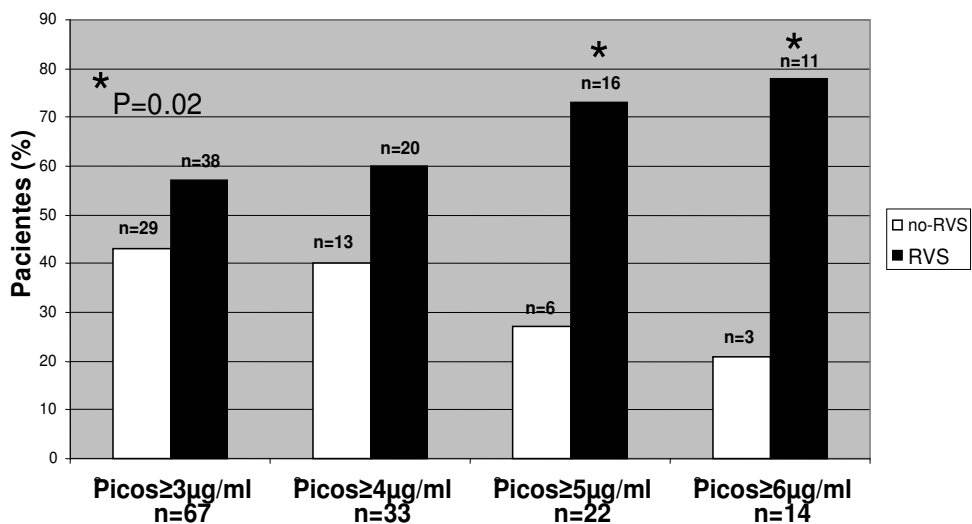


Figura 14. Relación entre altas concentraciones de RBV y respuesta virológica sostenida (RVS).

Los factores relacionados con concentraciones de RBV ≥ 5 $\mu\text{g/ml}$ se muestran en la Tabla 10, encontrando que la pérdida de peso ($\geq 2\text{Kg}$) ($P=0.036$), la reducción de Hb durante el tratamiento (media de descenso de Hb) ($P=0.005$), el descenso de Hb $\geq 25\%$ con respecto a la Hb basal ($P=0.02$) y pacientes con RVS ($P=0.02$), se asociaban significativamente con la presencia o no de concentraciones ≥ 5 $\mu\text{g/ml}$.

En el análisis multivariante, las siguientes variables se asociaron independientemente con las altas concentraciones de RBV: pacientes con pérdida de peso durante el tratamiento ($P=0,034$), pacientes con RVS ($P=0.04$) y los pacientes que presentaron un decrecimiento de Hb $\geq 25\%$ con respecto a la basal ($P=0.008$).

Tabla 10. Análisis bivariante y multivariante de las variables que se asocian con concentraciones de ribavirina (RBV) $\geq 5\mu\text{g/ml}$ durante el tratamiento de la HCC.

	Pacientes con $\geq 5\mu\text{g/ml}$ n=22 (18%)	Pacientes sin $\geq 5\mu\text{g/ml}$ n=97 (82%)	Análisis bivariante ORc (95% CI)	Análisis Multivariante ORa (95% CI)
	Edad (años)	44 \pm 12	43 \pm 9,7	1.007 (0.93-1.05)
Sexo, hombres n (%)	11 (50)	59 (61)	0.644 (0.25-1.63)	
Peso corporal (Kg)	69 \pm 13	71 \pm 10.5	0.976 (0.93-1.01)	0.9 (0.89-1.05)
Pacientes que pierden ≥ 2 Kg de peso durante el tratamiento n (%)	21(95)	70 (72)	6.4* (1.16-1.45)	10.48* (1.1-92)
Kg perdidos durante el tratamiento	7.4 \pm 3.7	6.2 \pm 3.7	1.08 (0.95-1.22)	
Carga viral <600.000 UI/ml n(%)	12(54)	39(40)	1.63 (0.64-4.15)	
Hb basal (g/dl)	15 \pm 1.4	15 \pm 1.5	1.04 (0.76-1.41)	1.26 (0.81-1.94)
Caída de Hb (g/dl) durante el tratamiento	4.4 \pm 1.4	3.4 \pm 1.4	1.64*** (1.1-2.3)	
Pacientes con descensos de Hb $\geq 25\%$ con respecto a Hb basal n (%)	13(59)	30(31)	3.08* (1.1-8)	4.6*** (1.5-14.3)

	Pacientes con $\geq 5\mu\text{g/ml}$ n=22 (18%)	Pacientes sin $\geq 5\mu\text{g/ml}$ n=97 (82%)	Análisis bivariante ORc (95% CI)	Análisis Multivariante ORa (95% CI)
Pacientes con RVS n (%)			ORc (95% CI)	ORa (95% CI)
RBV dosis/kilo (mg/Kg)	15.7 \pm 2.3	15.1 \pm 1.6	1.17 (0.92-1.49)	
RBV dosis/kilo en 12 meses de tratamiento media (mg/Kg)	16 \pm 2.1	15 \pm 1.9	1.2 (0.97-1.52)	

Continuación Tabla 10.

Los valores se representan por media \pm desviación estándar o como valores absolutos con porcentajes entre paréntesis. ORc: odds ratio cruda; ORa: odds ratio ajustada; RVP: respuesta virológica precoz; RVS: repuesta virológica sostenida; Hb: hemoglobina; RBV: ribavirina; TPR: tasas plasmáticas ribavirina. * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$.

Análisis multivariante: peso corporal basal, y Hb basal están incluidos en el modelo final por ser factores de confusión. Hosmer-Lemeshow test $P=0.711$.

Estudio del peso corporal y la hemoglobina: asociación con las tasas plasmáticas de ribavirina (TPR)

La media de peso corporal antes del tratamiento era de 71,6 Kg (46-98 Kg); se produjo una importante pérdida de peso durante el tratamiento (media de pérdida de peso: 9.03 Kg), con una rápida recuperación una vez terminado el mismo ($P < 0.001$) (Figura 15). La pérdida de peso afectó al 78% de los pacientes durante el primer mes de tratamiento, y al 86% durante los 2 primeros meses. Éstos también fueron los pacientes que presentaron la mayor caída de Hb (una media de 4.4 g/dL).

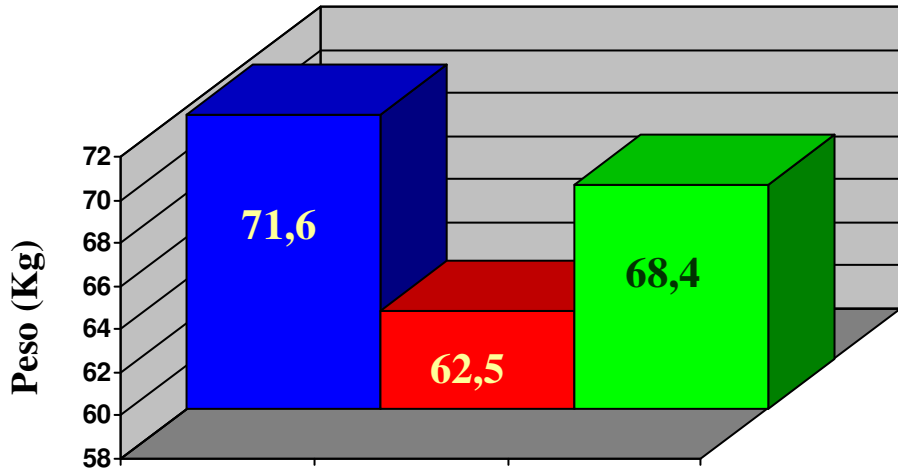


Figura 15. Media del peso corporal basal (azul), durante el tratamiento (rojo) y al finalizar el mismo (verde).

Los pacientes que tuvieron una pérdida de peso >7 kg durante el tratamiento, fueron los que mayores TPR obtuvieron durante el mismo (ANOVA $P=0.003$) (Figura 16), y mayor decrecimiento de Hb tuvieron (Tabla 17). Así, los pacientes que perdieron entre 0-2 kg ($n=28$) la bajada de Hb fue de 3,24g/dl, los que perdieron entre 2-7 kg ($n=63$) la Hb decreció 3,3 g/dl de media, y en aquellos que perdieron >7 kg ($n=28$) la Hb disminuyó 4,3 g/dl de media (ANOVA, $P=0.007$) (Figura 17).

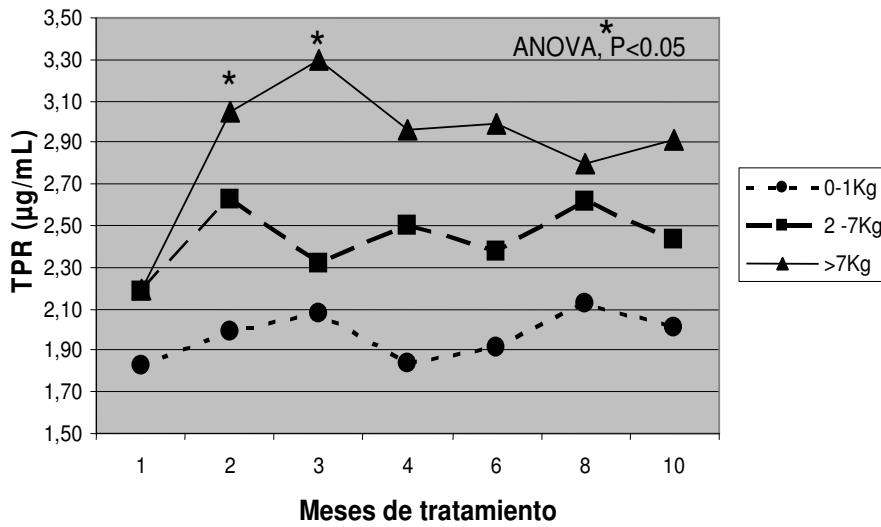


Figura 16. Evolución de las tasas plasmáticas de RBV en función de la pérdida de peso.

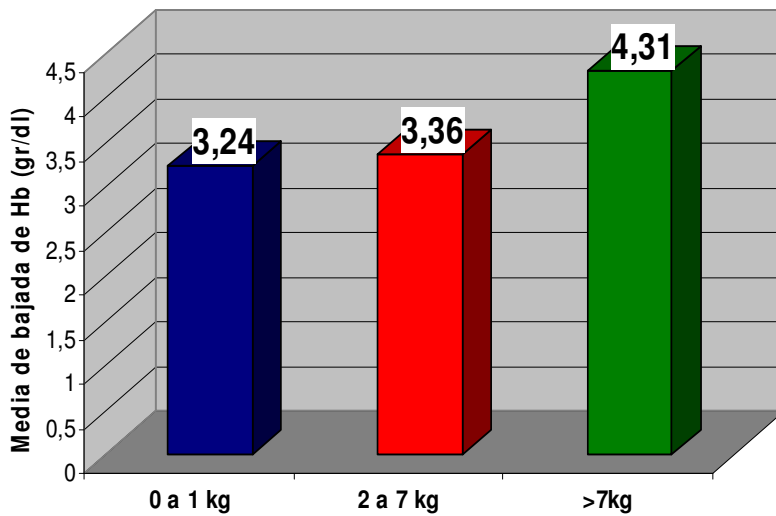


Figura 17. Descenso de Hb en función de la pérdida de peso. Pérdida de peso de 0 a 1 kg (barra azul); pérdida de peso de 2 a 7 kg (barra roja); pérdida de peso mayor de 7 kg (barra verde).

Estudio de la Hb durante la terapia antiviral

La reducción de Hb osciló entre 0.2 y 8.6 g/dl durante el tratamiento (media descenso de Hb, 3.6 ± 1.3 g/dl), y volvió a sus valores basales a las 6 semanas de haber terminado el tratamiento antiviral (Figura 18).

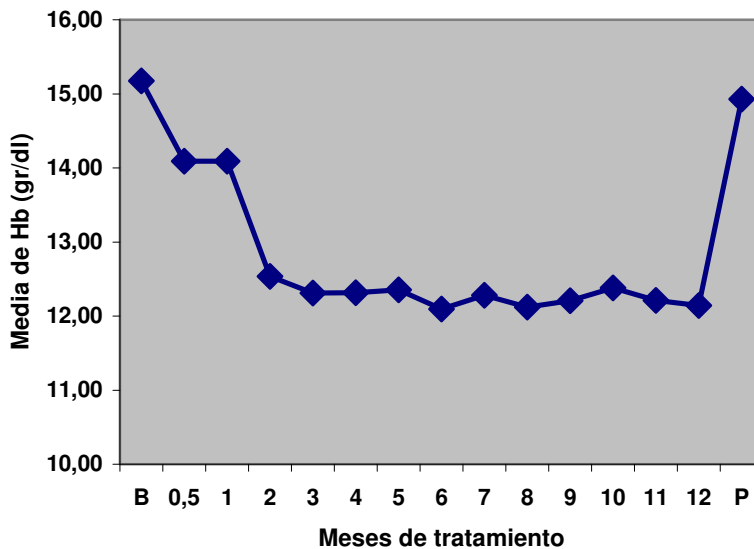


Figura 18. Media de Hb durante el tratamiento con IFNpeg + RBV. B: Basal; P: postratamiento (6 semanas después de terminar tratamiento).

Al estratificar por sexo (Figura 19) podemos destacar que los valores de Hb en los hombres fue mayor durante todo el tratamiento que en las mujeres, siendo la diferencia estadísticamente significativa (Hombres media de Hb= 13.5 ± 1.3 ; Mujeres media de Hb= 12 ± 0.9 , $P < 0.0001$). Además en los hombres el descenso de Hb fue mayor que en las mujeres (media de descenso de Hb en hombres: $3.8 \text{ g} \pm 1.47$ frente a media de descenso de Hb en mujeres: $2.2 \text{ g} \pm 1.41$, $P = 0.03$) (Figura 20).

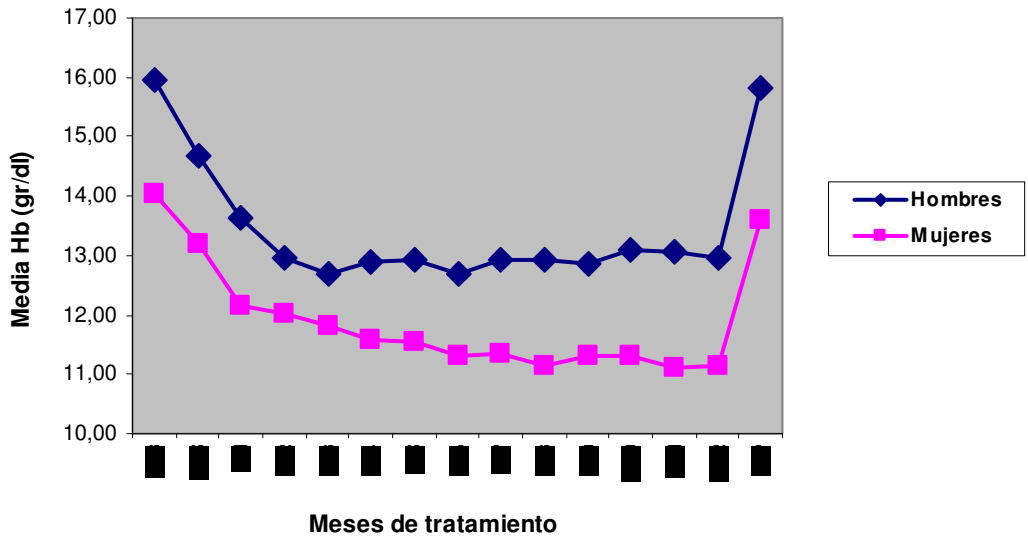


Figura 19. Medias de Hb (g/dl) en hombres (♦) y mujeres (■) durante el tratamiento. Hb: hemoglobina y mes a continuación; HbB: Hb Basal; Hb15: Hb a los 15 días; HbP: hemoglobina postratamiento.

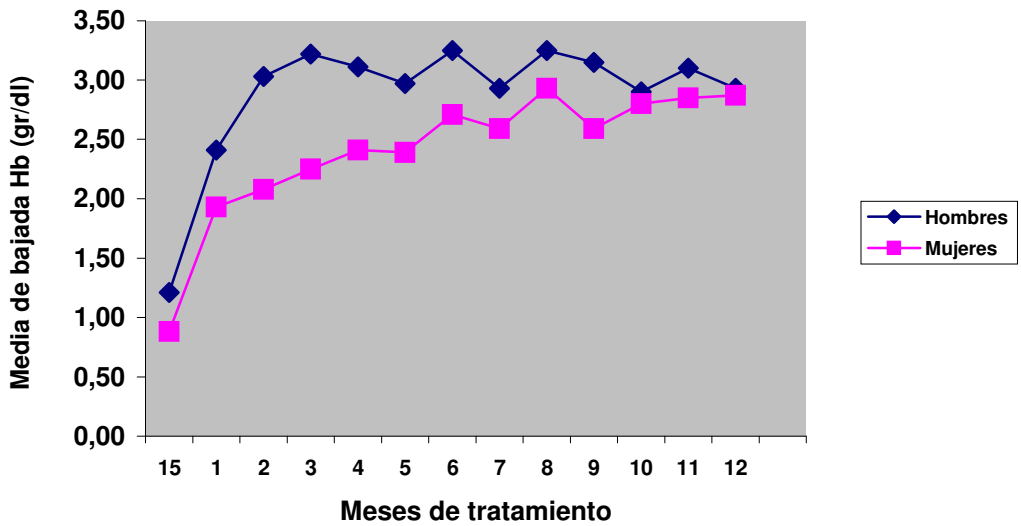


Figura 20. Niveles de descenso de Hb hombres (♦) y mujeres (■) durante el tratamiento.

De la cohorte total de pacientes (n=119) sólo el 15% (18/119) desarrollaron anemia severa (Hb<10g/dl). El 74% de pacientes tuvo una reducción de Hb entre 2-5 g/dl mientras que el 14% de ellos presentaron un descenso >5 g/dl (Figura 21). El 37% de los pacientes tuvieron una reducción de Hb $\geq 25\%$ con respecto a las cifras basales; esta disminución ocurrió durante los primeros tres meses del tratamiento en el 56% de los pacientes.

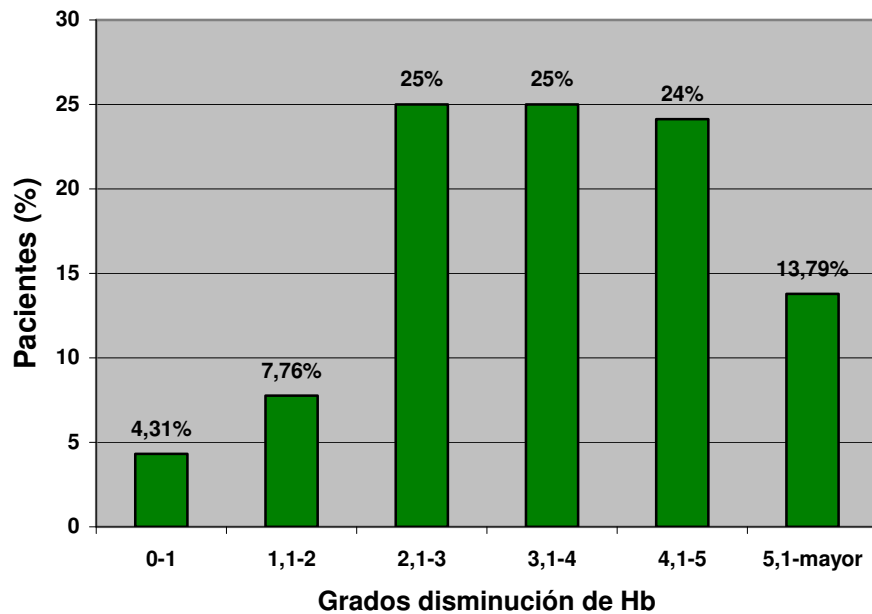


Figura 21. Porcentaje de pacientes con descensos de Hb por tramos. Tramos en g/dl.

En la Tabla 11 se muestra el análisis bivalente y multivalente de las variables que influyen en los descensos de Hb (<25% vs $\geq 25\%$) durante el tratamiento de HCC. Se observa que mayor edad ($P < 0.0001$) y mayores niveles basales de Hb ($P = 0.012$) se asocian de forma significativa con una reducción de Hb $\geq 25\%$ con respecto a la basal, según el análisis bivalente. Hay que destacar la correlación entre la disminución de Hb ($\geq 25\%$ con respecto a Hb basal) y la dosis de RBV por kg de peso tomada durante todo el

tratamiento y las TPR (Tabla 11 y Fig. 22 A y B). Aquellos pacientes con un mayor descenso de Hb ($\geq 25\%$) tenían menos dosis de RBV por Kg de peso mensualmente que los pacientes con menos caída de Hb ($< 25\%$). Sin embargo, los pacientes con mayores descensos de Hb ($\geq 25\%$) tenían mayores TPR durante el tratamiento.

En el análisis de regresión logística multivariante, la edad del paciente ($P=0.02$), el nivel de Hb basal ($P=0.004$), la dosis de RBV por kilo (mg/Kg) (12 meses de tratamiento) ($P=0.002$) y las TPR durante los 10 primeros meses de tratamiento ($\mu\text{g/ml}$) ($P<0.0001$) eran factores independientemente asociados a un descenso de Hb $\geq 25\%$ con respecto la Hb basal.

Tabla 11. Análisis bivariante y multivariante de las variables que influyen en los descensos de Hb (<25% vs ≥25%) durante el tratamiento de HCC.

	Pacientes con descenso de Hb con respecto a basal de:		Análisis Bivariante	Análisis Multivariante
	< 25% n=73 (63%)	≥25% n=43 (37%)	ORc (95% CI)	ORa (95% CI)
Edad (años)	41 ± 10	48±9.1	1.1** (1.1-1.1)	1.07* (1.01-1.1)
Sexo, hombres	41 (56)	26 (60)	1.12 (0.5-2.4)	0.28 (0.1-1.32)
Peso corporal (Kg)	70 ±10.8	73 ± 11.4	1.03 (0.9-1.06)	
Kg perdidos durante el tratamiento	6 ±3.5	7.3 ± 4.1	1.09 (0.9-1.22)	
ALT basal (U/ml)	93 ± 86	80 ± 67	0.99 (0.99-1)	
Carga viral ≤600.000 (UI/ml)	27 (37)	22 (51)	1.7 (0.7-3.7)	
Creatinina (mg/dl)	0.87±0.17	0.92±0.22	1.4 (0.28-10.1)	
Aclaramiento de creatinina (n=50)	106 ± 32	88 ± 63	0.99 (0.9-1.01)	
Hb basal (g/dl)	14.9±1.48	15.6 ± 1.46	1.4* (1.07-1.8)	2.38** (1.3-4.4)
RBV basal dosis/kilo (mg/Kg)	15.5 ± 1.8	14.8 ± 1.7	0.8 (0.6-1.02)	

	Pacientes con descenso de Hb con respecto a basal de:		Análisis Bivariante	Análisis Multivariante
	< 25% n=73 (63%)	≥25% n=43 (37%)	ORc (95% CI)	ORa (95% CI)
RBV dosis/kilo:				
media 12 meses de tratamiento (mg/Kg)	15.8 ± 2	14.5 ± 1.7	0.7** (0.5-0.9)	0.6** (0.4-0.8)
TPR media de los 3 primeros meses (µg/ml)	2.2 ± 1.7	3 ± 1.14	1.8** (1.2-2.6)	
TPR media de los 10 meses (µg/ml)	2.2 ± 1.2	3.1 ± 1.1	3.3** (1.9-5.9)	6.6** (2.8-15.3)
Pacientes con concentraciones de RBV ≥5µg/ml	9 (12)	13 (30)	3.08 *(1.1-8)	

Continuación Tabla 11

Los valores se representan por media ± desviación estándar o como valores absolutos con porcentajes entre paréntesis. ORc: odds ratio cruda; ORa: odds ratio ajustada; ALT: alanin aminotransferasa; Hb: hemoglobina; RBV: ribavirina; TPR: tasas plasmáticas ribavirina. Análisis multivariante: incluye edad, sexo, peso corporal basal, kilos perdidos, carga viral, Hb basal, RBV basal dosis /kilo, RBV dosis/kilo en 12 meses tratamiento y TPR en 10 meses tratamiento. Concentraciones >5µg/ml no introducidos en el análisis por coliniaridad con la media de TPR. El sexo se incluye en el modelo final por ser factor de confusión. Hosmer-Lemeshow test P=0.466. *P≤0.05 , **P≤0.01

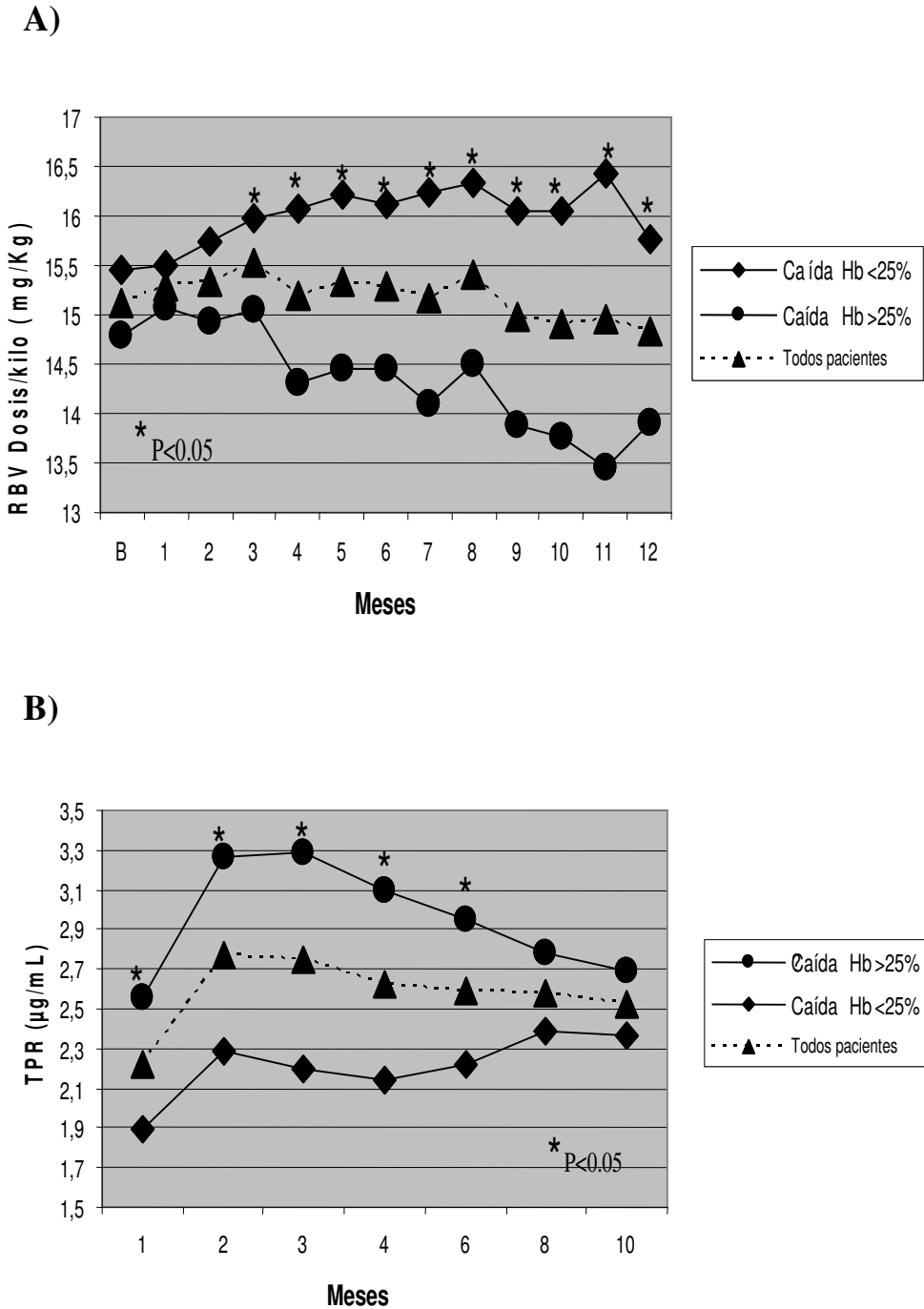


Figura 22. Media de RBV dosis/kilo (mg/Kg) (A) y media de tasas plasmáticas de RBV (TPR) (µg/ml) (B), durante el tratamiento en todos los pacientes (▲), con (●) y sin (◆) caída de Hb ≥25% con respecto a la basal. Valores de P referidos a la relación entre la caída de Hb ≥25% y < 25%.

Análisis multivariante de los factores asociados con la respuesta

En el análisis multivariante se incluyeron las siguientes variables: edad, sexo, peso basal, ALT basal, GGT basal, pérdida de peso ($\geq 2\text{Kg}$), carga viral basal, Hb basal, descenso de Hb $\geq 25\%$ con respecto a Hb basal, presencia de concentraciones de RBV $\geq 5\mu\text{g/ml}$ durante los 4 primeros meses de tratamiento y media de la dosis de RBV por kilo de peso de los 12 meses de tratamiento (mg/Kg), y como variables dependientes la RVP y RVS. La GGT fue la única variable predictora de RVP frente a no-RVP (OR=0.99, 95% CI:0.985-0.99, P=0.017), de manera que a medida que aumenta la GGT en 1 unidad, la probabilidad de RVP disminuye 0,99 veces.

Las variables predictoras de RVS cuando comparamos a estos pacientes con los recidivantes fueron: la edad (OR=0.915, 95% CI: 0.858-0.976, P=0.007; a medida que aumenta la edad en 1 año, la probabilidad de RVS disminuye 0,91 veces), y tener una carga viral ≤ 600.000 UI/ml (OR=6.4, 95% CI: 2.14-18.6, P=0.001), de forma que los pacientes con una carga viral ≤ 600.000 UI/ml, tienen 6,4 veces más probabilidad de tener RVS que los que la tienen mayor de 600.000UI/ml, con respecto a los pacientes recidivantes.

Cuando comparamos a los pacientes con RVS con los no-RVS (NR+Recidivantes), nos encontramos que pacientes con concentraciones $\geq 5\mu\text{g/ml}$ durante los 4 primeros meses de tratamiento tenían 3,6 veces más probabilidad de tener RVS que los pacientes con no-RVS (OR=3.6, 95% CI: 1.02-13.17, P=0.04). Así mismo la edad se asoció a RVS (OR=0.953, 95% CI: 0.91-0.99, P=0.019), al igual que tener una carga viral ≤ 600.000 UI/ml (OR=3.1, 95% CI: 1.36-6.98, P=0.007).

Discusión

5. DISCUSIÓN

Un descenso de los niveles de Hb durante el tratamiento con IFN más RBV ocurre en la mayoría de los pacientes. Este descenso de Hb depende de la dosis de RBV, y compromete el efecto de la terapia con IFN/RBV; por tanto es un efecto adverso de mucha relevancia. El descenso de Hb inducido por la RBV, muestra una correlación significativa positiva con las TPR así como con la concentración de RBV intraeritrocitaria. La mayoría de los estudios realizados sobre este tema, encuentran una relación entre las TPR y la RVS, pero no concluyen ninguna monitorización terapéutica óptima de las TPR. En el presente estudio, evaluamos la relación que existe entre las TPR y los cambios en la Hb así como con la respuesta antiviral. Hemos encontrado que los descensos de Hb inducidos por este fármaco se correlacionan negativamente con la dosis/kg de RBV, pero positivamente con las TPR durante el tratamiento. Además, pacientes que presentan altas concentraciones de RBV plasmática durante los primeros 4 meses de tratamiento consiguen una mejor respuesta al tratamiento antiviral, pero este grupo de pacientes es muy escaso, y estas altas concentraciones no aparecen siempre en el mismo momento de tratamiento, por lo que sería difícil controlar en que momento del tratamiento se debe monitorizar las TPR, y consecuentemente es difícil llevar a la práctica clínica estos resultados.

Al igual que en otros trabajos, hemos encontrado un descenso de Hb que oscila entre 2-5 g/dL en el 74% de los pacientes, y más de 5 g/dL en el 14% de ellos, con normalización de los valores a los 6 meses post-tratamiento. Además, la reducción de la dosis de RBV debido a la aparición de anemia ha sido necesaria en un 24% de los pacientes. Estos resultados están en consonancia con los datos publicados^{116,117}. Debido a la baja proporción de pacientes (15%) con anemia severa (<10g/dL), hemos seleccionado una reducción de la Hb $\geq 25\%$ con respecto a la basal como punto de corte, ya que el 37% de nuestros pacientes presentaron valores de Hb alrededor del 25% por

debajo de los valores basales. Otra razón para escoger este punto de corte es que previamente se ha descrito que los pacientes con un descenso de Hb $>20\%$ con respecto a la basal, son los que peor calidad de vida presentaban ¹¹⁶. En nuestro estudio, las variables que influyen en la caída de la Hb durante el tratamiento fueron evaluadas. Al igual que en otros estudios ¹¹⁸, hemos encontrado que mayor edad y altos niveles basales de Hb son factores asociados a la disminución de Hb $\geq 25\%$. Es notable que entre los pacientes con descensos de Hb $\geq 25\%$, la dosis de RBV/kg recibida durante el tratamiento fue progresivamente reduciéndose; en contraste, entre los que descendió la Hb $<25\%$, la dosis de RBV/Kg se aumentó hasta el final del periodo de tratamiento. Esto es lógico, ya que los primeros pacientes son los que presentan anemia, y por lo tanto es necesario reducir la dosis de RBV. Por el contrario, la dosis de RBV no se redujo en los pacientes con descenso de Hb $<25\%$, pero la pérdida de peso sufrida provocó un aumento de la proporción de dosis de RBV por kilo recibida. Sin embargo, esta situación no lleva a un aumento de las TPR, así los pacientes con un descenso de Hb $<25\%$ presentaban menores TPR. Por lo tanto, se puede concluir que la dosis estándar de RBV (800-1200 mg) no influye en la reducción de los niveles de Hb pero sí los niveles plasmáticos de RBV, ya que altos niveles de RBV en plasma conlleva mayores niveles de RBV intraeritrocitaria, provocando la lisis de estos y por tanto un descenso de Hb en sangre. Así, la pregunta que nos tenemos que hacer es por qué hay pacientes que recibiendo las dosis establecidas por peso de RBV, alcanzan TPR más elevados que otros que reciben las mismas dosis.

Nuestros datos son corroborados por los de Lindahl y cols.¹¹⁹, aunque éstos hacen el estudio con los datos basales de RBV dosis por kilo, y no en un seguimiento mes a mes de los mismos. Estos autores sugieren que la falta de correlación entre la anemia y la dosis por kilo de RBV podía ser debida a la pequeña variación de éstas. También proponen que la determinación de las TPR o de las concentraciones de RBV en los eritrocitos puede contribuir a la

predicción y al manejo de la anemia inducida por RBV¹¹⁹. Probablemente, más que la predicción de anemia, podría ayudarnos a monitorizar el tratamiento de forma individual, porque bajas TPR en ausencia de anemia severa puede ser indicación de aumentar en un futuro la dosis para intentar alcanzar mayores tasas de RVS. De todos modos, en algunos casos esto no es posible, porque se sabe que las TPR necesarias para alcanzar RVS, podrían provocar serios problemas de anemia. A este respecto, Lindahl y cols.¹²⁰, investigaron la seguridad y la tolerancia en el tratamiento de altas dosis de RBV en combinación con IFN-peg. Las conclusiones fueron que las altas dosis de RBV (3.6 µg/ml) diseñadas para un programa individualizado de estudio, son viables pero se asocian con mucha frecuencia a graves efectos secundarios como la anemia.

Otros estudios han evaluado la relación entre los cambios en la Hb durante el tratamiento combinado y la respuesta virológica^{118,121,122}. En nuestro caso, no se ha encontrado relación alguna. Sin embargo, esta correlación podría estar asociada con la elección de la cohorte de enfermos y los tratamientos, o con la definición de anemia.

El principal objetivo de este estudio fue determinar la relación que podría existir entre las TPR y respuesta virológica, y no la viabilidad o seguridad en el tratamiento. Nuestra principal hipótesis fue que altas TPR estaban asociadas a una alta probabilidad de RVS. La concentración óptima de RBV para alcanzar RVS, todavía no está establecida. En un estudio previo, se evidenció que pacientes que recibían la dosis estándar de RBV 800-1200 mg diariamente, tenían unas TPR de 2 µg/ml¹¹⁹; en nuestro estudio es de 2.5µg/ml.

Se ha demostrado que la probabilidad de respuesta al tratamiento aumenta cuando lo hacen las TPR^{60,123,124}. Jen y cols.¹²⁴ correlacionaron altas concentraciones de RBV en la semana 4 de tratamiento, con altas tasas de

respuesta, y la probabilidad de responder aumentaba a medida que aumentaban las TPR. Maynard y cols.⁶⁰ describieron que $TPR > 2\mu\text{g/ml}$ en la semana 4 de tratamiento, era un gran factor predictivo de RVS, en un estudio no randomizado de 22 pacientes que recibieron IFN-peg- α -2b y RBV ajustada a peso. Sin embargo, en nuestro estudio, no hemos encontrado correlación significativa entre las TPR en los meses 1, 2, 3, 4, 6, 8 y 10 y la RVP y RVS.

Un trabajo reciente¹²³ mostró que los pacientes con HCC genotipo-1 y que recibieron IFN-peg en asociación con RBV tenían una mayor probabilidad de obtener RVR, RVP o RVS cuando presentaban mayores TPR en las primeras 4 horas después de recibir la primera dosis del fármaco. Estos datos no se contradicen con los nuestros, porque es conocido que después de múltiples dosis orales de RBV, el “*steady state*” se alcanza a las 4 semanas, siendo el valor medio de RBV (a dosis estándar) de $2.2\ \mu\text{g/ml}$ ^{61,119,125}. Una vez que determinamos todas las TPR durante el tratamiento en todos los pacientes, observamos que algunos alcanzaban concentraciones superiores a la media ($2,5\ \mu\text{g/ml}$), y decidimos considerar como altas TPR cuando la concentración era $\geq 3\ \mu\text{g/ml}$.

El análisis estadístico mostró que a medida que aumentaba el valor de las TPR aumentaba la probabilidad de RVS. Cuando las concentraciones son $\geq 5\mu\text{g/ml}$, las diferencias estadísticas entre los pacientes con RVS y no-RVS, son significativas ($P=0.02$). En el análisis multivariante, los pacientes con concentraciones $\geq 5\mu\text{g/ml}$ tienen 3.3 veces más probabilidad de obtener RVS que los pacientes sin dichas concentraciones. Además, cuando estas altas concentraciones se producen durante los primeros 4 meses de tratamiento, la probabilidad de RVS fue del 75%. Se sabe que en la práctica clínica no es muy útil determinar continuamente las TPR para detectar los pacientes con concentraciones $\geq 5\mu\text{g/ml}$, pero estos resultados nos están indicando que cuando se alcanzan altas TPR aumenta la probabilidad de RVS.

Estas altas TPR se podrían alcanzar fácilmente con altas dosis de RBV. Lindahl y cols.¹²⁰ aplicaron dosis de RBV de entre 1.600-4.000 mg diarios, y encontraron que el 90% (n=9) de los pacientes alcanzaban RVS, y sólo 1 (10%), no tuvo RVP, y por lo tanto tampoco RVS. La mayor limitación de este trabajo fue el bajo número de pacientes incluidos. Como se esperaba, la anemia fue el efecto secundario más importante, tanto que en 2 pacientes la Hb cayó por debajo de 8.0 g/dL, precisando transfusiones o suspendiendo la dosis de RBV de forma temporal. Debido a la severidad de los efectos secundarios, tuvieron que hacer un estrecho seguimiento de cada uno de los pacientes.

Por estas razones, decidimos estudiar las variables que pudiesen relacionarse con las concentraciones $\geq 5\mu\text{g/ml}$ de TPR. La característica fundamental de estos pacientes es que pierden peso durante el tratamiento, así el 95% de ellos perdieron ≥ 2 Kg durante el tratamiento, y esta pérdida afectó al 78% de los pacientes durante el primer mes de tratamiento, y al 86% durante los 2 primeros meses. Éstos también fueron los pacientes que presentaron la mayor caída de Hb.

Las discordancias que encontramos entre los distintos estudios, puede deberse a la elección de la cohorte estudiada, a la terapia antiviral utilizada y a la metodología utilizada para la determinación de las TPR, pero la gran mayoría de ellos concluyen que los niveles plasmáticos de RBV se correlacionan con el desarrollo de la anemia y con la RVS al tratamiento^{126,127}. Por lo tanto, una monitorización terapéutica temprana de las TPR, podría ayudarnos a adaptar la dosis de RBV a cada paciente, mejorando de esta forma la eficacia y la seguridad del tratamiento anti-VHC. Sin embargo, se desconoce en que momento durante el tratamiento, las TPR deberían ser monitorizadas. La literatura que existe sobre este tema es discordante. Varios estudios sugieren determinar la TPR a la semana 4 de tratamiento; otros encuentran una clara correlación entre la RVS y las TPR a la semana 8 y 12; e

incluso algunos opinan que se debe determinar antes de la semana 4, ya que esto permitiría ajustar la dosis de RBV según el paciente^{60, 123, 124,126,127}.

En resumen, las TPR durante el periodo completo de tratamiento están relacionadas positivamente con la caída de los niveles de Hb. Además, los pacientes con concentraciones de RBV $\geq 5\mu\text{g/ml}$ tienen mayor probabilidad de presentar RVS, aún más si estos se dan dentro de los 4 primeros meses de tratamiento. El hecho de que estas altas tasas se den en un número tan pequeño de pacientes, y que no siempre se produzcan en el mismo momento del tratamiento, hace difícil su monitorización, y por tanto su aplicación a la práctica clínica habitual. Nuestros resultados, contribuyen a afirmar el hecho de que altas TPR conllevan una mejor respuesta al tratamiento antiviral de la HCC, aunque no son necesarias para poder alcanzar la RVS. ¿Por qué existen diferencias entre los pacientes a presentar anemia inducida por la RBV? y ¿por qué se producen mayores concentraciones plasmáticas de RBV en determinados pacientes tomando las dosis estándares establecidas? Se necesitan estudios posteriores para resolver estas cuestiones. El impacto de las propiedades farmacológicas de la RBV debe ser más investigado y se requieren más estudios para conocerlo.

Conclusiones

Conclusiones:

1. Los pacientes con RVP tienen menor peso y una GGT más baja que los pacientes NR a las 12 semanas de tratamiento, mientras que los pacientes con RVS presentan menor edad y menor carga viral que los no-RVS.
2. La TPR media durante todo el tratamiento es de 2,5 µg/ml.
3. En ningún mes durante el tratamiento las TPR se asocian a la RVP ni a la RVS, aunque se observa que los pacientes con RVP y RVS presentan tasas más elevadas.
5. Los pacientes que presentan concentraciones de RBV ≥ 5 µg/ml durante los cuatro primeros meses de tratamiento tienen mayor probabilidad de tener RVS que los pacientes que no presentan dicha elevación.
6. La pérdida de peso y el descenso de los valores de Hb durante el tratamiento, se correlacionan con la presencia de altas concentraciones de RBV pero no con la RVS.
7. Los pacientes con un mayor descenso de Hb ($\geq 25\%$) reciben menos dosis de RBV por Kg de peso mensualmente y tienen mayores TPR durante el tratamiento que los pacientes con menor caída de Hb ($< 25\%$).
9. Tener mayor edad, mayores niveles basales de Hb y altas TPR durante el tratamiento se asocian positivamente con una mayor reducción ($\geq 25\%$) de Hb durante el tratamiento.
10. En el análisis multivariante, la edad del paciente, el nivel de Hb basal, la dosis media de RBV por kilogramo (mg/Kg) durante el tratamiento y la media de TPR durante el tratamiento (µg/ml) son factores independientemente

asociados a un mayor descenso de Hb con respecto la Hb basal.

Por lo tanto podemos concluir que:

Los descensos de Hb inducidos por el tratamiento con RBV se correlacionan negativamente con la dosis/kg de RBV, pero positivamente con las TPR durante el tratamiento. Además, los pacientes que presentan elevadas TPR durante los 4 primeros meses de tratamiento consiguen una mejor respuesta al tratamiento antiviral, pero el hecho de que estas altas tasas se den en un número tan pequeño de pacientes, y que no siempre se produzcan en el mismo momento del tratamiento, hace difícil su monitorización y resta valor a su aplicación en la práctica clínica habitual. Nuestros resultados, contribuyen a afirmar el hecho de que altas TPR conllevan una mejor respuesta al tratamiento antiviral de la HCC, aunque no son necesarias para poder alcanzar la RVS.

Bibliografía

7. BIBLIOGRAFÍA

¹ Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996;334:1685-1690.

² World Health Organization, *Weekly Epidemiological Record* 1997; 72:65-72.

³ Diago M, Luján M, García M^aV. Hepatitis por el VHC: Epidemiología y tratamiento. Actualizaciones temáticas Madaus en gastroenterología. Ed. Glosa. Barcelona 2001.

⁴ Solá R, Cruz de Castro E, Hombrados M, Planas R, Coll S, Jardí R, Sunyer J, Covas MI, Marrugat J. Prevalencia de las hepatitis B y C en distintas comarcas de Cataluña: estudio transversal. *Med Clin (Barc)* 2002; 119:90-95.

⁵ Kim WR. The burden of hepatitis C in the United States. *Hepatology* 1997;36:S30-S34.

⁶ Terrault NA. Sexual activity as a risk factor for hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S99-S105.

⁷ Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepatitis* 2006; 13: 34-41.

⁸ Alter HJ. HCV natural history: the retrospective and prospective en perspective. *J Hepatol.* 2005; 43: 550-2.

⁹ Lauer GM, Walter BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.*2001; 345:41-52.

¹⁰ Pirsopoulos N, Jeffers L. Chronic hepatitis C in African Americans. *Clin Liver Dis.* 2005; 9: 427-438.

¹¹ Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet.*1997; 349: 852-832.

¹² Feld JJ, Liang TJ. Hepatitis C- Identifying patients with progressive liver injury. *Hepatology.* 2006; 43: S194-S206.

¹³ Roudot-Thoraval F, Bastie A, Pawlotsky JM, Dhumeaux D. Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6.664 patients. *Hepatology* 1997;26:485-490.

-
- ¹⁴ Vento S, Garofano T, Renzini C, Cainelli F, Casali F, Ghironzi G, Ferraro T, Concia E. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 338: 286-290.
- ¹⁵ Neyts J, Leyssen P, De Clerq E. Infections with *Flaviviridae*. *Verh K Acad Geneeskd Belg* 1999; 61: 661-97.
- ¹⁶ Major ME, Feinstone SM. The molecular virology of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 25: 1527-30.
- ¹⁷ Penin F, Dubuisson J, Rey FA, Moradpour D, Pawlotsky JM. Structural biology of Hepatitis C virus. *Hepatology* 2004; 39: 5-19.
- ¹⁸ Hijikata M, Kato N, Ootsuyama Y, Nakagawa M, Shimotohno K. Gene mapping of the putative structural region of the hepatitis C virus genome by *in vitro* processing analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 5547-51.
- ¹⁹ García-Retortillo M, Forns X. Variabilidad genómica e historia natural de la infección por el virus de la hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol* 2002; 25 (8): 514-520.
- ²⁰ Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* 1995; 15: 41-63.
- ²¹ Muñoz de Rueda P, Casado J, Patón R, Quintero D, Palacios A, Gila A, Quiles R, León J, Ruiz-Extremera A, Salmerón J. Prospective studies of mutations in the E2-PePHD, NS5A-PKRBD, NS5A-ISDR, and NS5A-V3 of hepatitis C virus genotype 1 and their relationship to peginterferon and ribavirin treatment response. *J Virology* 2008;82(13):6644-6653.
- ²² Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, Izumi N, Marumo F, Sato C. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. *J Clin Invest* 1995; 96:224.
- ²³ 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.
- ²⁴ Sáiz JC, López-Labrador FX, Ampurdanès S, Dopazo J, Forns X, Sánchez-Tapias JM, Rodés J. The prognostic relevance of the nonstructural 5A gene

interferon sensitivity determining region is different in infections with genotype 1b and 3a isolates of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1998; 177: 839-47.

²⁵ Martell M, Gómez J, Esteban JI. Aportaciones de la biología molecular en el estudio del virus de la hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol* 2001; 24 (Supl 1): 1-6.

²⁶ Hoofnagle JH. Course and outcome of Hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36(5) Supl 1: S20-29.

²⁷ Rubbia-Brandt L, Leandro G, Spahr L, Giostra E, Quadri R, Malé PJ, Negro F. Liver steatosis in chronic hepatitis C: a morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3. *Histopathology* 2001; 39: 119- 124.

²⁸ Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000; 132: 296-305.

²⁹ López Labrador FJ. Respuesta inmune celular en la hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol* 2001; 24 (Supl 1): 29-34.

³⁰ Diepolder HM, Zachoval R, Hoffmann RM, Wierenga EA, Santantonio T, Jung MC, Eichenlaub D, Pape GR. Possible mechanism involving T-lymphocyte response to non-structural protein 3 in viral clearance in acute hepatitis C virus infection. *Lancet* 1995; 346: 1006-1007.

³¹ Tsai SL, Liaw YF, Chen MH, Huang CY, Kuo GC. Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology* 1997; 25: 449-458.

³² Gerlach JT, Diepolder HM, Jung MC, Gruener NH, Schraut WW, Zachoval R, Hoffmann R, Schirren CA, Santantonio T, Pape GR. Recurrence of hepatitis C virus after loss of virus-specific CD4+ T-cell response in acute hepatitis C. *Gastroenterology* 1999; 117: 933-941.

³³ 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.

³⁴ Weiner AJ, Brauer MJ, Rosenblatt J, Richman KH, Tung J, Crawford K, Bonino F, Saracco G, Choo QL, Houghton M, et al. Variable and hypervariable domains are found in the regions of HCV corresponding to the flavivirus envelope and NS1 proteins and the pestivirus envelope glycoproteins. *Virology* 1991; 180: 842-8.

- ³⁵ National Institutes of Health Conference. Pathogenesis, Natural History, Treatment and Prevention of Hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000; 132: 296-305.
- ³⁶ Bassett SE, Thomas DL, Brasky KM, Lanford RE. Viral persistence, antibody to E1 and E2, and hypervariable region 1 sequence stability in hepatitis C virus-inoculated chimpanzees. *J Virol* 1999; 73: 1118-26.
- ³⁷ Major ME, Mihalik K, Fernandez J, Seidman J, Kleiner D, Kolykhalov AA, Rice CM, Feinstone SM. Long-term follow-up of chimpanzees inoculated with the first infectious clone for hepatitis C virus. *J Virol* 1999; 73: 3317-25.
- ³⁸ Missale G, Bertoni R, Lamonaca V, Valli A, Massari M, Mori C, Rumi MG, Houghton M, Fiaccadori F, Ferrari C. Different clinical behaviors of acute hepatitis C virus infection are associated with different vigor of the anti-viral cell-mediated immune response. *J Clin Invest* 1996; 98: 706-14.
- ³⁹ National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis C 2002 – June 10-12. *Hepatology* 2002; 36(5) Supl 1: S3-20.
- ⁴⁰ Di Bisceglie AM, Conjeeravaram HS, Fried MW, Sallie R, Park Y, Yurdaydin C, Swain M, Kleiner DE, Mahaney K, Hoofnagle JH. Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. *Ann Intern Med* 1995; 123: 897-903.
- ⁴¹ McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goddman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-92.
- ⁴² Pawlotsky JM, Dari H, Neumann A, Hezode C, Germanidis G, Lonjon I, Castera L, Dhumeaux D. Antiviral action of ribavirin in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2004; 126: 703-714.
- ⁴³ Asahina Y, Izumi N, Enomoto N, Uchihara M, Kurosaki M, Onuki Y, Nishimura Y, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Kitamura T, Miyake S. Mutagenic effects of ribavirin and response to interferon/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2005; 43: 623-629.
- ⁴⁴ Young KC, Lindsay KL, Lee KJ, Liu WC, He JW, Milstein SL, Lai MM. Identification of a ribavirin-resistant NS5B mutation of hepatitis C virus during ribavirin monotherapy. *Hepatology* 2003; 38: 869-878.

-
- ⁴⁵ Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, Perelson AS. Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection. *Nature* 2004; 432: 922-924
- ⁴⁶ Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D and Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit.* 2000; 22(5): 555-65.
- ⁴⁷ Hadziyannis SJ, Sette HJr, 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- α -2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. A randomised study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140: 346-55.
- ⁴⁸ Salmerón J, Ruiz Extremera A, Torres C, Rodríguez Ramos L, Lavín I, Quintero D, Palacios A. Interferon versus ribavirin plus interferon in chronic hepatitis C previously resistant to interferon: a randomized trial. *Liver* 1999; 19: 275-280.
- ⁴⁹ Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman ML, 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 randomized trial. *Lancet* 2001; 358: 958-965.
- ⁵⁰ Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A, Schvarcz R. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 275-279.
- ⁵¹ Jen J, Laughlin M, Chung C, Heft S, Affrime MB, Gupta SK, Glue P, Hajian G. Ribavirin dosing in chronic hepatitis C: application of population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 349-61.
- ⁵² Kitchens CS. Are transfusions overrated? Surgical outcome of Jehovah's Witnesses. *Am J Med* 1993;94:117-9.
- ⁵³ Shiffman M, Di Bisceglie AM, Lindsay KL, Morishima CH, Wright EC, Everson GT, Lok AS, Morgan TR, Bonkovsky HL, Lee WM, Dienstag JL, Ghany MG, Goodman ZD, Everhart JE. Peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology* 2004; 126: 1015-1023.

-
- ⁵⁴ Chang CH, Chen KY, Lai MY, Chan KA. Metaanalysis: ribavirin-induced haemolytic anaemia in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1623-32.
- ⁵⁵ McHutchison JG, Manns M, Patel K, Poynard T, Lindsay KL, Treppe C, Dienstag J, Lee WM, Mak C, Garaud JJ, Albrecht JK. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype 1-infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002; 123:1061-1069.
- ⁵⁶ Martin LM, Sheridan MJ, Younossi ZM. The impact of liver disease on health-related quality of life: a review of the literature. *Curr Gastroenterol Rep.* 2002;4:79-83.
- ⁵⁷ Sulkowski MS, Wasserman R, Brooks L, Ball L, Gish R. Changes in haemoglobin during interferon alpha-2b plus ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat* 2004;11:243-50.
- ⁵⁸ Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçalves FL Jr, Häussinger 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.
- ⁵⁹ Hidetsugu S, Shinichiro T, Hirotoshi E, Hiromasa I, Kazuo K, Masahiko T, Nobuhiro T, Jiro N, Shin T, Hiroshi S, Toshifumi H. Role of Erythrocytes as a reservoir for Ribavirin and Relationship with adverse reactions in the early phase of interferon combination therapy for chronic hepatitis C virus infections. *J Clin Microb* 2006; p.3562-3568.
- ⁶⁰ Maynard M, Gagnieu MC, Pradat P, Souvignet C, Treppe C. Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 during pegylated- interferon / ribavirin combination therapy in HCV patients. *Antivir Ther*, 2008; 13 (4): 607-611.
- ⁶¹ Inoue Y, Homma M, Matsuzaki Y, Shibata M, Matsumura T, Ito T, Kohda Y. Erythrocyte ribavirin concentration for assessing hemoglobin reduction in interferon and ribavirin combination therapy. *Hepatol Res* 2006; 34: 23-27.
- ⁶² Patil SD, Ngo LY, Glue P, Unadkat JD. Intestinal absorption of ribavirin is preferentially mediated by the Na⁺-nucleoside purine (N1) transporter. *Pharm Res* 1998; 15: 950-952.
- ⁶³ 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: 417-421.

-
- ⁶⁴ Homma M, Matsuzaki Y, Inoue Y, Shibata M, Mitamura K, Tanaka N, Kohda Y. Marked elevation of erythrocyte ribavirin levels in interferon and ribavirin-induced anemia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2:337-339.
- ⁶⁵ De Franceschi L, Fattovich G, Turrini F, Ayi K, Brugnara C, Manzato F, Noventa F, Stanzial AM, Solero P, Corrocher R. Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection: role of membrane oxidative damage. *Hepatology* 2000; 31(4): 997-1004.
- ⁶⁶ Lafeuillade A, Hittinger G, Chadapaud S. Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV coinfection. *Lancet* 2001; 357: 280-281.
- ⁶⁷ Valderrábano F. Quality of life benefits of early anaemia treatment. *Nephrolog Dial Transplant* 2000; 15 (Suppl.3):23-8.
- ⁶⁸ Dieterich DT, Wasserman R, Bräu N, Hassanein TI, Bini EJ, Bowers PJ, Sulkowski MS. Once-weekly epoetin alfa improves anemia and facilitates maintenance of ribavirin dosing in hepatitis C virus infected patients receiving ribavirin plus interferon alfa. *Am Gastroentorol.* 2003;98:2491-2499.
- ⁶⁹ Afdhal NH, Dieterich DT, Pockros PJ, Schiff ER, Shiffman ML, Sulkowski MS, Wright T, Younossi Z, Goon BL, Tang KL, Bowers PJ. Epoetin alfa maintains ribavirin dose in HVC-infected patients: a prospective, double blind, randomized controlled study. *Gastroenterology.* 2004;126:1302-1311.
- ⁷⁰ Pockros PJ, Shiffman ML, Schiff ER, Sulkowski MS, Younossi Z, Dieterich DT, Wright TL, Mody SH, Tang KL, Goon BL, Bowers PJ, Leitz G, Afdhal NH. Epoetin alfa improves quality of life in anemic HCV-infected patients receiving combination therapy. *Hepatology.* 2004;40:1450-1458.
- ⁷¹ Lin CC, Philips L, Xu C, Yeh LT. Pharmacokinetics and safety of viramidine, a prodrug of ribavirin, in healthy colunteers. *J Clin Pharmacol* 2004; 44: 265-75.
- ⁷² Gish RG. Treating HCV with ribavirin analogues and ribavirin-like molecules. *JAC* 2006; 57: 8-13.
- ⁷³ Ferenci P, Laferl H, Scherzer TM, Gschwantler M, Maieron A, Brunner H, Stauber R, Bischof M, Bauer B, Datz C, Löschenberger K, Formann E, Stauer K, Steindl-Munda P. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 24 weeks in hepatitis C type 1 and 4 patients with rapid virological response. *Gastroenterology.* 2008;135 (2):451-458.

-
- ⁷⁴ Bronowicki JP, Ouzan D, Asselah T, Desmorat H, Zarski JP, Foucher J, Bourlière M, Renou C, Tran A, Melin P, Hézode C, Chevalier M, Bouvier-Alias M, Chevaliez S, Montestruc F, Lonjon-Domanec I, Pawlotsky JM. Effect of ribavirin in genotype 1 patients with hepatitis C responding to pegylated interferon alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology*. 2006;131:1040-1048.
- ⁷⁵ Shiffman ML, Salvatore J, Hubbard S, Price A, Sterling RK, Stravitz RT, Luketic VA, Sanyal AJ. Treatment of chronic hepatitis C virus genotype 1 with peginterferon , ribavirin, and epoetin alpha. *Hepatology*. 2007;46:371-379.
- ⁷⁶ Bonkovsky HL, Naishadham D, Lambrecht RW, Chung RT, Hoefs JC, Nash SR, Rogers TE, Banner BF, Sterling RK, Donovan JA, Fontana RJ, Di Bisceglie AM, Ghany MG, Morishima C. Roles of iron and HFE mutations on severity and response to therapy during retreatment of advanced chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2006; 131: 1440-51.
- ⁷⁷ Hadziyannis SJ, Cheinquer H, Morgan T, Diago M, Jensen DM, Sette H, et al. Peginterferon alfa-2a (40kD) (PEGASYS) in combination with ribavirin (RBV): efficacy and safety results from a phase III, randomised, double-blind multicentre study examining effect of duration of treatment and RBV dose. *J Hepatol*. 2002; 36 (Suppl 1):3.
- ⁷⁸ Sulkowski M, Lawitz E, Shiffman ML, Muir AJ, Galler G, McCone J. Final results of the IDEAL (Individualized dosing efficacy versus flat dosing to assess optimal pegylated interferon therapy) phase IIIb study. *J Hepatol*. 2008; 48 (Suppl. 2): S370.
- ⁷⁹ Martínez-Bauer E, Forns X. Tratamiento antiviral en la cirrosis hepática por el virus de la hepatitis C. *Gastroenterol Hepatol*. 2003; 26 (5): 303-6.
- ⁸⁰ Shiffman ML, Ghany MG, Morgan TR, Wright EC, Everson GT, Lindsay KL, Lok AS, Bonkovsky HL, Di Bisceglie AM, Lee WM, Dienstag JL, Gretch DR. Impact of reducing peginterferon alfa-2a and ribavirin dose during retreatment in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2007; 132: 103-12.
- ⁸¹ Poynard T, Colombo M, Bruix J, Schiff E, Terg R, Flamm S, Moreno-Otero R, Carrilho F, Schmidt W, Berg T, McGarrity T, Heathcote EJ, Gonçalves F, Diago M, Craxi A, Silva M, Bedossa P, Mukhopadhyay P, Griffel L, Burroughs M, Brass C, Albrecht J. Peginterferon alfa-2b and ribavirin: effective in patients with hepatitis C who failed interferon alfa/ribavirin therapy. *Gastroenterology* 2009; 136 (5): 1618-28.

-
- ⁸² Jensen DM, Marcellin P, Freilich B, Andreone P, Di Bisceglie A, Brandão-Mello CE, Reddy KR, Craxi A, Martin AO, Teuber G, Messinger D, Thommes JA, Tietz A. Re-treatment of patients with chronic hepatitis C who do not respond to peginterferon-alpha2b: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2009; 150 (8): 528-40.
- ⁸³ Sookoian S, Castaño G, Frider B, Cello J, Campos R, Flichman D. Combined therapy with interferon and ribavirin in chronic hepatitis C does not affect serum quasispecies diversity. *Dig Dis Sci* 2001; 46(5): 1067-1071.
- ⁸⁴ Okada S, Akahane Y, Suzuki H, Okamoto H, Mishiro S. The degree of variability in the amino terminal region of the eE2/NS1 protein of hepatitis C virus correlates with responsiveness to interferon therapy in viremic patients. *Hepatology* 1992; 16: 619-624.
- ⁸⁵ Salmerón J, Muñoz De Rueda P, Ruiz-Extremera A, Casado J, Huertas C, Bernal MC, Rodríguez L, Palacios A. Quasispecies as predictive response factors for antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C. *Digest Dis Sci*, 2006. May;51(5):960-7.
- ⁸⁶ Salmerón J, Casado J, Muñoz De Rueda P, Lafuente V, Diago M, Romero-Gómez M, Palacios A, León J, Gila A, Quiles R, Rodríguez L, Ruiz-Extremera A. Quasispecies as predictive factor of rapid, early and sustained virological responses in chronic hepatitis C, genotype 1, treated with peginterferon-ribavirin. *J Clin Virol.* 2008 Apr;41(4):264-9.
- ⁸⁷ Foster GR, Fried MW, Hadziyannis SJ, Messinger D, Freivogel K, Weiland O. Prediction of sustained virological response in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) and ribavirin. *Scand J Gastroenterol.* 2007 Feb;42(2):247-55.
- ⁸⁸ Hepburn MJ, Hepburn LM, Cantu NS, Lapeer MG, Lawitz EJ. Differences in treatment outcome for hepatitis C among ethnic groups. *Am J Med.*2004;117:163-168.
- ⁸⁹ McHutchinson JG, Poynard T, Gordon SC. The impact of race on response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1999; 30: 302A.
- ⁹⁰ 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;350:2.265-2.271.

- ⁹¹ Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;46:399-401.
- ⁹² Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009;41:1105–1109.
- ⁹³ McCarthy JJ, Li JH, Thompson A, Suchindran S, Lao XQ, Patel K, Tillmann HL, Muir AJ, McHutchison JG. Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin. *Gastroenterology*. 2010 Jun;138 (7):2307-1.
- ⁹⁴ Davis GL, Lau JY. Factors predictive of a beneficial response to therapy of hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26 (Suppl 1): S122-S127.
- ⁹⁵ 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: 1607-1610.
- ⁹⁶ Edlin BR. Prevention and treatment of hepatitis C in injection drugs users. *Hepatology* 2002; 36: S210-S219.
- ⁹⁷ Backmund M, Meyer K, Von Zielonka M, Eichenlaub D. Treatment of hepatitis C infection in injection drug users. *Hepatology* 2001;34:188-193.
- ⁹⁸ Sylvestre DL. Treating hepatitis C in methadone maintenance patients: an interim analysis. *Drug Alcohol Depend* 2002;67:117-123.
- ⁹⁹ Broers B, Morabia A, Hirschel B. A cohort study of drug users' compliance with zidovudine treatment. *Arch Intern Med* 1994;154:1121-1127.
- ¹⁰⁰ Harrison K, Vlahov D, Jones K, Charron K, Clements ML. Medical eligibility, comprehension of the consent process, and retention of injection drug users recruited for an HIV vaccine trial. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995;10:386-390.
- ¹⁰¹ Tabone M, Sidoli L, Laudi C, Pellegrino S, Rocca G, Della Monica P, Fracchia M, Galatola G, Molinaro GC, Aricò S, Pera A. Alcohol abstinence does not offset the strong negative effect of lifetime alcohol consumption on the outcome of interferon therapy. *J Viral Hep* 2002; 9(4):288-92.

-
- ¹⁰² Loguercio C, Di Pierro M, Di Marino MP, Federico A, Disalvo D, Crafa E, Tuccillo C, Baldi F, del VecchioBlanco C. Drinking habits of subjects with hepatitis C virus-related chronic liver disease: prevalence and effect on clinical, virological and pathological aspects. *Alcohol Alcohol* 2000;35:296-301.
- ¹⁰³ Ohnishi K, Matsuo S, Matsutani K, Itahashi M, Kakihara K, Suzuki K, Ito S, et al. Interferon therapy for chronic hepatitis C in habitual drinkers: comparison with chronic hepatitis C in infrequent drinkers. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1374-1379.
- ¹⁰⁴ Mochida S, Ohnishi K, Matsuo S, Kakihara K, Fujiwara K. Effect of alcohol intake on the efficacy of interferon therapy in patients with chronic hepatitis C as evaluated by multivariate logistic regression analysis. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20 (9 Suppl): 371A-377A.
- ¹⁰⁵ Sherman KE, Rouster SD, Mendenhall C, Thee D. Hepatitis cRNA quasispecies complexity in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology* 1999;30:265-270.
- ¹⁰⁶ Takahashi K, Takahashi T, Takahashi S, Watanabe K, Boku S, Matsui S, et al. Difference in quasispecies of the hypervariable region 1 of hepatitis C virus between alcoholic and non-alcoholic patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:416-423.
- ¹⁰⁷ Peters MG, Terrault NA. Alcohol Use and Hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S220-S225.
- ¹⁰⁸ 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: 639-644.
- ¹⁰⁹ Tarantino G, Conca P, Sorrentino P, Ariello M. Metabolic factors involved in the therapeutic response of patients with hepatitis C virus-related chronic hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:1.266-1.268.
- ¹¹⁰ Cammà C, Bruno S, Di Marco V, Di Bona D, Rumi M, Vinci M, Rebutti C, Cividini A, Pizzolanti G, Minola E, Mondelli MU, Colombo M, Pinzello G, Craxì A. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2006;43:64-71.
- ¹¹¹ Poynard T, Ratzu V, McHutchison J, Manns M, Goodman Z, Zeuzem S, Younossi Z, Albrecht J. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa 2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology.* 2003;38:75-85.

-
- ¹¹² Hung CH, Kuo FY, Wang JH, Lu SN, Hu TH, Chen CH, Lee CM, Eng HL. Impact of steatosis on long-term histological outcome in chronic hepatitis C after antiviral therapy. *Antivir Ther* 2006;11(4):483-489.
- ¹¹³ Monto A, Alonzo J, Watson JJ, Grunfeld C, Wright TL. Steatosis in chronic hepatitis C: relative contributions of obesity, diabetes mellitus and alcohol. *Hepatology* 2002; 36: 729-36.
- ¹¹⁴ Patton HM, Patel K, Vallee M, Behling C, Bylund D, Pockross PJ. Steatosis influences the early virological response rate in patients with chronic hepatitis C infection. *Gastroenterology* 2003; 124: 232.
- ¹¹⁵ Caballero T, Pérez-Milena A, Masseroli M, O'Valle F, Salmerón FJ, Del Moral RM, Sánchez-Salgado G. Liver fibrosis assessment with semiquantitative indexes and image analysis quantification in sustained-responder and non-responder interferon-treated patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2001;34:740-747.
- ¹¹⁶ McHutchison JG, Manns MP, Brown RS Jr, Reddy KR, Shiffman ML, Wong JB. Strategies for managing anemia in hepatitis C patients undergoing antiviral therapy. *Am J Gastroenterol* 2007;102(4):880-9.
- ¹¹⁷ Núñez M, Ocampo A, Aguirrebengoa K, Cervantes M, Pascual A, Echeverria S, Asensi V, Barreiro P, Garcia-Samaniego J, Soriano V. Incidence of anaemia and impact on sustained virological response in HIV/HCV-coinfected patients treated with pegylated interferon plus ribavirin. *J Viral Hepat* 2008;15:363-369.
- ¹¹⁸ Hung CH, Lee CM, Lu SN, Wang JH, Chen CH, Hu TH, Kee KM, Chang KC, Tseng PL, Yen YH, Changchien CS. Anemia associated with antiviral therapy in chronic hepatitis C: incidence, risk factors and impact on treatment response. *Liver International* 2006;26: 1079-1086.
- ¹¹⁹ Lindahl K, Schvarcz R, Bruchfeld A, Stahle L. Evidence that plasma concentration rather than dose per kilogram body weight predicts ribavirin-induced anemia. *J Viral Hepat* 2004; 11:84-87.
- ¹²⁰ Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A, Schvarcz R. High-Dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic Hepatitis C. *Hepatology* 2005;41(2):275-279.

-
- ¹²¹ Nomura H, Tanimoto H, Kajiwara E, Shimono J, Maruyama T, Yamashita N, Nagano M, Higashi M, Mukai T, Matsui Y, Hayashi J, Kashiwagi S, Ishibashi H. Factors contributing to ribavirin-induced anemia. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:1312-7.
- ¹²² Sulkowski MS, Shiffman ML, Afdhal N, Reddy R, McCone J, Lee WM, Herrine SK, Harrison S, Deng W, Brass CA, Koury K, Noviello S, Albrecht JK, McHutchison JG. Hemoglobin decline is associated with SVR among HCV genotype 1-infected persons treated with pegInterferon (PEG)/Ribavirin (RBV): Analysis from the ideal study. *J Hepatol* 2009;50(S1): S15.
- ¹²³ Loustaud-Ratti V, Alain S, Rousseau A, Hubert IF, Sauvage FL, Marquet P, Denis F, Lunel F, Calès 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(5):1453-61.
- ¹²⁴ Jen J, Laughlin M, Chung C, Heft S, Affrime MB, Gupta SK, Glue P, Hajian G. Ribavirin dosing in chronic hepatitis C: application of population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacol Ther* 2002;72:349-361.
- ¹²⁵ 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;22:555-565.
- ¹²⁶ Morello J, Rodríguez-Novoa S, Jiménez-Nácher I, Soriano V. Usefulness of monitoring ribavirin plasma concentrations to improve treatment response in patients with chronic hepatitis C. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:1174-1180.
- ¹²⁷ Morello J, Soriano V, Barreiro P, Medrano J, Madejon A, Gonzalez-Pardo G, Jimenez-Nacher I, Gonzalez-Lahoz J, Rodríguez-Novoa S. Plasma Ribavirin Trough Concentrations at Week 4 Predict Hepatitis C Virus (HCV) Relapse in HIV-HCV-Coinfected Patients Treated for Chronic Hepatitis C. *Anti Agents Chem* 2010; 1647-1649.