

Avances en el diagnóstico de la fibrosis hepática, manejo y tratamiento de la hepatitis crónica por el virus de la hepatitis C en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana.

María Larrousse Morellón

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Tesis Doctoral

*Avances en el diagnóstico de la
fibrosis hepática, manejo y
tratamiento de la hepatitis crónica
por el virus de la hepatitis C en
pacientes infectados por el virus de
la inmunodeficiencia humana.*

María Larrousse Morellón

Departamento de Medicina.
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona
Barcelona, 2009

El Dr. Josep Mallolas Masferrer, doctor, profesor asociado del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona y consultor del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínic de Barcelona y la **Dra. Montserrat Laguno Centeno** doctora y médico especialista del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Clínic de Barcelona.

CERTIFICA:

Que la tesis titulada: **Avances en el diagnóstico no invasivo de la fibrosis hepática, manejo y tratamiento de la hepatitis crónica por el virus de la hepatitis C en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana**” ha sido realizada por **María Larrousse Morellón** y dirigida por los que suscriben, siendo apta para ser defendida ante el Tribunal correspondiente, para optar al grado de Doctor.

Dra. Montserrat Laguno Centeno

Dr. Josep Mallolas Masferrer

Presentación:

La presente Tesis doctoral se ha estructurado siguiendo la Normativa Interna de la Universidad de Barcelona para la presentación de Tesis doctorales como compendio de publicaciones, aprobada por la Comisión de Doctorado de dicha Universidad, en Julio del 2008.

Los trabajos que conforman esta Tesis doctoral pertenecen a una misma línea de investigación, enmarcada en el estudio de la hepatopatía crónica por el virus de la hepatitis C en los pacientes coinfectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Los resultados de dichos trabajos han aportado información relevante y novedosa en este campo, y han sido recogidos en 5 artículos originales publicados en revistas de amplia difusión internacional con un factor de impacto global de 26,4.

Quiero dedicar esta tesis:

A mis padres por creer en mí y por amarse de forma incondicional.

A Chema, mi equilibrio. De corazón generoso y alma creativa.

Agradecimientos:

A todos los miembros de mi segunda familia del Hospital de Día de Infecciones del Hospital Clínic, con vosotros he crecido y es aquí, con vosotros, donde me he reconciliado con la medicina más humanitaria, donde el paciente es persona.

Quería agradecer de forma especial a Montse Laguno su ayuda inestimable y por compartir la vida cotidiana: dudas, alegrías, investigación y alguna pena. Gracias por estar siempre cerca.

También quería agradecer a Esteban Martínez y a Pep Mallotas su amistad y su ayuda inestimable.

A todos mis compañeros y adjuntos de residencia con los que he compartido sala, guardias y pacientes, con los que me he formado como médico. Especialmente quiero nombrar a Alex de la Sierra, que además de apoyarme en todo momento, me inculcó la curiosidad por la investigación.

A mis pacientes por depositar su confianza en mí y permitirme ser su médico durante estos últimos 6 años, y especialmente a aquellos que de forma incondicional y altruista aceptaron participar en un ensayo clínico con el fin de avanzar en el conocimiento de su enfermedad.

A los compañeros de otros servicios que han hecho posible este trabajo, al Dr. Pumarola y al Dr. Costa del servicio de microbiología, al servicio de inmunología y bioquímica, especialmente al Dr. Deulofeu y a Elisa De Lazzari, de estadística.

A mi amiga bióloga, Marta Segarra con la que me asomé al abismo de la ciencia básica.

A mi hermanita Cata, su amistad incondicional me hace ser mejor. A los amigos del alma, con los que comparto el camino: Eva Herrero, Juan Vinzo, Mariana

*Noguero, Carmen Rey, Lidia Gallego, Marisol Muñoz, Judit Alsina, Alfons, Tamara,
Javier y Willin.*

A toda mi familia, en especial a mi hermano al que tanto admiro.

A las joyas de la familia Edu e Irene.

A Chemita mi ilusión, mi risa.

Índice:

ABREVIATURAS.....	11
ARTICULOS INCLUIDOS EN LA TESIS.....	13
RESUMEN DE LOS ARTICULOS.....	15
1.- INTRODUCCIÓN.....	29
2.- FUNDAMENTOS.....	31
2.1. Enfermedad de la coinfección de VIH- VHC.....	31
2.1.1. Impacto de la enfermedad hepática en los pacientes coinfectados por el VIH- VHC	
2.1.2. Historia natural de la infección por el VHC- VIH	
2.2. Factores de progresión de la fibrosis hepática	32
2.3. Historia natural de la cirrosis hepática en pacientes coinfectados.....	37
2.3.1. Trasplante hepático en el paciente coinfectado	
2.3.2. Tratamiento antirretroviral en el paciente cirrótico	
2.4. Mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática.....	41
2.5. Detección del grado de fibrosis hepática.....	44
2.5.1. Biopsia hepática	
2.5.2. Marcadores no invasivos	
2.6. Tratamiento de la hepatitis crónica por el VHC.....	52
2.6.1. Monitorización del tratamiento.....	55
2.6.2. Cinética viral del VHC.....	57
2.6.3. Fármacos para tratar la VHC.....	59
2.6.4. Tratamiento de la VHC en pacientes coinfectados.....	62

2.6.5. Efectos secundarios del tratamiento de la VHC.....	63
3.- OBJETIVOS	67
4.- PUBLICACIONES.....	70
Artículo 1: <i>Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients.</i> JAIDS. 2007; 46:304-311.	
Artículo 2: <i>Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients.</i> AIDS. 2004;18:27-36.	
Artículo 3: <i>Predictive Value of Early Virologic Response in HIV/Hepatitis C Virus-Coinfected Patients Treated With an Interferon-Based Regimen Plus ribavirin.</i> JAIDS. 2007;44:174-178	
Artículo 4: <i>Randomized trial comparing pegylated interferon alpha-2b versus pegylated interferon alpha-2a, both plus ribavirin, to treat chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus patients.</i> Hepatology. 2009;49:22-31	
Artículo 5: <i>Pharmacokinetics of Fosamprenavir plus Ritonavir in HIV-1-infected adult Subjects with Hepatic Impairment.</i> Antimicrob. Agents Chemother. 2009; 53:5185-5196.	

5.- DISCUSIÓN.....	64
5.1. Marcadores serológicos para predecir el grado de fibrosis hepática	
5.2. Tratamiento del VHC en pacientes coinfectados por el VIH-1. Terapia con PEG-INF+RBV comparado con INF+ RBV.	
5.3. Monitorización del tratamiento de la infección crónica por el VHC.	
5.4. Ensayo clínico comparativo de los 2 interferones pegilados comercializados combinados con Ribavirina en pacientes coinfectados por el VIH- VHC.	
5.5. Farmacocinética de fosamprenavir en pacientes con insuficiencia hepática.	
6.- CONCLUSIONES	84
7.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
8.-APENDICE.....	105
Artículos originales relacionados con la tesis no incluidos.	

Abreviaturas utilizadas:

ABC	Área bajo la curva
ABC _(0-τ)	Área bajo la curva concentración plasmática frente a tiempo durante un intervalo de administración (τ) en estado estacionario
ADVP	Adicción a drogas por vía parenteral
ALT	Alaninaminotransferasa
ARN	Acido aminoribonucleico
AST	Aspartatoaminotrasferasa
BID	Dos veces al día
CD4	Linfocitos T con marcadores de membrana CD4
C _τ	Concentración al final de un intervalo de administración (τ) en el estado estacionario
C _{max}	Concentración máxima
C _{min}	Concentración mínima
CV	Carga viral
HA	Acido Hialurónico
HCC	Hepatitis crónica por el virus C
IC	Intervalo de confianza
INF	Interferón
IP	Inhibidor de la proteasa
ITIAN	Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos
ITINN	Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos
MEC	Matriz extracelular
MMPs	Metaloproteinasas

MMP -1	Metaloproteinasa 1
MMP -2	Metaloproteinasa 2
OR	Odds ratio
INF-PEG	Interferón pegilado
PIIINP	Péptido amino-terminal del procolágeno III
RBV	Ribavirina
RVP	Respuesta virológica precoz
RVR	Respuesta virológica rápida
RVS	Respuesta virológica sostenida
SIDA	Síndrome de la inmunodeficiencia adquirida
TAR	Tratamiento antirretroviral
TARGA	Tratamiento antirretroviral de gran actividad
TIMP-1	Inhibidor de las metaloproteasas tipo 1
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de la hepatitis C
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo

Artículos incluidos:

Artículo 1:

Larrousse M, Laguno M, Segarra M, De Lazzari E, Martínez E, Blanco JL, León A, Murillas J, Deulofeu R, Miquel R, Milinkovic A, Biglia A, Loncá M, Gatell JM^a; Mallolas J.

Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients.

JAIDS 2007; 46:304-311. Impact factor: 4,57

Artículo 2:

Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martínez E, Miquel R, Sánchez-Tapias JM, Bargallo X, García-Criado A, de Lazzari E, **Larrousse M**, León A, Loncá M, Milinkovic A, Gatell JM, Mallolas J.

Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients.

AIDS. 2004;18:27-36. Impact factor: 5,46

Artículo 3:

Laguno M, **Larrousse M**, Murillas J, Blanco JL, León A, Milinkovic A, Lonca M, Martínez E, Sánchez-Tapias JM, de Lazzari E, Gatell JM, Costa J, Mallolas J.

Predictive Value of Early Virologic Response in HIV/Hepatitis C Virus–Coinfected Patients Treated With an Interferon-Based Regimen Plus Ribavirin.

JAIDS 2007;44:174-178. Impact factor: 4,57

Artículo 4:

Laguno M, Cifuentes C, Murillas J, Veloso S, **Larrousse M**, Payeras A, Bonet L, Vidal F, Milinkovic A, Bassa A, Villalonga C, Pérez I, Tural C, Martínez-Rebollar M, Calvo M, Blanco JL, Martínez E, Sánchez-Tapias JM, Gatell JM, Mallolas J.

Randomized trial comparing pegylated interferon alpha-2b versus pegylated interferon alpha-2a, both plus ribavirin, to treat chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus patients.

Hepatology. 2009;49:22-31. Impact factor: 7,06

Artículo 5:

Perez-Elias MJ, **Larrousse M**, Ortega E, Hernandez-Quero J, Rodriguez-Torres M, Clotet B, Felizarta F, Gutiérrez J, Pineda JA, Nichols G, Lou Y, Wire MB.

Pharmacokinetics of Fosamprenavir plus Ritonavir in HIV-1-infected Adult Subjects with Hepatic Impairment.

Antimicrob. Agents Chemother. 2009;53:5185-96. Impact factor: 4.72

* *Journal Citation Report Science Edition 2008*

RESUMEN

1. Marcadores no invasivos de fibrosis hepática en pacientes infectados por el VIH y VHC.

Artículo 1: *Noninvasive Diagnosis of Hepatic Fibrosis in HIV/HCV-Coinfected Patients.* JAIDS 2007; 46:304-311.

La lesión más característica de la hepatopatía crónica es la fibrosis hepática. La fibrosis hepática es un proceso dinámico y complejo como consecuencia de un desequilibrio entre la formación de matriz extracelular (MEC) y los factores que regulan la degradación de los componentes de la MEC, en respuesta a agresiones crónicas de intensidad suficiente para conducir a este proceso de cicatrización.

Actualmente la prueba de elección para determinar el grado de fibrosis hepática es la biopsia, sin embargo tiene importantes limitaciones. Es un prueba invasiva, no exenta de complicaciones, además de ser un proceso con un coste económico elevado. Desde el punto de vista del poder diagnóstico la biopsia hepática tiene serias limitaciones. El principal inconveniente es que la muestra sea representativa del grado de fibrosis del paciente. La fibrosis hepática es un proceso muy heterogéneo, y puede llevar a diagnósticos infravalorados, por la escasa representatividad de la muestra obtenida.

Por todas estas razones la comunidad científica ha realizado numerosos esfuerzos en encontrar una prueba sencilla, no invasiva, fiable, económica y representativa del grado de fibrosis hepática.

Se han realizado numerosos estudios con marcadores serológicos directos e indirectos de fibrosis hepática en pacientes monoinfectados por el VHC. Sin embargo, este campo esta muy poco explorado en el paciente coinfectado por el VIH- VHC.

Por todas estas razones se diseñó un estudio para determinar que marcadores no invasivos de fibrosis hepática predecían mejor el grado de fibrosis hepática en el paciente coinfectado con VHC –VIH. Se incluyeron 119 pacientes coinfectados a los que se les realizó una biopsia hepática antes de realizar el tratamiento de la VHC. Los pacientes cumplían los siguientes criterios: presentar una hepatopatía C crónica no tratada previamente, con ARN del VHC detectable y con alaninaminotransferasa (ALAT) por encima 1,5 el límite normal superior. Los pacientes se encontraban en tratamiento antiretroviral con cargas virales indetectables, menor 200 copias /ml.

De los pacientes incluidos, el 66% fueron varones y el 77% tenían antecedentes de consumo de drogas por vía endovenosa. Un tercio de los pacientes tenían un grado de fibrosis con puentes o cirrosis, y en 52% de los pacientes tenían un grado de fibrosis F2 o superior. Los genotipos más frecuentes en nuestro estudio fueron el genotipo 1 con 56%, seguido del genotipo 3 con 29 % de los pacientes.

Los marcadores evaluados se correlacionaron de forma significativa con el grado de fibrosis, así los niveles serológicos de TIMP-1 ($r = 0.6$; $p < 0.001$), cociente TIMP-1/MMP-1 ($r = 0.5$; $p < 0.001$), cociente TIMP-1/MMP-2 ($r = 0.3$; $p < 0.001$), MMP-2 ($r = 0.2$; $p = 0.044$), PIIINP ($r = 0.4$; $p < 0.001$), y HA ($r = 0.5$; $p < 0.001$) se relacionaron de forma directa con el grado de fibrosis diagnosticado por biopsia hepática.

El análisis multivariado que se realizó con la inclusión de variables diversas, tanto del huésped, como de los factores epidemiológicos, factores determinantes de ambos virus y los marcadores serológicos directos e indirectos de fibrosis hepática se detectó que las variables que se asociaron de forma independiente con el grado de fibrosis fue el TIMP-1 (odds ratio [OR] = 1.004, 95% con intervalo de confianza [IC]: 1.002 - 1.006, $P = 0.001$) y el HA 0.95 mg/dL (OR = 6.041, 95% IC: 1.184 - 30.816, $P = 0.031$).

El área bajo la curva ROC para discriminar fibrosis leve (F0–F1) versus fibrosis significativa (F2–F4) fue de 0.84 , utilizando los niveles serológicos de TIMP-1 (ng/ml) y la categorización de HA (>0.95 mgr /dL), con una sensibilidad del 72,9% y una especificidad del 83,1%. Cuando se comparó con los otros modelos matemáticos ya publicados como el índice de APRI (el ABC en estos pacientes fue 0.71), el índice Forns (el ABC fue 0.67) y el score SHASTA (el ABC en estos pacientes fue 0.79). Nuestro modelo matemático fue claramente superior y estadísticamente diferente con otros estudios que pudimos comparar, presentando una mejor discriminación del grado de fibrosis hepática mediante la realización de marcadores no serológicos.

Sin embargo este estudio tiene limitaciones, tiene un tamaño de muestra pequeño y no tiene una validación externa que confirme estos resultados.

2. Estudio clínico que compara dos estrategias de tratamiento de la hepatopatía por VHC con Peginterferon alfa-2b con ribavirina comparada con interferon alfa-2b con ribavirina en pacientes coinfectados por el VIH y el VHC.

Artículo 2: *Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients.* AIDS. 2004;18(13):27-36.

Desde su descubrimiento en 1989, el tratamiento de la infección crónica por el VHC se basó en la monoterapia con interferón alfa (INF). En 1994 se añadió a la terapia con interferón la ribavirina (RBV) constituyendo esta combinación la terapia estándar. En los últimos años se ha incorporado al tratamiento de la hepatitis crónica C el interferón pegilado alfa (INF-PEG) que, administrado semanalmente, mantiene su actividad terapéutica de forma continuada.

Resultados preliminares prometedores de la terapia con INF-PEG propiciaron el diseño de diferentes estudios multicéntricos muy amplios en pacientes mono infectados, en los que se pretendía estudiar la respuesta a varias combinaciones INF-PEG y RBV. Del mismo modo, en nuestro servicio, se planteó la realización de un ensayo clínico con tal de evaluar la eficacia de esta nueva terapia en la población coinfectada.

Se diseñó un estudio prospectivo, unicéntrico, abierto y aleatorizado en el que se incluyeron 95 pacientes coinfectados por el VIH-1 y el VHC. Los pacientes incluidos debían cumplir los siguientes criterios: presentar una hepatopatía C crónica no tratada previamente con alaninaminotransferasa (ALAT) por encima 1,5 el límite normal superior y alteraciones histológicas en la biopsia del hígado; en cuanto a su VIH, un buen control de la infección con una carga viral baja o indetectable y un recuento de células CD4+ superior a 250 cels/mm³ y por último no tener contraindicaciones para realizar el tratamiento. Los pacientes fueron asignados aleatoriamente a dos ramas de tratamiento: 43 en la rama de INF, con una dosificación de 3 x 10 MUI tres veces por semana, y 52 en la rama de INF-PEG 2b, con una dosificación de 100-150 microg/sem en función del peso, más RBV en ambas ramas, dosificada entre 800-1200 mg/día en función del peso. La duración del tratamiento fue de 48 semanas para todos los pacientes excepto de 24 semanas para los pacientes infectados por genotipo 2 ó 3 del VHC y un ARN-VHC basal inferior a 800.000 UI/ml.

De los pacientes incluidos, el 68% fueron varones y el 82% tenían antecedentes de consumo de drogas por vía endovenosa. En cuanto a la distribución por genotipos del VHC, el 63% de los pacientes presentaban un genotipo 1 ó 4 y el

36% un genotipo 2 ó 3. El 62% de los individuos en tratamiento presentaron un índice de fibrosis igual o superior a 2 y el 30% fibrosis avanzada o cirrosis en la biopsia.

En el análisis global de respuesta al tratamiento, el 34% de los pacientes alcanzaron la respuesta virológica sostenida (RVS). El INF-PEG 2b asociado a RBV resultó ser considerablemente más eficaz que la pauta clásica; una RVS del 44% para la rama de INF-PEG comparada con un 21% para la de INF ($p=0.017$). En concordancia con los datos publicados en la literatura, el índice de RVS fue más bajo que el obtenido en los pacientes monoinfectados para el VHC y tratados con la misma pauta. En los pacientes con genotipos 1 ó 4, la RVS fue del 38% para los pacientes tratados con INF-PEG contra el 7% en la rama de INF ($P = 0,007$) y del 53% contra el 47% ($P = 0,730$) para los genotipos 2 ó 3.

El recuento total de células CD4 disminuyó durante el tratamiento en ambos brazos, no así su valor en porcentaje ni se modificó el valor del ARN-VIH con lo que no se observó ningún efecto deletéreo sobre el control del VIH.

En el análisis multivariado que se realizó para estudiar los factores relacionados con la respuesta; el genotipo 2 ó 3 ($p=0.006$), la terapia basada en INF-PEG ($p=0.025$) y la modificación de la dosis de drogas asignadas se presentaron como predictores independientes de RVS. A diferencia de lo que otros autores han descrito, en nuestro trabajo, y posiblemente debido al número relativamente pequeño de pacientes incluidos en la serie, la RVS no se asoció con el valor de ARN del VHC basal ni con el grado de fibrosis hepática.

En el momento de la publicación de este trabajo, se comunicaron tres estudios multicéntricos que evaluaron la terapia combinada de INF-PEG y RBV en el paciente coinfectado. Aunque existen diferencias en el diseño y en la población incluida en cada uno de ellos, todos concluyeron que la respuesta es significativamente mayor en

los pacientes tratados con INF-PEG y RBV (RVS:27- 44%) que en aquellos tratados con INF convencional y RBV (RVS: 12-21%) y que esta respuesta es inferior a la observada en los pacientes sin infección por el VIH; probablemente en relación con una peor tolerancia, mayor grado de fibrosis, menor adherencia y posibles interacciones farmacológicas.

3. Valor predictivo de la RVP en pacientes coinfectados por VIH y VHC tratados con un régimen basado un interferon y ribavirina.

Artículo 3: Predictive Value of Early Virologic Response in HIV/Hepatitis C Virus–Coinfected Patients Treated With an Interferon-Based Regimen Plus Ribavirin. JAIDS 2007;44:174-178.

Actualmente ya está demostrado que el tratamiento de elección y más efectivo en estos momentos para tratar la infección por VHC es el INF-PEG y RBV. Sin embargo, el tratamiento tiene frecuentes y molestos efectos secundarios, es un tratamiento prolongado y la eficacia global de éxito es de un 44%, en nuestra serie de pacientes tratados con INF-PEG 2b . Por tanto es de vital importancia determinar si el paciente va a obtener una RVS al final del tratamiento. Se han evaluado en diversos estudios los posibles factores predictivos de la RVS. Por ejemplo, el sexo femenino, una edad menor de 40 años, o datos relacionados con las características del VHC, como son el genotipo 2 o 3 y una carga viral baja del ARN -VHC (<800.000UI/ml). Asimismo, algunos autores han analizado posibles marcadores precoces para predecir la RVS, como es la reducción de >2 log del ARN del VHC en plasma en la semana 12 de tratamiento que se denomina la respuesta viral precoz (RVP).

Aunque existen resultados discordantes, parece ser que el aclaramiento del ARN del VHC se produce más lentamente en pacientes coinfectados por el VIH y VHC,

con un menor descenso de la carga viral en los primeros meses respecto a los pacientes monoinfectados. Por esta razón se analizó la RVP en la misma cohorte de 95 pacientes del anterior estudio.

Se definió como eficacia del tratamiento cuando el ARN del VHC era indetectable en el suero, 24 semanas después de finalizar el tratamiento farmacológico (RVS) mediante un análisis por intención de tratar. La RVP se definió como un descenso del ARN de más de 2 logaritmos respecto a la basal en la semana 12 de tratamiento y la RVR se definió como ARN indetectable (< 50 copias /ml) en la semana 4 de tratamiento. El valor predictivo positivo (VPP) se definió como la probabilidad de que se produjera una RVS en los pacientes que presentaban una RVP, por el contrario el VPN se definió como la ausencia de RVS en aquellos pacientes que no consiguieran una RVP.

En el estudio se pudieron evaluar 80 pacientes que completaron al menos las 12 semanas de tratamiento. En 55 pacientes (69%) se observó una reducción de 2 log del ARN del VHC en plasma en la semana 12 del tratamiento. Como es de suponer, la RVP fue significativamente mayor en los pacientes tratados con PEG- INF que los que recibieron IFN (80% frente al 56%; $P=0,003$).

El VPP total de la RVS en los sujetos que presentaron RVP fue del 64%. Si los resultados se presentan en función del INF utilizado, el VPP de la RVP fue del 70% en el INF- PEG respecto a solo el 55% en el tratamiento con INF. En cambio no se alcanzó la RVS en ninguno de los pacientes tratados con cualquiera de los interferones que no presentó una reducción del ARN por debajo de 2 logaritmos en la semana 12 (VPN 100%). Diecinueve pacientes alcanzaron en la semana 4, la indetectabilidad del ARN del VHC. El VPP global alcanzado con la RVR fue del 89% y el VPN del

70%. Pero si evaluamos el VPP de la repuesta viral rápida en los pacientes con INF-PEG era del 100%, respecto al régimen basado en INF que fue del 67%.

Estos resultados permiten predecir la respuesta del tratamiento para la VHC en pacientes coinfectados, y tomar decisiones en consecuencia. Al igual que los estudios en monoinfectados y los pocos datos disponibles sobre poblaciones coinfectados no hubo en nuestro estudio ningún paciente que consiguiera una RVS en ausencia de una RVP, es decir el VPN 100%. A la vista de los efectos adversos que tiene el tratamiento, los costes económicos si no se ha conseguido una RVP, se podría parar el tratamiento en la semana 12.

También cabe destacar que el grupo de pacientes con una mejor tasa de respuesta virológica, que son los tratados con INF-PEG, presentan un alto VPP relacionado con la RVP, que llega ser del 70%, incluso en los pacientes con genotipo 1 o 4. Estos datos son muy importantes de cara a motivar al paciente a continuar un tratamiento con tantos efectos secundarios y tan prolongados en el tiempo.

4. Estudio clínico randomizado que compara dos estrategias de tratamiento con interferón pegilado alfa 2a versus interferon pegilado alfa 2b junto con Ribavirina en ambos grupos en pacientes coinfectados por el VIH y VHC.

Artículo 4: Randomized trial comparing pegylated interferon alpha-2b versus pegylated interferon alpha-2a, both plus ribavirin, to treat chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus patients. Hepatology 2009;49:22-31.

Las diferencias entre ambos INF- PEG, con sus diferencias farmacocinéticas, podrían condicionar una mejor eficacia del tratamiento o desarrollar una mayor toxicidad. Hasta el momento del diseño de este estudio, no había ningún ensayo previo que comparara de manera randomizada y prospectiva ambos interferones. Por

este motivo se diseñó un estudio randomizado, abierto, multicéntrico en el que participaron 5 hospitales de Cataluña y Baleares a recibir 1:1, INF-PEG 2a (Pegasys® , Roche) o INF-PEG 2b (PEG-introm®, Shering-Plougt), ambos grupos tratados con RBV ajustada al peso del paciente. El tratamiento se suspendía en todos aquellos que en la semana 24 la carga viral del VHC no se encontraba indetectable mediante una prueba cualitativa (con una sensibilidad de 30 IU/ml). En este estudio se incluyeron 182 pacientes de los cuales, una gran proporción eran varones (72,5%) con una edad media de 41 años y 22 años de media de la infección por VHC. En cuanto a la distribución de los genotipos, el más frecuente fue el genotipo 1 (45%), seguido del genotipo 3 (33,9%) y el 55% de los pacientes tenían cargas virales del VHC elevadas (ARN > 800.000 UI/ml). El 68% de los pacientes tenían un grado de fibrosis 2 o superior y el 31% de los pacientes tenían un grado de fibrosis 4 en la biopsia hepática. La población del estudio está adecuadamente balanceada entre ambas ramas de tratamiento. En cuanto al objetivo primario del estudio donde se valora la eficacia de los INF-PEG, las tasas de RVS analizadas por intención de tratar se alcanzó en el 46% de los pacientes randomizados a INF-PEG 2a y en el 42% de los pacientes tratados con INF-PEG 2b, sin obtener diferencias significativas entre ambos grupos ($p=0.65$). Tampoco se obtuvieron diferencias en función del genotipo.

La RVP se obtuvo en el 70% de los pacientes en la rama de INF-PEG 2b y del 80% en el INF-PEG 2a, con un VPP del 64% de la RVP en alcanzar la RVS y un VPN del 100%.

En cuanto a la tolerancia, el 18% de los pacientes abandonaron el estudio, el 10% por toxicidad sin diferencias significativas entre ambas ramas de tratamiento. Prácticamente la totalidad de los pacientes experimentaron algún efecto secundario, fundamentalmente el síndrome gripal producido por el INF-PEG. Aproximadamente

la mitad de los pacientes requirieron disminución de las dosis o tratamiento coadyuvante para tratar los efectos adversos. El tratamiento se basaba fundamentalmente en tratamiento antidepresivo y/o factores estimuladores hematopoyéticos.

En cuanto a la toxicidad hematológica, el 42% desarrollaron leucopenia que se definió como menos de 2500 leucocitos/ml, y el 38% de los pacientes presentaron trombocitopenia que se catalogaban cuando los pacientes durante el tratamiento disminuían de 125.000 plaquetas/ml. La leucopenia fue más frecuente en la rama INF-PEG 2a (52%) versus el grupo tratado con INF-PEG 2b (30%) y también la trombocitopenia fue significativamente más frecuente en la rama de INF-PEG 2a con un 48% versus 27% en la rama de INF-PEG 2b. Se desconoce la posible implicación que tienen estos efectos secundarios y si realmente tiene trascendencia clínica.

En otros estudios que han comparado los dos INF-PEG, aunque sin ser randomizados, también han detectado mayor toxicidad hematológica en los pacientes tratados con INF-PEG 2a.

Los resultados del ensayo clínico IDEAL realizado en 3000 pacientes mono infectados, con genotipo 1, confirman los resultados de nuestro estudio, sin encontrar diferencias en la eficacia de dos INF-PEG, consiguiendo con RVS del 40% en el grupo tratado con INF-PEG 2a 1 mg/kg versus una RVS del 41% para INF-PEG 2b 1,5mg/Kg. Destaca en este estudio que los pacientes tratados con INF-PEG 2a tenían una mayor respuesta al final del tratamiento (del 64% versus 53%), pero también tenían más recaídas, ofreciendo igual tasa de RVS.

Este estudio es el primer ensayo randomizado que compara los dos INF-PEG en pacientes coinfectados por el VIH- VHC. En conclusión, en este trabajo no se obtuvieron diferencias en la eficacia ni la tolerancia entre ambos INF-PEG.

5. Estudio de farmacocinética de fase I con fosamprenavir y ritonavir en pacientes infectados por el VIH con disfunción hepática.

Artículo 5: *Pharmacokinetics of Fosamprenavir plus Ritonavir in HIV-1-infected Adult Subjects with Hepatic Impairment.* Antimicrob. Agents Chemother. 2009;53:5185-96.

La insuficiencia hepática altera la disposición y exposición de los fármacos administrados por diferentes mecanismos; alteración en la actividad metabólica de los hepatocitos, excreción biliar inadecuada, alteración del flujo hepático y disminución de las proteínas que se unen a los fármacos.

En relación al tratamiento con inhibidores de la proteasa, los pacientes con deterioro del funcionalismo hepático, presentan una disminución del aclaramiento plasmático de estos fármacos, provocado por un enlentecimiento del metabolismo con un incremento en la exposición a los mismos. En la actualidad hay pocos datos farmacocinéticos del tratamiento antirretroviral realizados en pacientes con alteraciones del funcionalismo hepático. Hasta hace poco, amprenavir no potenciado era el único IP indicado para el paciente con insuficiencia hepática severa.

Por esta razón se diseñó un estudio en fase I, abierto, multicéntrico, randomizado de dos semanas de duración, en grupos paralelos para evaluar la farmacocinética de fosamprenavir (FPV) potenciado con ritonavir (RIT) en plasma en adultos infectados por VIH-1 con insuficiencia hepática leve, moderada o severa que reciben FPV junto con RIT en comparación con sujetos control de idénticas características con función hepática normal. En función del grado de insuficiencia hepática definida por la clasificación de Child-Pugh se clasificaron a tomar el siguiente tratamiento. En el grupo con insuficiencia hepática moderada se aleatorizaron 1:1 al grupo B o grupo C, tal y como se describe en la Tabla 1.

Tabla 1: Diseño del estudio. Grupos de tratamiento en función del grado de insuficiencia hepática.

GRUPO	Estado de la función hepática	Pauta de administración
A	Insuficiencia hepática leve	FPV 700mg BID + RIT 100mg QD*
B	Insuficiencia hepática moderada	FPV 300mg* BID + RIT 100mg QD
C	Insuficiencia hepática moderada	FPV 700mg QD* + RIT 100mg QD*
D	Función hepática normal	FPV 700mg BID + RIT 100mg BID
	Insuficiencia hepática severa	FPV 300mg* BID + RIT 100mg QD*

*En negrita se resaltan los cambios realizados respecto a la pauta normal del paciente sin alteración hepática que toma la dosis estándar.

Posteriormente el protocolo fue modificado a través de una enmienda mayor para poder estudiar a pacientes con insuficiencia hepática severa, con sus correspondientes controles ajustados por edad, peso, sexo y raza.

Se incluyeron 60 pacientes de los cuales 55 completaron el estudio. La mayoría de los pacientes eran de raza caucásica (97%), con predominio de hombres (85%) y con una edad media entre 42-44 años. La mayoría de los pacientes tenían una hepatopatía crónica por VHC (91%), y solo 3 tenían coinfección con el VHB. En el análisis estadístico se incluyeron 53 sujetos, de los cuales 10 tenían insuficiencia hepática leve, 18 con insuficiencia hepática moderada y 8 pacientes con insuficiencia hepática severa. También se evaluaron 17 sujetos con función normal.

Los estudios preclínicos demuestran que FPV se convierte prácticamente por completo en amprenavir (APV) en el epitelio intestinal.

Los pacientes con insuficiencia hepática leve, comparados con sujetos con función hepática normal, tuvieron unos niveles farmacocinéticos de APV en plasma

semejantes a los controles, con valores de área bajo la curva (concentración plasmática frente a tiempo durante un intervalo de administración (τ) en estado estacionario) ($ABC_{(0-\tau)}$) un 22% mayor respecto a los controles con funcionalismo hepático correcto, con una concentración al final de un intervalo de administración (τ) en el estado estacionario (C_{τ}), similar al grupo control.

En los pacientes con insuficiencia hepática moderada, la disfunción hepática influyó significativamente en la farmacocinética plasmática de APV en presencia de RIT con valores $ABC_{(0-\tau)}$ normalizada según la dosis (ND) un 51-70% mayores respecto al grupo control. Sin embargo las pautas estudiadas en estos pacientes produjeron menores exposiciones plasmáticas totales en comparación con el grupo control. Así, el grupo B (tratado con FPV 300mg BID + RIT 100mg QD) tuvo un valor de $ABC_{(0-\tau)}$ en plasma total y valores de concentración máxima (C_{max}) de APV un 27% menores, así como una C_{τ} un 57% menor, aunque tuvo una C_{τ} del APV no unido a proteínas plasmáticas aproximadamente un 25% mayor que en el control. El grupo C (tratados con FPV 700mg QD + RIT 100mg QD) tuvo una concentración plasmática media total de APV un 24% menor y valores de C_{τ} un 57% menores, así como una C_{τ} no unidas proteínas plasmáticas aproximadamente un 42% menor que el grupo control D.

A partir de estos datos obtenidos, es posible mediante un cálculo por simulación farmacocinética, determinar que pauta de FPV 450mg en BID junto con RIT 100mg en QD en pacientes con insuficiencia hepática moderada proporcionará una $ABC_{(0-\tau)}$ plasmática similar, una C_{τ} plasmática total de APV un 35% menor y una C_{τ} de APV plasmático no unido a proteínas un 65% mayor que en los sujetos con función hepática normal que reciben FPV/RIT 700/100 mg dos veces al día.

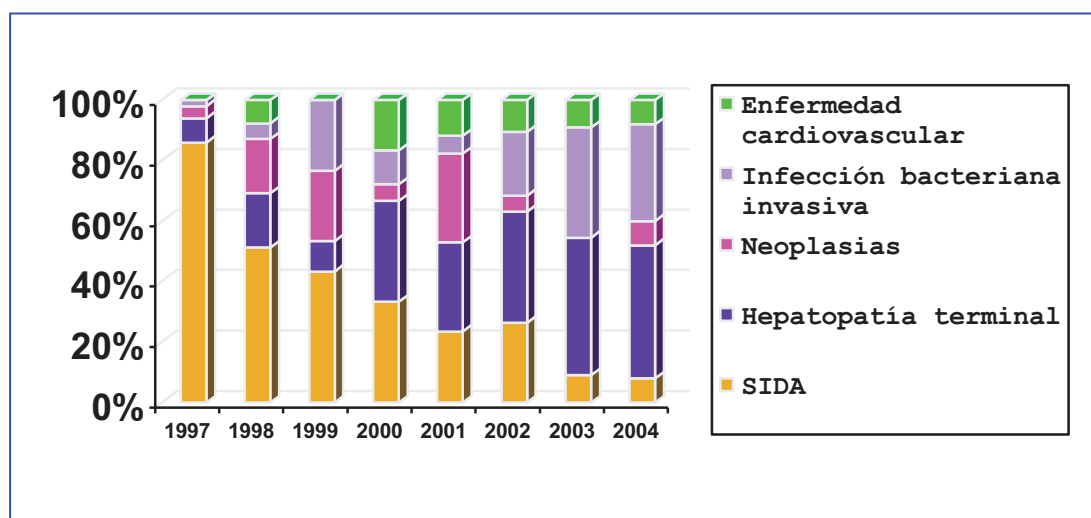
A los 8 pacientes con insuficiencia severa que acabaron el estudio, se les trató con FVP 300 mg dos veces al día junto con RIT 100mg una vez al día, a estas dosis, estos pacientes presentaron respecto al grupo control un $ABC_{(0-\tau)}$ un 23% menor, C_{τ} plasmática total de APV un 38% menor pero con una similar concentración mínima en periodo estacionario de APV plasmático no unido a proteínas.

Podemos concluir que las dosis estudiadas de FPV y de RIT en pacientes con hepatopatía crónica leve, moderada y severa fueron bien toleradas. En el caso de la hepatopatía leve, la dosis ajustada de FPV 700mg BID con RIT 100mg QD debería ser la de elección por su similitud de los datos farmacocinéticos del grupo control, mientras que las dosis óptimas de FPV en pacientes con hepatopatía moderada sería la de FPV 450mg/BID junto con RIT 100 mg en régimen QD que sería la dosis óptima por simulación farmacocinética a partir de los resultados de las dos dosis ensayadas. A partir de las conclusiones de este trabajo, se han realizado nuevas recomendaciones que ya han sido autorizadas y que están incluidas en la ficha técnica del FPV, siendo la primera vez que esto sucede con IP potenciado.

1. INTRODUCCIÓN

En los países desarrollados, la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) ha revolucionado la perspectiva del paciente infectado por el virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1 (VIH), produciendo un aumento espectacular de la supervivencia y una reducción muy importante de las infecciones oportunistas y neoplasias asociadas al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (1). En este contexto, la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) ha tomado gran relevancia clínica situándose como una de las primeras causas de ingreso hospitalario y muerte en los pacientes infectados por el VIH (2,3).

Figura 1. Causas de muerte en la población infectada por el VIH controlada en el Hospital Clínic de Barcelona. (referencia 2).



La coinfección de estos virus no es un proceso aislado. De los 40 millones estimados de pacientes infectados por el VIH-1 en el mundo, aproximadamente un tercio presenta una infección crónica por el VHC lo que supone unos 12 millones de pacientes coinfectados a nivel mundial. Aproximadamente el 30% de la población seropositiva está coinfectada por el VHC (4,5). Esta elevada tasa de prevalencia de

coinfección se debe en gran medida a que ambos virus comparten similares vías de transmisión. Si nos centramos exclusivamente en los pacientes que han adquirido la infección por el VIH por vía parenteral, principalmente en pacientes adictos a drogas endovenosas o pacientes hemofílicos, este número se eleva aproximadamente a un 90% de los pacientes (6). Estudios epidemiológicos han demostrado que el 65% de los pacientes con adicción a drogas por vía parenteral presentan anticuerpos para el VHC a los 12 meses tras el inicio del consumo (7). Este dato permite calcular el tiempo que un paciente lleva infectado por el VHC.

En los últimos años se ha detectado que los pacientes coinfectados por ambos virus tienen peor pronóstico que los mono infectados por VHC. La progresión de la enfermedad hepática se encuentra acelerada (8), los pacientes presentan una mayor progresión a cirrosis (9), mayor incidencia de hepatocarcinoma, y menor supervivencia desde la primera descompensación respecto a los pacientes con mono infectados por el VHC (10, 11).

Así que la consideración del tratamiento de la VHC es una prioridad en el manejo y tratamiento de los pacientes coinfectados por el VIH y VHC (12).

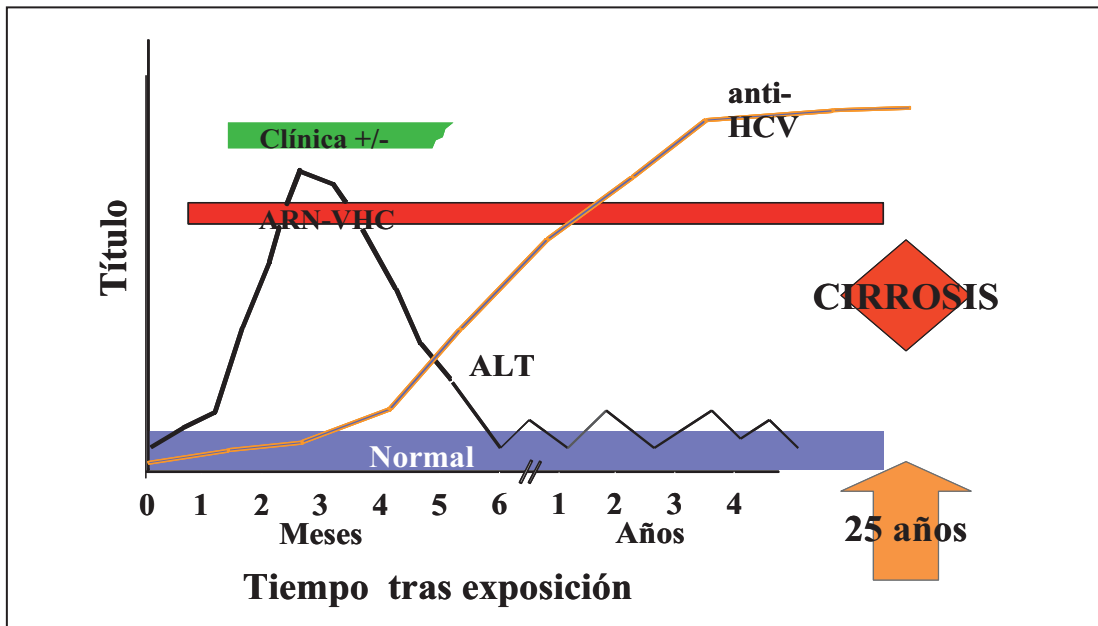
2. FUNDAMENTOS

2.1 EVOLUCION NATURAL DE LA COINFECCIÓN VIH- VHC

Los pacientes infectados por VIH-1 lograrán curar la hepatitis aguda por el VHC solo en un 10-20% y la norma será la cronificación que se produce hasta en un 80% de los casos (13). Además, mientras que la curación con tratamiento antiviral de la hepatitis aguda por el VHC en un paciente no infectado por el VIH es de aproximadamente del 90% en 24 semanas de tratamiento, en los pacientes VIH las tasas de curación son peores entorno al 60-70% de los pacientes (14). Los factores predictores de buen pronóstico, que pueden condicionar una normalización de las transaminasas y negativización del virus a los 6 meses, son el sexo femenino, la edad, el genotipo, la carga viral baja y la presencia de clínica de hepatitis aguda (15), aunque prácticamente el 70-80 % de las hepatitis por VHC son asintomáticas. También el descenso rápido de la carga viral en las primeras 4 semanas de infección es un factor de buen pronóstico.

Cuando se produce la cronificación del VHC, las transaminasas disminuyen, y aparecen los anticuerpos VHC, con persistencia de RNA del VHC en sangre. Se ha determinado que los pacientes con VHC tras 20 años de evolución presentan una probabilidad del 20% de desarrollar una cirrosis (16) y una vez establecida la cirrosis el riesgo anual de desarrollar fallo hepático es de 2-4% y de tener carcinoma hepatocelular se estima del 1-7% (17).

Figura 2: Curso clínico de la Infección por el VHC en pacientes monoinfectados.



2.2. FACTORES RELACIONADOS CON LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS HEPÁTICA.

La velocidad de la progresión de la fibrosis hepática varía ampliamente entre los diferentes pacientes. Además la progresión de la fibrosis no es un proceso lineal, sino que influyen diferentes factores que condicionan una mayor velocidad de la progresión de la enfermedad hepática y por tanto, un menor tiempo de desarrollar una cirrosis. Estos factores muchas veces convergen en el paciente coinfectado por ambos virus.

Factores del huésped

La edad en la que se adquiere la infección es un factor determinante de progresión (18). Cuando se adquiere la infección por el VHC en la edad adulta la progresión de la enfermedad hepática es mayor. También la edad, independientemente del momento de la infección, va a ser un factor de progresión de la fibrosis hepática que hace que a partir de los 45-50 años, se produzca una aceleración de la fibrosis hepática (19). El sexo

masculino y el consumo de alcohol son conocidos factores asociados a mayor progresión de la enfermedad. También el fumar tabaco y cannabis supone un riesgo, por aumentar la progresión de la fibrosis hepática (20).

La raza afroamericana se ha implicado en una mayor velocidad de progresión de la fibrosis respecto a la raza caucásica. En la actualidad se estudian diferentes polimorfismos genéticos que podrían tener relación con una mayor progresión a cirrosis hepática. Se están intentando correlacionar los polimorfismos de HLA, con la progresión de la fibrosis hepática, aunque por el momento la asociación es baja (21).

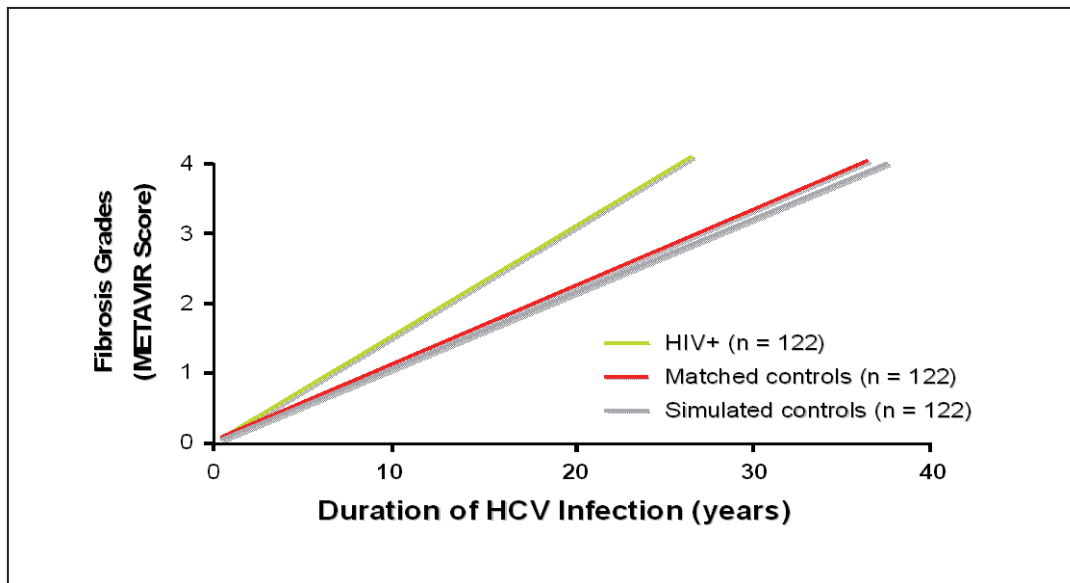
Factores metabólicos.

Otros factores, aunque en la actualidad debatidos, que podrían acelerar los cambios fibróticos hepáticos son la esteatosis hepática, la obesidad y la diabetes. Los resultados de los estudios son contradictorios (22,23).

Factores relacionados con la infección VIH

La infección por VIH acelera la progresión a cirrosis hepática por mecanismos no bien conocidos, duplicando la velocidad de la progresión de la fibrosis. Según un estudio de Benhamou et al. el intervalo medio de progresión a cirrosis estimado en el paciente con infección VIH-1 es de 26 años frente a 34 años en el paciente mono infectado (24, 25). Parece que el VIH-1 podría modular la respuesta intra hepática inmune, por descenso de CD4 y aumento de CD39, y favorecer la fibrosis hepática (26).

Figura 3: Evolución de la fibrosis según Benhamou et al.(referencia 24).



Es arriesgado el querer separar el efecto de la infección por VIH y la inmunosupresión que produce el virus. Sin embargo, los pacientes que tienen una buena situación inmunológica con el tratamiento antirretroviral tienen mayor progresión de fibrosis respecto los pacientes mono infectados por el VHC.

En definitiva, diversos estudios han demostrado que los pacientes VIH progresan más rápido a cirrosis que los pacientes mono infectados por el VHC, incluso antes que se produzca un descenso importante de linfocitos CD4 (27).

Factores relacionados con la inmunosupresión debida al VIH.

Los pacientes coinfectados por el VIH- VHC se caracterizan por tener niveles de viremia del VHC mucho más elevados que los mono infectados (28), y aunque esta elevación no esta relacionada directamente con la progresión de la fibrosis, este hecho refleja una respuesta inmune específica disminuida frente a la infección por el VHC. Además, la respuesta inmune frente a VHC esta alterada, incluso en etapas precoces de la infección (29). Según parecer ser, la infección por el VIH produce una disminución de

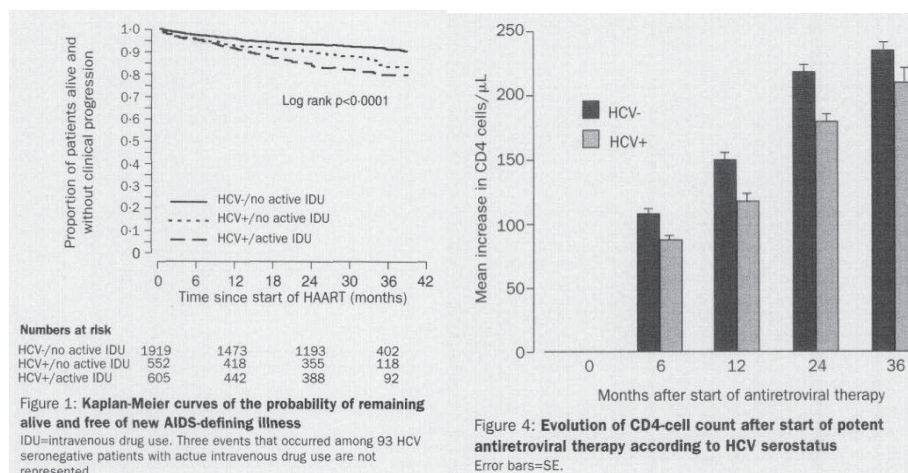
los linfocitos CD4 intrahepáticos que secretan citocinas antiinflamatorias y antifibróticas (FOXP3 , IL10) (30) que promueven la progresión de la fibrosis.

Otro artículo de publicación reciente pone de manifiesto que los pacientes con peor inmunidad celular, con CD4 nadir por debajo de 200 células/ml, es un factor de riesgo para tener una mayor progresión de la fibrosis hepática (31).

Factores relacionados con la infección por el VHC

En general ni el genotipo ni la carga viral del VHC parecen relacionarse de forma directa con la velocidad de progresión de la fibrosis hepática. En cuanto al impacto de la hepatitis crónica por el VHC en los pacientes VIH, los pacientes coinfectados presentan una menor recuperación inmunológica después de iniciar el TARGA (32), y también la infección crónica por el VHC supone un factor independiente para el desarrollo de toxicidad hepática asociada al tratamiento antirretroviral (33-36). Puede ser por estos motivos, que los pacientes coinfectados por el VIH y VHC tienen una mayor tasa de progresión a SIDA y muerte (32, 36). Estos resultados están íntimamente ligados a una menor recuperación inmunológica cuando se comparan pacientes VIH con y sin infección por el VHC.

Figura 4: Aumento de la mortalidad y menor recuperación inmunológica de los pacientes con infección crónica por el VIH-1 coinfectados por el VHC (32).



Factores farmacológicos.

El TARGA puede beneficiar la evolución de la fibrosis hepática a través de la recuperación del sistema inmune. De hecho algunos estudios observan una mejoría del daño hepático tras el TARGA y se relaciona directamente con la mejoría de la inmunidad celular CD4 (37). En este mismo sentido, se observó que la tasa de mortalidad por cualquier causa, así como la mortalidad de causa hepática en los pacientes coinfectados por la VHC y VIH, era significativamente mucho menor en los pacientes que recibieron TARGA en comparación con los que no los llegaron a tomar el tratamiento antirretroviral (38). Incluso el tratamiento antirretroviral también demostró tener un efecto beneficioso en la supervivencia de los pacientes con enfermedad hepática terminal después de la primera descompensación (39).

Sin embargo, el TARGA tiene un potencial hepatotóxico que se produce al menos por seis mecanismos diferentes: daño hepático directo, reacción idiosincrásica, hipersensibilidad, reconstitución inmunológica, toxicidad mitocondrial y esteatosis hepática.

Existe controversia sobre cual es el tratamiento más adecuado en pacientes coinfectados, especialmente en relación a unos artículos que han sugerido un efecto beneficioso hepático, con efecto antifibrótico de los inhibidores de la proteasa (40) en comparación con NNRTI. En este aspecto, existen algunos datos que demuestran mayor progresión de fibrosis hepática con el uso de nevirapina (41), pero estos datos posteriormente no se confirman en otros estudios, incluso se observa un efecto beneficioso en la progresión de la fibrosis con este fármaco (42).

El uso prolongado de didanosina ha sido asociado al desarrollo de enfermedad hepática crónica (43).

Por último comentar que los pacientes sometidos a inmunosupresión farmacológica, fundamentalmente por trasplante de órganos, muestran una evolución de la enfermedad hepática más agresiva.

Factores específicos hepáticos

La coexistencia de otros virus hepáticos como el virus de la VHB y el VHD, que se transmiten de la misma manera, producen hepatopatías con un curso todavía más acelerado. Existe, con la coinfección múltiple mayor probabilidad de enfermedad hepática terminal y/o hepatocarcinoma (44.) Afortunadamente cuando dos virus hepatotropos coinciden en un paciente, normalmente uno es el dominante e inhibe la replicación del otro virus (45).

2.3. HISTORIA NATURAL DE LA CIRROSIS HEPÁTICA EN PACIENTES COINFECTADOS.

La historia de la cirrosis hepática esta caracterizada por una fase asintomática, que se le denomina cirrosis compensada, seguida de una fase rápida y progresiva de desarrollo de complicaciones secundarias a la hipertensión portal y/o insuficiencia hepática, a esta fase se le denomina cirrosis descompensada. Una vez que el enfermo desarrolla una cirrosis hepática su pronóstico vital se ve disminuido debido a complicaciones clínicas derivadas del grado de insuficiencia hepática y a la aparición de hepatocarcinoma. El diagnóstico de cirrosis hepática se hará por pruebas analíticas, sintomatología clínica y de imagen o por biopsia hepática. Se clasificará al paciente según su función hepática y el grado de descompensación clínica según la clasificación de Child Pugh (46).

Tabla 1. Sistema de Child Pugh (Pugh, 1973) (referencia 46)

Hallazgo	Puntuación para cada hallazgo observado		
	1	2	3
Grado de encefalopatía ¹	Ninguna	1 ó 2	3 ó 4
Ascitis	Ausente	Ligera	Moderada
Bilirrubina sérica (mg/dl)	<2	2 a 3	>3
Albúmina sérica (g/dl)	>3'5	2'8 a 3'5	<2'8
Tiempo de protrombina (segundos prolongados)	<4	4 a 6	>6
1. Grado 0: estado de conciencia, personalidad, exploración neurológica y electroencefalograma normales Grado 1: inquietud, alteración del sueño, irritabilidad/agitación, temblores, dificultad para escribir, ondas de 5 ciclos por segundo Grado 2: letargia, desorientación temporal, conducta inapropiada, asterixis, ataxia, ondas trifásicas lentas Grado 3: somnolencia, estupor, desorientación en el espacio, reflejos hiperactivos, rigidez, ondas más lentas Grado 4: coma irreversible, ausencia de personalidad/comportamiento, descerebración, actividad delta lenta de 2-3 ciclos por segundo			

La insuficiencia hepática de un paciente se clasifica como leve si la suma global de las puntuaciones es de 5-6 puntos y como moderada si la suma global de las puntuaciones es de 7-9 puntos y severa más de 9, en base al sistema de puntuación de Child-Pugh. Otra clasificación que también se utiliza mucho en la clínica en los pacientes con insuficiencia hepática es la Model for End Stage Liver Disease (MELD). Esta clasificación consiste en esta ecuación: $MELD\ Score = 9,57 \ln(\text{Creatinina}) + 3,78 \ln(\text{Bilirubina}) + 11,2 \ln(\text{INR}) + 6,43$. Es un modelo matemático de predicción de la supervivencia de una persona con enfermedad hepática basado en simples valores de laboratorio rutinarios (47). Actualmente es usado para la prioridad en la lista de trasplante hepático (pacientes con puntuación mayor tienen prioridad para recibir un órgano).

La supervivencia de los pacientes coinfectados por ambos virus con cirrosis hepática también es más corta que en los pacientes no infectados por el VIH. Cuando la cirrosis ya está establecida, la progresión a fracaso hepático en el paciente coinfectado oscila entre un 2-4% anual y a hepatocarcinoma entre 1-3 % anual. Los pacientes VIH-

VHC tras la primera descompensación hepática sobreviven de media 16 meses, frente a los 48 meses de los pacientes cirróticos no infectados por el VIH (48).

Estudios de cohortes europeos y americanos detectaron incremento progresivo en el diagnóstico de hepatocarcinoma en los pacientes coinfectados, en relación a una mayor supervivencia debida a la introducción de TARGA (49-51). En los pacientes coinfectados por el VIH- VHC, el hepatocarcinoma aparece en pacientes más jóvenes, se diagnostica en estadios más avanzados y presenta una supervivencia menor que el paciente mono infectado por el VHC (49,52).

2.3.1 Trasplante hepático en los pacientes coinfectados por VIH- VHC.

Para estos pacientes la única opción terapéutica es el trasplante hepático. La mortalidad en lista de espera de trasplante hepático es considerablemente mayor en el paciente coinfectado de aquí a considerar diferentes escalas para valorar la prioridad del trasplante (53). Aunque la mortalidad a corto plazo no es mayor entre los pacientes coinfectados por el VIH- VHC, los datos de mortalidad del trasplante hepático a cinco años, revelan una peor supervivencia de los pacientes coinfectados, a expensas fundamentalmente de la reinfección por este virus y a su rápida progresión a fibrosis (54)

2.3.2. Tratamiento antirretroviral en pacientes con cirrosis hepática

El efecto secundario de grado 3 o 4 más frecuente del tratamiento antirretroviral suele ser la toxicidad hepática (55). Además la infección concomitante por VHC o VHB es un factor que aumenta de dos a diez veces la posibilidad de desarrollar hepatotoxicidad.

Aunque se han comunicado datos de hepatitis fulminante en pacientes con enfermedad hepática terminal, lo más frecuente es la elevación asintomática de las transaminasas. Los pacientes con enfermedad hepática terminal tienen peor tolerancia, con disminución de la adherencia y como consecuencia de ello, se puede llegar a ver

afectada su eficacia. La insuficiencia hepática altera la disposición y exposición de los fármacos administrados por diferentes mecanismos; alteración en la actividad metabólica de los hepatocitos, excreción biliar inadecuada, alteración del flujo hacia el hígado y disminución de las proteínas que se unen a los fármacos.

El metabolismo de antirretrovirales que se metabolizan en el hígado puede estar alterado, especialmente en situación de insuficiencia hepatócelular. Si el paciente tiene disfunción hepática el riesgo de desarrollar hepatotoxicidad severa es mayor, fundamentalmente relacionado con ritonavir a altas dosis, nevirapina y el uso combinado de esta con inhibidores de la proteasa.

Las concentraciones plasmáticas de algunos fármacos antirretrovirales se correlacionan con su toxicidad, por lo que se ha sugerido su determinación. La monitorización plasmática de los niveles plasmáticos se limita a las familias de IP y NNRTI, ya que la determinación de la forma activa de los NRTI es intracelular, presenta una variabilidad inter e intrapaciente tan amplia que dificulta su uso clínico.

La toxicidad debida a los análogos de los nucleósidos es por toxicidad mitocondrial, y en la medida de lo posible se debería evitar tratar a los pacientes con cirrosis hepática con zalcitabina, didanosina, estavudina. La toxicidad relacionada con los IP viene condicionada por la inhibición del citocromo P450. Hay pocos estudios realizados que evalúen la seguridad en pacientes con insuficiencia hepática severa. En la ficha técnica de estos fármacos se recomienda no usarlos en hepatopatía severa o si se opta por este tratamiento hacerlo con precaución.

Sin embargo, a pesar de lo importante que es administrar la dosis correcta en estos pacientes, existen pocos estudios farmacocinéticos con antirretrovirales que exploren este campo.

El amprenavir (APV) sin potenciar con ritonavir (RIT), es uno de los primeros IP que se determinaron la dosificación del fármaco en función de la intensidad de la alteración hepática (moderada o severa) y el ABC plasmática de APV (56), aunque no hay datos por el momento con insuficiencia hepática severa. Otros estudios con IP potenciados, como son lopinavir/ritonavir indican que ABC plasmática en pacientes con insuficiencia hepática leve y moderada se elevan en 30-60% los niveles de lopinavir y RIT (57).

2.4 MECANISMOS PATOGENICOS DE LA FIBROSIS HEPÁTICA

La lesión más característica de la hepatopatía crónica es la fibrosis hepática. La fibrosis hepática es un proceso dinámico y complejo como consecuencia de un desequilibrio entre la formación de matriz extracelular (MEC) y los factores que regulan la degradación de los componentes de la MEC, en respuesta a agresiones crónicas de intensidad suficiente para conducir a este proceso de cicatrización.

Ante los diversos agentes lesivos del hígado, se iniciará una cascada inflamatoria por diversos caminos que confluirán en la activación que de las células estrelladas del hígado. En la figura 1, se resume y se simplifica la patogénesis de la fibrosis hepática (58).

Aunque este proceso no se conoce totalmente, la identificación de las células estrelladas del hígado y su gran implicación en el desarrollo de la fibrosis hepática ha cambiado el enfoque de esta enfermedad.

La célula estrellada del hígado o célula de Ito, en condiciones normales, en estado de reposo no activa, se caracteriza por presentar múltiples y prominentes gotitas de grasa para almacenar más del 80% de la vitamina A total del organismo. Las funciones predominantes de la célula estrellada, aparte de ser un depósito de vitamina A, son

controlar la comunicación intercelular por medio de mediadores intercelulares y remodelar la escasa MEC que presenta el hígado normal.

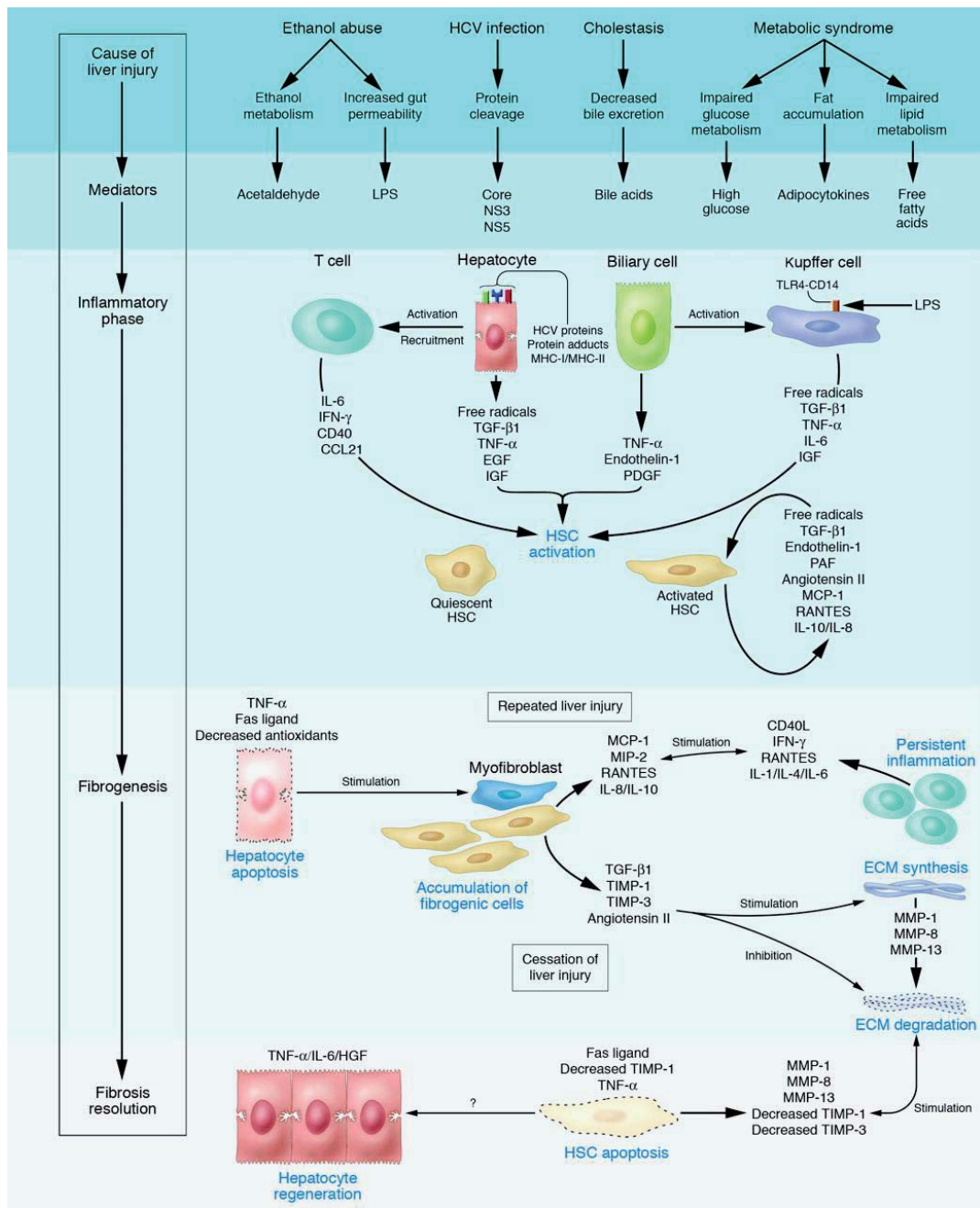
Aunque es posible que todas las poblaciones celulares del hígado participen en la producción y degradación de los componentes de la MEC, se cree que las células estrelladas del hígado son el principal tipo celular fibrogénico, que después de una activación se produce una transdiferenciación fenotípica y estas células adquieren capacidades proliferativas, fibrogénicas y propiedades contráctiles.

La necrosis hepatocelular produce la activación de las células estrelladas. El proceso de formación de matriz extracelular (MEC) o fibrogénesis, aparece inicialmente como un proceso reparativo local ante un daño hepático mantenido. Sin embargo, en fases avanzadas de la enfermedad se produce la síntesis de un amplio abanico de citoquinas y proteínas de la MEC en cantidades suficientes para ser detectadas en sangre periférica. Las células estrelladas, tras ser activadas principalmente por el factor de crecimiento TFGF-1, inician la síntesis de gran cantidad de tipos de colágenos (colágenos I, III y IV) y también de ácido hialurónico (AH), elastina y laminina. Este proceso dinámico activa, a su vez, ciertas enzimas de degradación del colágeno, como las metaloproteinasas (MMP). Sin embargo, la fibrogénesis mantenida dará lugar no solo a un aumento de la producción de colágeno, sino a una disminución de su degradación como consecuencia de la activación de enzimas inhibitoras de las MMPs, las llamadas TIMPs.

La acumulación progresiva de la fibra colágena en el hígado provoca desestructuración de la arquitectura y una modificación del sistema microvascular hepático. Esta alteración produce que un sistema sinusoidal de capilares discontinuos se transforme en un sistema de capilares continuos, que es lo que se denomina la capilarización. Es decir, se produce un aumento de la producción de colágeno tipo IV,

laminina y elastina en el espacio de Disse, donde se forma una membrana basal verdadera. Esto comportará un aumento de la presión portal, que contribuirá a medio plazo, a la aparición de la sintomatología característica del paciente cirrótico descompensado (ascitis, varices esofágicas, etc.).

Figura 5. Esquema de los mecanismos patogénicos de la fibrosis hepática (58).



2.5. DETECCIÓN DEL GRADO DE FIBROSIS HEPÁTICA

2.5.1. Biopsia hepática

En la actualidad, la biopsia hepática es la técnica de elección para determinar el grado de fibrosis hepática. Esta técnica permite cuantificar la actividad necroinflamatoria y descartar otras patologías hepáticas. En los pacientes que además de tener un RNA-VHC positivo, tengan autoanticuerpos o presenten datos bioquímicos que sugieran la presencia de otra etiología (enfermedad de Wilson, hemocromatosis, autoinmunidad...) la biopsia puede ser decisiva para identificar el tipo de lesión. Sin embargo, no está justificada la realización de la biopsia hepática exclusivamente para descartar otras patologías si no hay sospecha clínica.

La biopsia hepática permite graduar la lesión histológica mediante la existencias de escalas histológicas simples (METAVIR, Knodell, Isaac o Scheuer) que valoran tanto el estadio de la fibrosis como la actividad inflamatoria. En nuestro hospital se trabaja con la clasificación de Scheuer (tabla II)

Tabla II: Evaluación histológica de la hepatitis crónica según la clasificación de Scheuer (59).

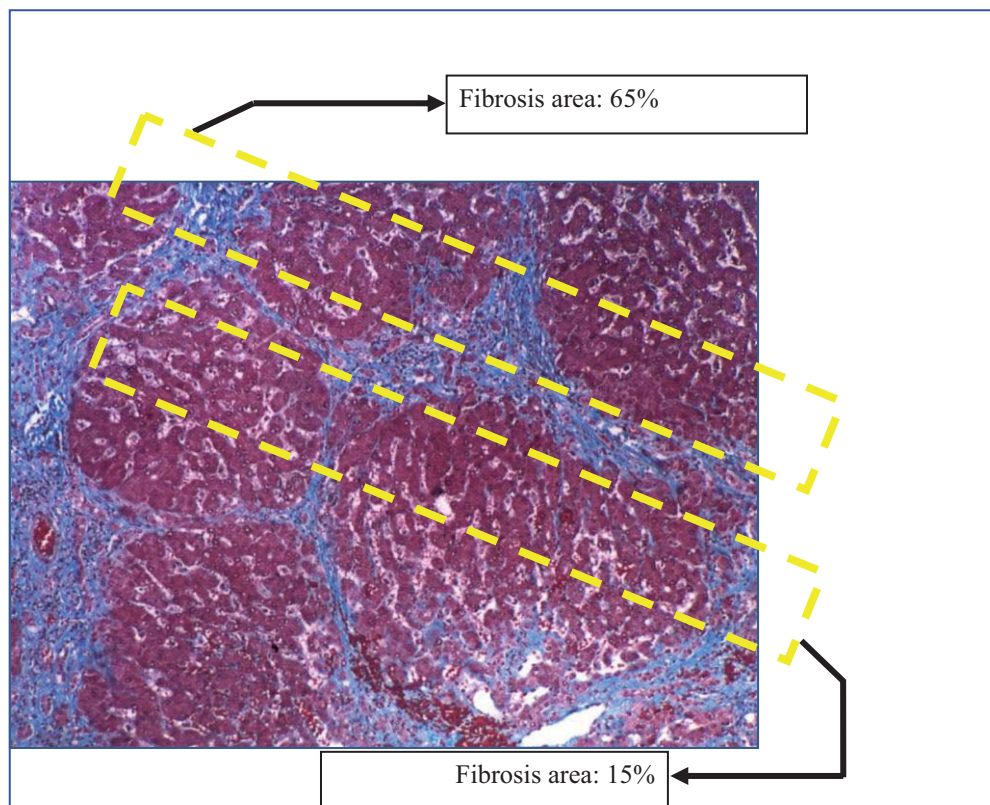
<u>Grado</u>	<u>Actividad portal/periportal</u>	<u>Actividad lobular</u>
0	Ninguna o mínima	Ninguna
1	inflamación portal	Inflamación pero no necrosis
2	Necrosis piecemeal leve	Necr. Focal y cuerpos
3	Necrosis piecemeal moderada	Daño celular focal severo
4	Necrosis piecemeal severa	Incluye puentes de necrosis
acidófilos		
<u>Grado</u>	<u>Fibrosis</u>	
0	Ninguna	
I	Tractos portales fibróticos alargados	
II	Septos portales porto-portales con arquitectura intacta	
III	Fibrosis con distorsión estructural sin cirrosis	
IV	Probable o definitiva cirrosis	

Sin embargo, la biopsia hepática es una prueba invasiva, no exenta de complicaciones, con una morbimortalidad no desdeñable. Es un proceso doloroso hasta en un 24% de los pacientes (60) y presenta complicaciones graves hasta en un 3,1/1000 de los casos (61). Este método invasivo puede estar contraindicado en pacientes con alteraciones de la coagulación, en pacientes con ascitis o en personas que tienen dilataciones importantes de la vía biliar. Además tiene una escasa aceptación por parte del paciente, especialmente si se requiere repetir la biopsia.

Otro factor importante es su elevado coste económico y de recursos, al precisar horas de ingreso hospitalario.

Desde el punto de vista del poder diagnóstico la biopsia hepática tiene serias limitaciones. El principal inconveniente es que la muestra puede no ser representativa del grado de fibrosis del paciente. El fragmento que se obtiene mediante cualquiera de las agujas de punción representa el 1/50.000 del total de la masa hepática, una mínima parte del hígado. En las hepatopatías crónicas, las alteraciones necroinflamatorias como la fibrosis son difusas, lo que permite identificarlas en cualquier parte del hígado, pero su falta de uniformidad puede inducir diferencias según el lugar de punción, especialmente relevante en lo que se refiere a la intensidad de la fibrosis (62).

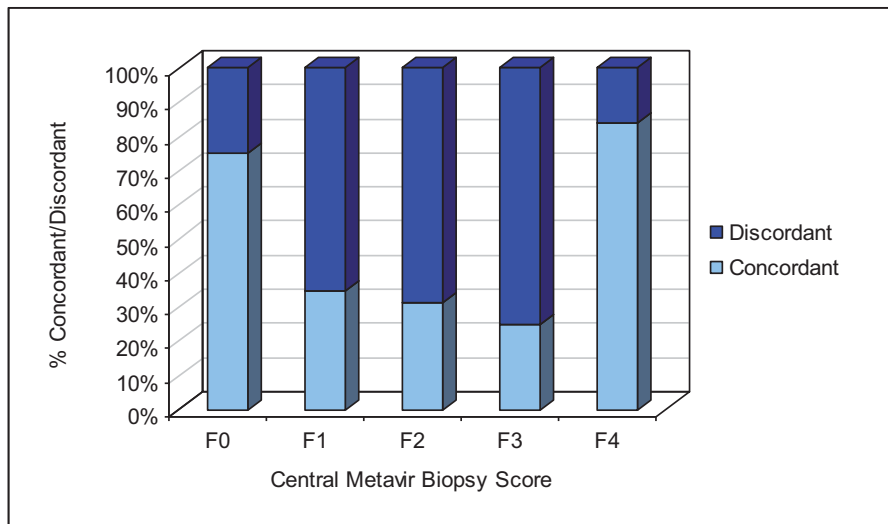
Figura 6. Variabilidad del diagnóstico de la fibrosis hepática en función de donde se realiza la biopsia hepática (referencia 62)



Así mismo, en un mismo paciente puede variar el grado de fibrosis hepática en función del lóbulo hepático de donde se extrae la muestra, en al menos un grado, en un 33% de los casos. Además un tamaño relativamente pequeño de la pieza anatómica produce que se disminuya la sensibilidad de la técnica, infravalorando el grado de fibrosis hepática.

Por otro lado, existe una variabilidad inter y también intraobservador del anatomopatólogo que informa la biopsia nada desdeñable si consideramos los estadios intermedios de fibrosis hepática (63). Este concepto se expone en la figura 7.

Figura 7. Variabilidad intra e interobservador del anatomopatólogo al determinar el grado de fibrosis hepática.(Referencia 63)



Por ultimo remarcar que la fibrosis hepática es un proceso dinámico que no se ve completamente reflejado en una “foto fija” realizada cada 2- 3 años. Además el resultado que se obtiene mediante una biopsia hepática es una variable no continua, siendo más inexacto el procedimiento.

2.5.2. Marcadores no invasivos

Marcadores serológicos.

Por todo lo expuesto, el desarrollo de marcadores no invasivos de fibrosis hepática se ha invocado como una necesidad indiscutible. Durante los últimos años, se han desarrollado diversos modelos matemáticos para valorar la fibrosis hepática principalmente en pacientes infectados por el VHC basados en determinaciones bioquímicas sencillas que han demostrado su utilidad para determinar el grado de fibrosis hepática. Se utilizan marcadores directos o indirectos de fibrosis hepática. Los marcadores indirectos son los que reflejan las alteraciones de la función hepática pero no directamente de la MEC. Estos marcadores no tienen relación directa con la

fisiopatología de la síntesis o de la degradación del colágeno hepático, sino que reflejan cambios en otras variables biológicas que se modifican al progresar la enfermedad.

Uno de los primeros modelos matemáticos para determinar la fibrosis hepática en los pacientes monoinfectados por el VHC fue el Fibrotest que utiliza el Alfa 2-macroglobulina, Alfa α_2 globulina, bilirrubina total, haptoglobina, apolipoproteína A1 y GGT. Es un test validado, con una ABC 0,87 (64). Sin embargo, la necesidad de pago para su cálculo y la utilización de marcadores que generalmente no se utilizan en la práctica clínica diaria disminuyen su utilidad. Con la intención en resolver ambos problemas se han publicado modelos con marcadores indirectos de fibrosis hepática utilizados habitualmente para el control del paciente con enfermedad hepática, como es el índice APRI y el índice de Forns. El índice APRI (65) se caracteriza por su sencillez que se basa en el cociente AST / Plaquetas. Esta ecuación tiene un alto VPP para determinar fibrosis avanzada o cirrosis. Por el contrario, el índice de Forns (66), utiliza el colesterol, GGT, plaquetas y el T. Protrombina junto con la edad del paciente e identifica fundamentalmente aquellos pacientes que no tendrán un estadio avanzado de fibrosis, es decir grados F0- F1, con un elevado VPN y una ABC del 0.86. Ambos test se han validado en numerosos grupos de pacientes monoinfectados por el VHC y se han comparado con el Fibrotest, con una menor exactitud para determinar la fibrosis hepática y con un área bajo la curva menor, pero ampliamente extendido por su sencillez, sobre todo el índice de APRI.

Posteriormente, intentando mejorar estos modelos se propusieron diversos marcadores directos de fibrosis relacionados directamente con la formación o degradación de la MEC. Se han utilizado marcadores que reflejan la deposición de la MEC (como son el péptido carboxi-terminal del procolágeno I, el péptido amino-terminal del procolágeno II, TIMP, etc) o de degradación de la MEC (como MMP).

A pesar de su relación directa con el proceso de fibrosis, ninguno de estos marcadores es totalmente específico de fibrosis hepática, por lo que pueden estar falsamente elevados en fibrosis miocárdica y también en pacientes con insuficiencia renal. Por ello, estudios posteriores utilizaron la combinación de varios de estos marcadores de fibrogénesis. El Grupo Europeo para el Estudio de la Fibrosis Hepática (67) llevó a cabo un estudio multicéntrico internacional con más de 1.000 pacientes con diferentes patologías hepáticas, combinando los niveles séricos de TIMP-1, HA y PIIIP. En este estudio la sensibilidad para la detección de fibrosis significativa (más de F2) fue del 90 %, con una ABC 0.77-0.8. Este estudio alcanzó un elevado valor pronóstico, tanto en la predicción de fibrosis significativa como en la exclusión de esta.

En la siguiente tabla III se resumen los principales estudios con marcadores no invasivos que identifican el grado de fibrosis hepática.

En el caso particular de los pacientes coinfectados por VIH y VHC, la utilidad de los índices biológicos puede verse comprometida dado a que la misma infección por el VIH o el TARGA introducen factores de confusión que alteran los marcadores serológicos. Este es el caso de la elevación de la bilirrubina por atazanavir, las alteraciones de los niveles de GGT producidos por NNRTI o la alteración que se produce en los lípidos con los IP potenciados con ritonavir.

Hay poca información respecto a como se comportan estos marcadores en el paciente coinfectado por el VIH. El fibrotest, que también se realizó en una cohorte de pacientes coinfectados obteniendo una aceptable ABC (68), y el estudio SHASTA que utilizó la albúmina, HA y la AST en una cohorte de pacientes afro-americanos

Tabla III. Modelos matemáticos realizados con marcadores no invasivos que determinan la fibrosis hepática.

Autor, estudio, año, cta	MARCADORES UTILIZADOS	Núm. casos	Tipo pacientes	Sensibilidad	Especificidad	ABC F2-F4
Poynard, 1997 , (70)	Edad , Plaquetas	194	VHC			
Imbert-Bismut, Fibrotest, 2001(64)	Alfa2 macroglobulina,apolipoproteina , haptoglobina , bilirrubina , edad y sexo	339	Diversos (a)	65-87	59-81	0,74-0,87
Forns et al. , 2002, (66)	Edad , plaquetas, colesterol y GGT	479	VHC	30-94	51-95	0.76-0.86
Wai, APRI ,2003, (65)	AST, Plaquetas	270	VHC	41-91	47-95	0.69-0,88
Roserberg, European Liver fibrosis Score ELF, 2004 (67)	HA, PIIIP, TIMP-1	1021	Diversos (b)	30-95	29-95	0.77- 0, 94
Lok et al, HALT-C, 2005 (71)	Cociente AST/ALT, Plaquetas y INR	1141	VHC			0.78*
Cales , Fibrometer, 2005 (72)	Plaquetas, Protrombina ,edad ,urea, alfa2-microglobulina, HA	383	Hepatopatía alcohólica	80	84	0,89
Adams, Hepatoscore, 2005 (73)	Alfa2 macroglobulina, HA , bilirrubina , GGT , edad y género	117	VHC	63	89	0,82
FIBROspect (74)	Alfa2 macroglobulina, HA,TIMP-1	142	VHC	77	73	0.83
Koda, FibroIndex, 2007 (75)	Plaquetas, AST, Gammaglobulina	240	VHC	80	84	0,89
Myers, Fibrotest, 2003(68)	Alfa2 macroglobulina,apolipoproteina , haptoglobina , bilirrubina , edad y sexo	130	VIH- VHC	66	92	0,85
Kelleher, SHASTA, 2005 (69)	Albunina, HA y TIMP-1	137	VIH- VHC	50	94	0.87
Sterling et al, FIB-4, 2006, (76)	Edad , Plaquetas, AST y ALT	832	VIH- VHC			0.73

Diversos tipos de hepatopatía (a): VHC, VHB, Alcohólicos, esteatosis hepática. Diversos (b). Además de los anteriores, hepatitis autoinmune, Cirroisis biliar primaria, hemocromatosis, hepatopatía criptogenética, etc. ABC* .

en la que se obtenía una buena discriminación de la fibrosis hepática en grados avanzados (68) son ejemplos de trabajos realizados en pacientes coinfectados. El estudio FIB- 4 (76), el estudio más amplio llevado a cabo en pacientes coinfectados utilizó marcadores indirectos de la fibrosis hepática con ABC menor, como se expone en la tabla III.

Marcadores no invasivos por técnicas de imagen.

La elastografía transitoria (FibroScan) es un nuevo método no invasivo para la valoración de la fibrosis hepática. Esta técnica utiliza ondas de ultrasonidos de 5MHz cuya velocidad de propagación se corelaciona de forma directa con la elasticidad tisular, la cual se halla directamente relacionada con la fibrosis. Se basa en el hecho de que cuanto mayor es la fibrosis en el tejido hepático, menor es su elasticidad. Es un método sencillo, cómodo para el paciente y permite obtener valores cualitativos que se correlacionan con el grado de fibrosis (velocidad $>8,7$ KPa indica fibrosis 2 y velocidad $>14,5$ indica presencia de fibrosis significativa) (77). Entre los inconvenientes de esta técnica destacaría el elevado coste del aparato, que hace que no se pueda generalizar su uso, y las dificultades en la diferenciación entre pequeñas variaciones de fibrosis. También existen problemas de tipo técnico que no permiten obtener una correcta evaluación en determinados pacientes, como son los obesos mórbidos, espacios intercostales estrechos y la presencia de ascitis, aún cuando esta no sea clínicamente apreciable.

Posteriormente se han publicado diversos estudios con combinaciones de marcadores no invasivos serológicos y por imagen. En concreto, el grupo de Castera et al, utilizó marcadores serológicos junto con los resultados del FibroScan en pacientes con hepatitis crónica por VHC y los comparó a los datos obtenidos en la biopsia hepática. Con esta combinación estos autores aumentaron de forma

significativa la capacidad de identificar a pacientes con fibrosis significativa, proponiendo un algoritmo diagnóstico (78).

Por último comentar que hay otras técnicas de imagen más sofisticadas que determinan el grado de fibrosis hepática como la ultrasonografía con bolos de microburbujas a través de las venas suprahepáticas (79), la resonancia magnética espectroscópica hepática mediante 31P (80,81) y la elastografía por resonancia magnética (82).

2.6. TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA POR VHC

Objetivo

El objetivo primario del tratamiento de la VHC es la erradicación del virus, o lo que es lo mismo, la obtención de una respuesta viral sostenida (RVS) que se define como la ausencia de detección de ARN- VHC 6 meses después de finalizar el tratamiento antirretroviral. La RVS consigue una mejoría clara en la fibrosis hepática, una disminución del riesgo de hepatocarcinoma y de las complicaciones hepáticas y reduce la mortalidad asociada a problemas hepáticos (83). Sin embargo, se han descrito casos de carcinoma hepatocelular en pacientes con RVS, sin cirrosis establecida y sin que se demuestre positivización tardía del ARN del VHC, por tanto se debe mantener en el seguimiento del paciente, la detección precoz de hepatocarcinoma (84).

Indicación del tratamiento de la hepatitis crónica por el VHC.

En principio, el tratamiento del VHC se le debería indicar a todos los pacientes con ARN detectable del VHC en sangre, independientemente del valor de transaminasas, (dada la alta prevalencia de fibrosis significativa en estos pacientes) y siempre que el paciente no presente alguna contraindicación formal para realizar el

tratamiento (enfermedad hepática descompensada, hepatitis autoinmune, enfermedad psiquiátrica grave, epilepsia, diabetes Mellitus no controlada, anemia severa o hemoglobinopatías, cardiopatía isquémica, enfermedad cardiovascular, insuficiencia renal crónica con aclaramientos inferiores a 50ml/min, embarazo o rechazo de la contracepción y consumo de alcohol y/o otras drogas). La presencia de cirrosis, clínicamente compensada, no contraindica el tratamiento, aunque las probabilidades de respuesta virológica son menores.

Respecto al tratamiento de los pacientes con coinfección, la infección por VIH tendría que estar en fase crónica, con buena situación clínica, con carga viral del VIH indetectable o baja y unos CD4 estables por encima de 250 cel/mL y que el paciente se encuentre estable realizando tratamiento antirretroviral o sin necesidad del mismo. Posiblemente solo la mitad de los pacientes coinfectados por VHC- VIH cumplan todos estos criterios.

Los pacientes coinfectados presentan una peor tasa de respuesta al tratamiento y una mayor probabilidad de interrumpirlo. Los factores que podrían explicar una peor respuesta al tratamiento de los pacientes coinfectados son que característicamente tienen mayor carga viral, grados de fibrosis más avanzados, y una cinética viral más lenta. A todo esto se asocia la mayor frecuencia de presentar efectos secundarios, que ocasiona abandono de la terapia y peor cumplimiento de la medicación. Por lo tanto, en esta población, la terapia anti-VHC debe ser indicada de forma individualizada sopesando las ventajas e inconvenientes de iniciarla o diferirla.

La motivación del paciente para realizar el tratamiento antiviral tiene un papel crucial a la hora de comenzar el tratamiento.

Factores predictores de respuesta al tratamiento antiviral del VHC.

Se deben considerar antes de plantear el inicio del tratamiento y durante la realización del mismo, los factores pronósticos asociados a una mejor respuesta al tratamiento.

Factores del huésped.

La edad superior a 40 años, el sexo masculino, la raza negra, la obesidad y el abuso de alcohol se asocian a una menor tasa de RVS tanto en pacientes monoinfectados como coinfectados. En los últimos años, se ha prestado especial atención a la influencia negativa que ejerce la resistencia a la insulina sobre la respuesta al tratamiento de la VHC, también en pacientes coinfectados (85). La presencia de fibrosis significativa se encuentra asociada a menor RVS. En estos pacientes se les debería tratar antes de que presenten la primera descompensación clínica.

Factores virales.

Los dos factores principales de predicción de una RVS al tratamiento con INF y RBV en el paciente con infección por VHC son el genotipo del VHC y el ARN del VHC basal antes de empezar la medicación. Los genotipos 2 y 3 característicamente están asociados a mejor respuesta, en contraposición de los genotipos 1 y 4. La carga viral del ARN del VHC basal elevada (>800.000 UI/ ml) está asociada a una peor respuesta al tratamiento con INF y RBV.

La cifra de CD4 y el grado de replicación viral del VIH parecen tener una influencia discreta sobre la eficacia intrínseca del tratamiento del VHC. Sin embargo, alguno estudio si han relacionado un porcentaje de CD4 disminuidos, con una menor tasa de RVS (86). Los niveles de CD4 nadir superiores o inferiores a 200 cel/ml no se han relacionado con la RVP.

Factores cinética viral.

La posibilidad de alcanzar una RVS está relacionada con 2 factores derivados de los análisis de dinámica de la cinética viral: la rapidez de supresión del ARN del VHC y la duración de ésta durante el curso del tratamiento. Aunque estas dos afirmaciones están íntimamente relacionadas, este último concepto es importante, cuanto mayor sea el tiempo con ARN indetectable durante el tratamiento, mayor será la RVS. Hay diversos trabajos que concluyen que si esta indetectable el ARN del VHC durante 32-36 semanas tras la negativización se conseguirá una RVS entre 80-90% en pacientes mono infectados con genotipo1 (87).

Factores relacionados con el tratamiento farmacológico.

Actualmente el tratamiento de elección del VHC es el INF-PEG y la RBV. El realizar un tratamiento completo de 48 semanas en pacientes coinfectados por el VHC-VIH, a las dosis recomendadas es muy importante para conseguir el objetivo de la curación. Sin embargo, el manejo exquisito de los efectos secundarios, con modificación de la dosis de los fármacos si la circunstancia lo requiere, va a comportar una menor tasa de abandonos por tolerancia, mejorando la RVS.

2.6.1 MONITORIZACIÓN DURANTE EL TRATAMIENTO DEL VHC

La monitorización del tratamiento del VHC se realiza mediante la determinación periódica de la carga viral del VHC, con indudables beneficios para el paciente y para el médico que supervisa el tratamiento.

Los pacientes que reciben tratamiento con IFN y RBV deben tener mensualmente una evaluación clínica, y también la realización periódica de marcadores bioquímicos, hematológicos y marcadores de toxicidad mitocondrial. El primer mes de tratamiento se realizará este seguimiento cada 15 días.

Se recomienda en el caso de la coinfección realizar controles de carga viral y CD4 al mes de iniciar el tratamiento y cada 3 meses hasta finalizar el tratamiento.

Las determinaciones virológicas del ARN del VHC se realizan para obtener información pronóstica del tratamiento y se definen de la siguiente manera:

Respuesta viral rápida (RVR). Se caracteriza por un rápido descenso de la CV hasta situarse por debajo del límite de detección (principalmente realizada mediante una técnica cualitativa) en la semana 4 de tratamiento.

Respuesta viral precoz (RVP). Se define como el descenso de dos logaritmos respecto al valor basal en la semana 12 de tratamiento. Se realiza una matización respecto a esta respuesta si en RVP completa, es decir si el ARN del VHC es indetectable en la semana 12 o RVP parcial, si solo se consigue la bajada de dos logaritmos respecto al basal.

Determinación de la CV mediante una técnica cualitativa los 6 meses del inicio del tratamiento.

Respuesta al final del tratamiento (RFT). Se define como determinación ARN cualitativo en la semana 48 (al final del tratamiento). A los pacientes que obtienen una RFT que posteriormente presentan CV detectable a los 6 meses se les denominan pacientes recidivantes, para diferenciarlos de aquellos que no se ha obtenido respuesta virológica (pacientes sin respuesta o no respondedor).

Respuesta viral sostenida (RVS). Se caracteriza por la ausencia de ARN-VHC detectable (método cualitativo) en suero después de 6 meses de finalizar el tratamiento.

La introducción de patrones de respuesta viral durante el tratamiento como factores predictivos de RVS obliga a utilizar técnicas adecuadas para la determinación de ARN-VHC para luego tomar decisiones en función de sus resultados. Principalmente disponemos de dos técnicas comerciales diferentes para la detección de la ARN del VHC

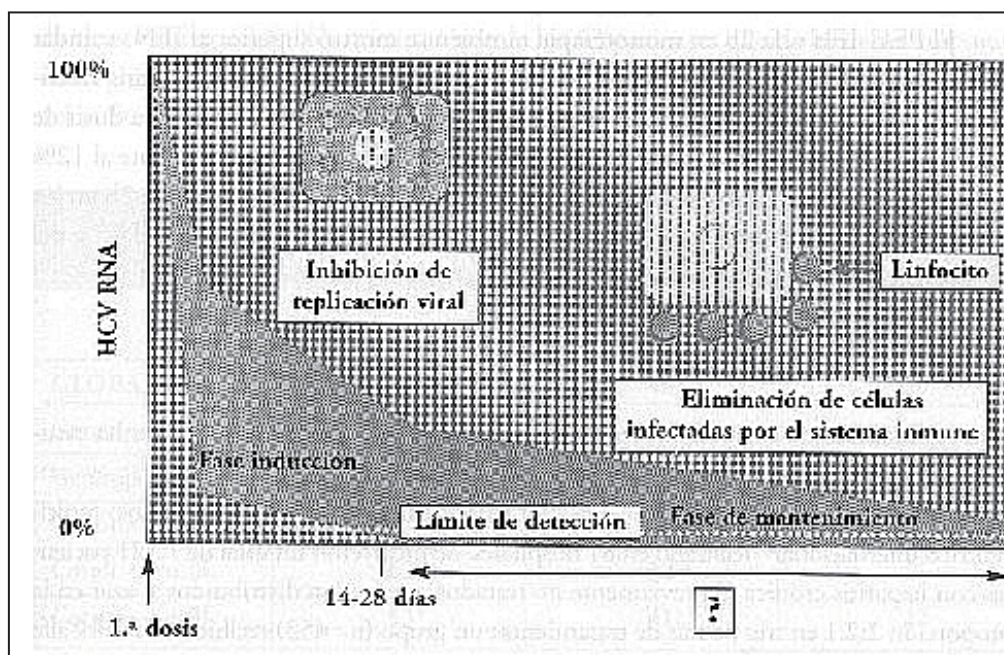
cualitativo que permiten identificar ARN a muy bajas concentraciones: los test por reacción en cadena de la polimerasa con sistema de transcriptasa inversa (RT- PCR) siendo los reactivos más utilizados (Amplicor® VHC y Cobas® Amplicor ®) con límites de detección de <50U/ml y el test de amplificación isotérmica basados en la transcripción (TMA) (Versant ® HCV ARN) con límites de detección de 5UI/ml.

2.6.2. CINÉTICA VIRAL DEL VHC.

Los niveles plasmáticos de ARN viral son un reflejo del equilibrio existente entre la producción y el aclaramiento viral. El tratamiento con interferon genera una respuesta viral en dos fases; la fase de inducción y la de mantenimiento. Dentro de la fase de inducción a su vez se divide en dos fases. En la primera fase de la inducción se produciría un descenso rápido de partículas virales, en 24-48 horas, debido a la inhibición de la producción viral en los hepatocitos infectados y bloqueo de su liberación. La pendiente de descenso en esta fase está relacionada con el genotipo y la dosis de interferon. La coinfección no sería un factor determinante, aunque como hemos comentado anteriormente estos pacientes característicamente presentan una carga viral del VHC más elevada, y se produciría un retraso en la eliminación viral. En la segunda fase de la inducción, se produce un descenso más lento de partículas virales, que suele establecerse hasta los 28 días, está determinada por la persistencia de la inhibición de replicación viral y la destrucción de células infectadas por el sistema inmunológico. Esta fase también el genotipo viral se relaciona con un mayor descenso así como el uso de INF-PEG, cuyo perfil farmacocinético evita los picos y valles que se producían con el INF convencional. Tampoco se han observado diferencias en esta fase en mono infectados y coinfectados, aunque sí con una mayor carga viral basal.

Las modificaciones de la viremia observadas en la segunda fase parecen tener un valor predictor de respuesta al tratamiento. De esta forma, según la respuesta al tratamiento en esta segunda fase se describen 3 patrones; rápido, lento y plano. La aplicación de este modelo matemático ha demostrado que los pacientes mono infectados por el VHC que tienen un perfil de respuesta plano no tiene posibilidades de alcanzar una RVS, y por tanto se beneficiarán de la suspensión precoz del tratamiento; en cambio los respondedores rápidos tienen un 67%, y los lentos un 27 % de posibilidades de RVS (88). La figura 8 ilustra la cinética viral del VHC después de la administración interferon.

FIGURA 8. Cinética Viral del ARN del VHC después de la administración con interferon (referencia 89)



Por ello es preciso encontrar, con ayuda de los métodos virológicos de cuantificación de la viremia durante el tratamiento, un perfil de modificación del ARN del VHC que permita predecir la respuesta al final del tratamiento. Los algoritmos de la semana 24 fueron los primeros que se usaron. Es decir una determinación positiva del

RNA en esta semana tiene un VPN del 100%, momento en que se debería suspender el tratamiento porque el paciente no va a tener respuesta virológica.

Posteriormente se realizaron los algoritmos en la semana 12. Los pacientes mono infectados que no consiguen una RVP, el 100% no tendrían respuesta al final del tratamiento (VPN del 100%), con un VPP aceptable del 72% (90-92). Si se analiza la RVP completa (RNA indetectable), obtendremos un VPN demasiado bajo, ya que hay pacientes que responden más lentamente.

Aunque hay algunos datos discordantes, parece que el aclaramiento del ARN del VHC en pacientes coinfectados por el VHC y VIH, se produce más lentamente en pacientes mono infectados (93). Por esa razón, las reglas de parar el tratamiento en función de la cinética viral no se aplicaron hasta tener estudios en pacientes coinfectados. Los primeros datos de la RVP provienen de los estudios que compararon el IFN estándar con IFN-PEG, y se obtuvieron tasas de RVP de entre 30-56%, más bajas que en mono infectados y con VPP más bajo, por una mayor tasa de recidivas en el paciente coinfectado.

2.6.3. FÁRMACOS PARA TRATAR LA HEPATITIS CRÓNICA POR VHC

El tratamiento de la hepatitis crónica C desde su descubrimiento en 1989, se basó en la administración de interferón durante un tiempo prolongado.

Los interferones son proteínas producidas de forma natural por el organismo que constituyen un componente integral del sistema inmunitario. Son citoquinas que actúan como mediadores intercelulares y desempeñan un importante papel en muchos acontecimientos metabólicos, inmunológicos y patológicos. El interferón alfa 2 (INF) constituye el pilar básico del tratamiento de la hepatopatía crónica por VHC por su

efecto antiviral, antiproliferativo e inmunomodulador (94). Además tiene una acción antifibrogénica actuando sobre los fibroblastos y las células de Ito del hígado e inhibiendo la producción de colágeno.

Posteriormente para el tratamiento de la hepatopatía por VHC se introduce el interferón Pegilado alfa (INF-PEG) que se obtiene mediante la unión fisicoquímica de una molécula de interferón alfa recombinante a una o varias moléculas de polietilenglicol, que prolonga su vida media lo cual permite una dosificación más cómoda y el mantenimiento de valores uniformes en sangre con el consiguiente beneficio en su acción antiviral. Los dos INF-PEG actualmente disponibles son muy diferentes en su estructura. El INF-PEG 2a está unido a una molécula de PEG ramificada de 40 kDa de peso molecular, lo que triplica el tamaño del INF estándar. Esta unión no es sensible a la hidrólisis, de manera que tras la inyección la molécula de INF-PEG circula e interacciona intacta. La absorción es más lenta que el INF-PEG 2b, y tarda más en alcanzar el estado estable. El volumen de distribución está limitado a la circulación y a órganos muy vascularizados como el hígado. Este limitado volumen de distribución hace que no requiera ajuste de dosis al peso.

Por el contrario el INF-PEG 2b se une a una molécula de 12 kDa, que aumenta su volumen algo menos que dos veces. Esta unión es sensible a la hidrólisis y una vez inyectado el INF se separa de la fracción PEG y circula por el organismo, comportándose en términos de metabolismo y excreción como el INF estándar. Tiene una absorción muy rápida y un amplio volumen de distribución, pero en pocos días declina a niveles indetectables. Dado el amplio volumen de distribución requiere que la dosis se ajuste al peso del paciente.

Esta diferente estructura justifica las diferencias farmacocinéticas entre ellos (95). También los aminoácidos que constituyen los puntos de unión a la molécula de

PEG son distintos en los dos INF-PEG, lo que puede variar su modo de interacción con el receptor y su actividad antivírica.

La Ribavirina (RBV) es un análogo de nucleósido con un amplio espectro de actividad contra virus ADN y ARN, de administración oral y cuyo mecanismo de acción no es completamente conocido. Se ha indicado que desempeña un papel inmunomodulador al favorecer la respuesta de tipo Th1. También parece ejercer una acción antiviral mediante la inhibición de la reinfección celular, o bien de forma directa al inhibir la inosin-monofosfato deshidrogenasa. Este efecto, no obstante no se correlaciona con su efecto clínico, ya que en la HCC la RBV determina un descenso o normalización de las transaminasas transitorio, limitado al período durante el que se administra el fármaco. No modifica los niveles de viremia ni induce mejoría de la histología, por lo que el papel de la monoterapia con RBV es poco relevante. Sin embargo, la administración oral de RBV ajustada al peso del paciente en combinación con interferón alfa consigue multiplicar el porcentaje de respuesta sostenida a la terapia (96).

2.6.4. TRATAMIENTO DE LA VHC EN PACIENTES COINFECTADOS.

Hasta hace pocos años el tratamiento de la hepatitis crónica por el VHC se basaba en la monoterapia con interferón alfa 2. Los resultados de este tratamiento, el único que estuvo disponible durante más de una década, fueron más bien decepcionantes, puesto que no más del 20% de los pacientes tratados presentaban una respuesta favorable (97).

Tabla IV: Experiencia con Interferón en monoterapia en pacientes coinfectados.

<i>Ensayo</i>	<i>Año</i>	<i>Respuesta fin</i>	<i>Sostenida</i>
Boyer	1992	B:4/12	B:1/12 (8%)
Marrito	1993	5/9	4/9 (44%)
Marcellin	1994	6/20	3/20 (15%)
Soriano	1996	26/80	18/80 (22%)
Soriano	1997	12/29	7/29 (24%)
Mauss	1998	8/17	5/17 (29%)
Causee	2000	11/63	7/63 (11%)
Prestileo	2000	1/41	1/41 (3%)
Bruno	2000	10/50	-/-
TOTAL		83/321	46/271
(%)		26%	17%

Boyer et al. J Infect Dis;165:723. **Marriott** et al. J Med Virol. 1993 Jun;40(2):107-11. **Marcellin** et al. Liver. 1994 Dec;14(6):302-7. **Soriano** et al. Clin Infect Dis. 1996 Sep;23(3):585-91. **Soriano** et al. Infect. 1997 Nov;35(3):225-30. **Mauss** et al. Infection. 1998 Jan-Feb;26(1):16-9. **Causee** et al. J Hepatol. 2000 Jun;32(6):1003-10. **Prestileo** et al. Int J Antimicrob Agents. 2000 Nov;16(3):373-8. **Bruno** et al. J Acquir Immune Defic Syndr. 2000 Dec 1;25(4):372-3.

En 1994 se añadió a la terapia con interferón la RBV. Varios estudios aleatorizados y controlados, que incluyeron un número muy elevado de pacientes, demostraron de forma concluyente que la administración oral de RBV en combinación con INF alfa 2 conseguía elevar el porcentaje de respuesta sostenida a la terapia (98) y que, en los pacientes coinfectados (99), la adición de interferón y RBV al tratamiento antirretroviral múltiple no interfería en el control de la infección por VIH-1. No obstante la tasa de RVS en los pacientes coinfectados se mantenía baja.

Tabla V: Experiencia con Interferón + Ribavirina en pacientes coinfectados.

<i>Ensayo</i>	<i>Año</i>	<i>Respuesta fin</i>	<i>Sostenida</i>
Pérez O	1999	6/11	5/11 (45%)
Sulkowski	1999	6/18	ND
Landau	2000	10/20	ND
Morsica	2000	8/11	ND
Zylberberg	2000	6/21	3/21 (20%)
Landau	2001	15/51	11/51 (21%)
Nasti	2001	5/17	3/17 (19%)
Sauleda	2001	ND	8/20 (40%)
TOTAL		56/149	30/120
(%)		37%	25%

Pérez O et al. J Acquir Immune Defic Syndr. 1999 Nov 1;22(3):308-9. **Sulkowski** et al. Hopkins HIV Rep. 1999 Jan;11(1):3, 10-2. **Landau** et al. AIDS. 2000 May 5;14(7):839-44. **Morsica** et al. AIDS. 2000 Jul 28;14(11):1656-8. **Zylbergberg** et al. Gut. 2000 Nov;47(5):694-7. **Landau** et al. Review AIDS. 2001 Nov 9;15(16):2149-55. **Nasti** et al. AIDS. 2001 Sep 28;15(14):1783-7. **Sauleda** et al. Hepatology. 2001 Nov;34(5):1035-40.

En los últimos años se ha incorporado a la terapia de la hepatitis crónica por el VHC interferón pegilado. De esta forma el interferón administrado semanalmente por vía subcutánea mantiene una actividad terapéutica continuada, que daría lugar a una mejora en la tasa de respuesta al tratamiento. Los resultados de estudios en monoterapia donde se comparaba el interferón convencional con el IFN-PEG y los datos preliminares de los trabajos que valoraban el uso de INF-PEG en combinación con ribavirina (100) confirmaron dicha hipótesis. Estos resultados prometedores propiciaron el diseño de diferentes estudios multicéntricos muy amplios, en los que se pretendía estudiar varias combinaciones de INF-PEG y RBV en los pacientes mono infectados. En el momento de diseño y ejecución del estudio no había ningún estudio randomizado publicado en que se valorara este tratamiento en pacientes coinfectados.

2.6.5. EFECTOS SECUNDARIOS DEL TRATAMIENTO DEL VHC.

Los efectos secundarios debidos al tratamiento con interferón y ribavirina son relativamente complejos. Uno de los elementos claves para asegurar la correcta toma de la medicación es la información precisa de los efectos secundarios que se van a desarrollar durante el tratamiento. El objetivo de esta información es facilitar el automanejo de estos efectos, intentar mejorar la tolerancia, incluso si es preciso prescribir tratamiento preventivo para evitar o disminuir determinadas manifestaciones clínicas. También es importante transmitir al paciente que el seguimiento estricto de la posología indicada en cada momento va a contribuir de forma muy importante a alcanzar el objetivo final.

La aparición de efectos secundarios durante el tratamiento antiviral es muy frecuente, determinan una morbilidad relativamente alta y contribuyen al deterioro de la calidad de vida durante el tratamiento. La sintomatología es diversa y su intensidad muy variable por lo que la tolerancia al tratamiento también es muy distinta de unos pacientes a otros (101). El apoyo psicológico y el estímulo al paciente para que cumpla adecuadamente el tratamiento son a menudo factores importantes del éxito terapéutico. En la tabla 6 se expone un listado no exhaustivo, de los principales efectos secundarios derivados del tratamiento con INF y RBV.

Tabla VI: Efectos adversos del tratamiento combinado con interferón y ribavirina

Atribuidos al interferón ¹

Frecuentes y generalmente leves

Pseudogripales: fiebre, cefalea, escalofríos, artralgias, dolor muscular

Generales: astenia, anorexia, adelgazamiento, impotencia

Neuropsiquiátricos: apatía, dificultad de concentración, irritabilidad, mal humor, insomnio, depresión leve.

Digestivos: Anorexia, náuseas, diarrea

Cutáneos: Rash, pérdida de cabello, eritema local

De laboratorio: granulocitopenia, trombocitopenia, aumento de triglicéridos.

Más graves pero menos frecuentes o raros

Neuropsiquiátricos: depresión mayor, intento de suicidio, suicidio, psicosis, delirio, confusión, ataxia, convulsiones, alteraciones extra-piramidales.

Inmunológicos: tiroiditis (hipo o hipertiroidismo), exacerbación de una enfermedad autoinmunitaria, psoriasis, sarcoidosis, fibrosis intersticial pulmonar, diabetes

Miscelánea: retinopatía, aplasia medular, impotencia, enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus.

Atribuidos a la ribavirina

Anemia hemolítica, tos seca, intolerancia digestiva, hiperuricemia

Teratogenicidad potencial.

1. Son similares si se utiliza interferón pegilado, con excepción de un mayor grado de neutropenia y plaquetopenia y de reacciones cutáneas.

Los principales efectos secundarios del INF son la astenia, los síntomas pseudogripales, los trastornos neuropsiquiátricos y los trastornos hematológicos. Merecen especial atención los efectos secundarios psiquiátricos que fueron objeto de estudio por nuestro grupo (102). En este estudio hasta el 40% de los pacientes presentaron sintomatología depresiva, de los cuales casi la mitad recibieron citalopram a dosis 20mg por ser diagnosticados de depresión moderada-severa. La mayoría de los pacientes se diagnosticaron en las primeras semanas del tratamiento y respondieron al tratamiento farmacológico. La incidencia de efectos secundarios depresivos asociados a la terapia fue superior a la descrita para los pacientes mono infectados y esto podría

relacionarse con el efecto neurotóxico del VIH-1 o bien estaría asociado a toxicidad neurológica de algunos antirretrovirales.

El interferón puede ocasionar neutropenia y trombocitopenia lo que hace necesario la vigilancia regular del hemograma y el ajuste de las dosis si fuera preciso. El INF también contribuye a la anemia, a través de una mielosupresión., junto con el descenso de plaquetas y leucocitos. Los INF-PEG son fármacos seguros. Los efectos secundarios son similares a los observados con INF clásico, con excepción de un mayor grado de trastornos hematológicos así cómo de reacciones cutáneas que generalmente son leves.

El efecto secundario más frecuente de la RBV es la anemia hemolítica y es dependiente de la dosis administrada. El mecanismo patogénico concreto es desconocido, pero parece estar relacionado con el estrés oxidativo a nivel de la membrana del hematíe y con la acumulación eritrocitaria de metabolitos trifosfato de la RBV que favorecerían el desarrollo de hemólisis extravascular (103). La hemólisis determina con frecuencia un descenso moderado de la concentración de hemoglobina que aparece en las primeras semanas de tratamiento y no es progresivo.

Dado que la RBV se elimina por vía renal se debe ajustar la dosis en función del aclaramiento de creatinina para evitar dosis inadecuadamente elevadas de RBV que promuevan la aparición de anemia.

En aquellos casos en que se produzca una anemizaci3n que requiera modificar la dosis de ribavirina se deberí3a considerar la utilizaci3n de factores de crecimiento, como la eritropoyetina. En los pacientes tratados con eritropoyetina: el nivel de hemoglobina es más alto, la reducci3n de dosis es menos frecuente y lo que es más importante, se consigue mantener dosis más elevadas de RBV, lo que se asocia a una mayor probabilidad de conseguir RVS en pacientes mono infectados (104). En el estudio

APRICOT realizado en pacientes coinfectados, la tasa de RVS fue similar en los pacientes que no requirieron eritropoyetina que en los que sí fueron tratados con eritropoyetina y significativamente mayor que en aquellos pacientes que requirieron modificar la dosis de RBV (105).

En algunos casos la hemoglobina se recupera espontáneamente pero en otros obliga a disminuir la dosis del fármaco o incluso retirarlo definitivamente del tratamiento. Por este motivo, a los pacientes afectos de anemias crónicas o a los portadores de cardiopatías moderadas o graves, la terapia combinada con interferón y ribavirina sólo puede ser recomendada con cautela y valorando cuidadosamente el riesgo y el beneficio que puede reportar.

Asimismo, la RBV tiene un efecto teratógeno que contraindica el embarazo durante el tratamiento y los seis meses siguientes de finalizar el tratamiento.

Afortunadamente, la mayoría de los efectos secundarios son de fácil manejo clínico; sin embargo debemos tener presente que alrededor del 14-21% de los pacientes presentan síntomas que conducen a la interrupción del tratamiento.

En general, el espectro de efectos adversos descritos en el paciente coinfectado es similar al de los pacientes mono infectados. Sin embargo, existen algunos efectos secundarios que podrían potenciarse con el VIH-1 y el tratamiento antirretroviral. En relación al tratamiento antirretroviral, puntualizar que es importante no administrar de forma concomitante didanosina con RBV por aumentar el riesgo de toxicidad mitocondrial en forma de acidosis láctica y/o pancreatitis (106, 107). Este efecto secundario poco frecuente, pero con una alta tasa de mortalidad. Estos hallazgos han conducido a que la FDA recomiende evitar el uso de forma concomitante de didanosina y RBV (13). También se debería evitar en la medida de lo posible, la administración de zidovudina junto a RBV porque aumenta la probabilidad de presentar anemia (108).

3. OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo de esta tesis ha sido profundizar en el conocimiento y manejo de la hepatitis crónica por VHC en el paciente infectado por el VIH, poniendo especial atención en la detección de la fibrosis hepática de forma no invasiva, la búsqueda del tratamiento antiviral más eficaz para tratar el VHC y el estudio farmacocinético del tratamiento antirretroviral en pacientes con insuficiencia hepática.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1- Estudio de los marcadores no invasivos de fibrosis hepática:

1.1. Estudiar la correlación existente entre marcadores directos e indirectos de fibrosis hepática y el grado de fibrosis diagnosticado por biopsia en el paciente coinfectado por el virus VIH- VHC.

1.2. Obtener un modelo matemático con marcadores serológicos no invasivos para predecir el grado de fibrosis hepática en el paciente coinfectado.

1.3. Comparar los modelos matemáticos más utilizados de marcadores no invasivos para detectar fibrosis avanzada en el paciente coinfectado por el VIH- VHC.

2. Evaluación de las pautas terapéuticas para tratar el VIH en el paciente coinfectado por VIH.

2.1. Obtener datos acerca de la eficacia y seguridad del tratamiento combinado con interferón alfa 2b pegilado y ribavirina en comparación con el tratamiento combinado clásico con interferón alfa 2b y ribavirina.

2.2. Evaluación de la respuesta virológica precoz (RVP) en pacientes que recibieron tratamiento combinado con interferón alfa 2b pegilado y ribavirina en

comparación con el tratamiento combinado clásico con interferón alfa 2b y Ribavirina.

2.3. Comparar la eficacia y seguridad del tratamiento INF- PEG 2a versus INF- PEG 2b, combinado ambos grupos con ribavirina ajustada por peso del paciente.

3. Farmacocinética de Fosamprenavir (FOS) / ritonavir (RIT) en el paciente con insuficiencia hepática.

3.1. Comparar la farmacocinética de FOS/RIT en pacientes con insuficiencia hepática leve a dosis de FOS 700mg/12h junto Ritonavir 100mg/24h, con pacientes con función hepática normal que reciben dosis estándar de FOS 700mg/12h y RIT 100mg/12h.

3.1. Comparar la farmacocinética de FOS/RIT en pacientes con insuficiencia hepática moderada y severa en diferentes posologías, con la farmacocinética de pacientes sin afectación hepática tratados a las dosis estándar de FOS/RIT.

4. PUBLICACIONES

Artículo 1:

Larrousse M, Laguno M, Segarra M, De Lazzari E, Martínez E, Blanco JL, León A, Murillas J, Deulofeu R, Miquel R, Milinkovic A, Biglia A, Loncá M, Gatell JM^a; Mallolas J.

Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients.

JAIDS 2007; 46:304-311.

Noninvasive Diagnosis of Hepatic Fibrosis in HIV/HCV-Coinfected Patients

María Larrousse, MD,* Montserrat Laguno, MD,* Marta Segarra, PhD,† Elisa De Lazzari,‡ Esteban Martínez, MD,* José Luis Blanco, MD,* Agathe León, MD,* Ramón Deulofeu, PhD,§ Rosa Miquel, MD,|| Ana Milinkovic, MD,* Montserrat Lonca, MD,* José María Miró, MD,* Alejandra Biglia, MD,* Javier Murillas, MD,* José María Gatell, MD,* and Josep Mallolas, MD*

Background: Several serum markers reflecting extracellular matrix status have been correlated with liver fibrosis in non-HIV-infected patients with chronic hepatitis C infection. These indexes have been less examined in HIV/HCV-coinfected individuals.

Objective: We aimed to evaluate the predictive value of serum markers for liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C virus (HVC).

Methods: Serum levels of metalloproteinases 1 and 2 (MMP-1 and -2), tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP-1), procollagen type III N-terminal peptide (PIIINP), and hyaluronic acid (HA) were measured in HIV-infected patients with chronic hepatitis C at the time of obtaining a liver biopsy and before the consideration of anti-hepatitis C therapy.

Results: One hundred and nineteen consecutive HIV-HVC coinfecting patients were included. TIMP-1 ($r = 0.6$; $P < 0.001$), TIMP-1/MMP-1 ratio ($r = 0.5$; $P < 0.001$), TIMP-1/MMP-2 ratio ($r = 0.3$; $P < 0.001$), MMP-2 ($r = 0.2$; $P = 0.044$), PIIINP ($r = 0.4$; $P < 0.001$), and HA ($r = 0.5$; $P < 0.001$) were positively and significantly correlated with the fibrosis stage. In the multivariate analysis, TIMP-1 (odds ratio [OR] = 1.004, 95% confidence interval [CI]: 1.002 to 1.006, $P = 0.001$) and HA $>95 \mu\text{g/dL}$ (OR = 6.041, 95% CI: 1.184 to 30.816, $P = 0.031$) were independently associated with liver fibrosis. The area under the curve of score to discriminate mild (F0–F1) from significant (F2–F4) fibrosis in the receiver-operating analysis using the variables TIMP-1 and HA was 0.84, with a sensitivity of 72.9% and a specificity of 83.1%.

Conclusion: TIMP-1 and HA were quite sensitive and specific for predicting the degree of liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. These parameters may become a noninvasive

alternative to liver biopsy when the degree of liver fibrosis needs to be estimated.

Key Words: noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis, HIV/HCV-coinfecting patients, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP-1), hyaluronic acid (HA)

(*J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;46:304–311)

Liver disease caused by chronic hepatitis C virus (HCV) infection has become a major cause of morbidity and mortality among HIV-infected patients in the developed world, because HIV-related opportunistic events have declined dramatically as a result of the widespread use of highly active antiretroviral therapy.^{1,2} Chronic hepatitis C progresses more quickly to liver fibrosis in HIV-infected patients than in HIV-seronegative, immunocompetent individuals.³ In addition, HIV infection accelerates the occurrence of decompensated HCV-related cirrhosis which in turn increases morbi-mortality.^{4,5} Therefore, an adequate management of HCV-related chronic liver disease constitutes a priority in the care of coinfecting patients.

Liver biopsy remains the gold standard for assessing the degree of liver fibrosis. Unfortunately, liver biopsy is an invasive procedure requiring a short hospital admission.^{6–8} The degree of liver fibrosis determines the evolution of liver disease, the indication for therapy, and the probability of response. Several efforts have been made to evaluate non-invasive markers.⁹ Platelet counts¹⁰ and alanine aminotransferase (ALT)/aspartate aminotransferase (AST) ratio¹¹ have been used, but their results have been disappointing. Although some specific individual scores were promising in detecting cirrhosis in HCV-infected patients,^{12,13} their diagnostic accuracy has been lower in HIV/HCV-coinfecting patients.¹⁴

Liver fibrosis is considered a dynamic process characterized by an imbalance between the deposition and the degradation of the extracellular matrix.¹⁵ Among the most extensively studied noninvasive markers of liver fibrosis in chronic hepatitis C are procollagen type III–N-terminal peptide (PIIINP), a cleavage product of collagen precursor that is a marker of fibrogenesis, and hyaluronic acid (HA), a proteoglycan of connective tissue.^{16,17}

Markers of connective tissue matrix remodeling such as metalloproteinases (MMPs) and the specific tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) have been shown to correlate

Received for publication January 23, 2007; accepted July 13, 2007.

From the *Infectious Diseases Unit, †Biochemistry, ‡Biostatistics and Epidemiology, §Biochemical Service, and ||Pathology Service, Hospital Clínic Universitari de Barcelona-IDIBAPS, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

Dr. Larrousse was supported in part by the Spanish Ministry of Health (FIS 2006).

Presented at Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICCAC), December 2005.

Correspondence to: María Larrousse, MD, Infectious Diseases Unit, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain (e-mail: mlarrou@clinic.ub.es, maria.larrousse@gmail.com).

Copyright © 2007 by Lippincott Williams & Wilkins

with the development of cirrhosis in patients with chronic hepatitis C,^{18–21} but there are few reports in HIV-infected patients with chronic hepatitis C.

The aim of this study was to measure the serum levels of MMP-1, MMP-2, TIMP-1, PIIINP, and HA serum levels in a cohort of HIV-infected patients with chronic hepatitis C who had concomitant liver biopsy available; to correlate them with the degree of liver fibrosis; and to assess their predictive value for the stage of liver fibrosis compared with other reported scores.

METHODS

Patients

Consecutive HIV-infected patients with chronic hepatitis C who gave informed consent for a liver biopsy as part of their routine assessment before the consideration of anti-hepatitis C therapy were eligible. Inclusion criteria were previously untreated chronic hepatitis C with measurable plasma HCV RNA, alanine aminotransferase (ALT) >1.5-fold the upper limit of normal, a CD4 cell count 250×10^6 cells/L, and a plasma HIV-1 RNA <200 copies/mL in response to a stable antiretroviral treatment. Exclusion criteria were causes of liver disease other than hepatitis C, decompensated cirrhosis, autoimmune disease, cardiovascular disease, pregnancy, and any symptomatic intercurrent infection.

Serum HCV and HIV Markers

Anti-HCV antibodies were measured using a third-generation enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Serum HCV RNA levels were measured by a quantitative polymerase chain reaction (PCR) assay at baseline (Cobas AmpliPrep/Cobas Amplicor HCV Monitor Test version 2.0; sensitivity 500 copies/mL; Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ). HCV genotyping was carried out as described previously.²² HIV-1 RNA (Amplicor Monitor; Roche) and CD4 cell counts (dual-color flow cytometry) were measured at the time of the liver biopsy. For the purpose of the analysis, HIV RNA measurements below the limit of detection ($2.30 \log_{10}$ copies/mL) were assigned the detection limit's value.

Histological Analysis

Ultrasonographic-guided liver biopsy was performed in all the patients using a 16-gauge needle. The biopsies were fixed, paraffin-embedded, and stained with hematoxylin-eosin and Masson's trichrome. All biopsy samples were analyzed by an experienced pathologist, blinded to clinical information, who graded each sample according to Scheure's²³ classification: no fibrosis (F0), portal fibrosis without septa (F1), portal fibrosis with few septa (F2), portal fibrosis with numerous septa without cirrhosis (F3), and cirrhosis (F4). Liver biopsy samples were considered to be insufficient for appropriate analysis in 31 patients of the 150 patients evaluated.

Laboratory Parameters

A serum sample from each patient was collected at the time of the liver biopsy and subsequently stored at -80°C . The measurements of TIMP-1, MMP-1, and MMP-2 serum

levels were based on a 2-site ELISA sandwich format (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) according to manufacturer instructions. AST, ALT, platelet counts, and prothrombin time were measured by autoanalyzer (Hitachi 917 Automate) and reagents (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Albumin was assessed by the bromocresol green method.

Serum levels of HA was determined by ELISA using a kit from Corgenix (Westminster, CO) and following the instructions of the manufacturer. Serum HA concentrations in healthy subjects have been reported to be within the range of 10 to 95 $\mu\text{g/mL}$.¹⁷ For the purpose of the study, we considered serum HA values higher than 95 $\mu\text{g/mL}$ as abnormal values. PIIINP were assayed using an immunoradiometric assay with monoclonal antibodies (Type III procollagen Intact PIIINP RIA; Orion Diagnostica, Espoo, Finland).

Statistical Analysis

Descriptive statistics of the baseline variables were expressed as medians and interquartile ranges (IQRs) for quantitative variables and as absolute frequencies and percentages for qualitative variables. Wilcoxon rank-sum and χ^2 tests (or Fisher's exact test when appropriate) were used for comparisons among continuous and categorical variables, respectively. In particular, demographic, epidemiologic, clinical, and biochemical characteristics were compared at baseline, with the aim of ensuring equality among groups. Spearman's correlation coefficient (r) was used to estimate the correlation between fibrosis index stages and serum markers.

Because F2 is generally chosen as a threshold for treatment recommendation of chronic HCV infection,²⁴ the fibrosis index was arbitrarily dichotomized into significant (F2–F4) and no significant (F0–F1) fibrosis, and a logistic regression model was applied to identify factors associated with significant fibrosis. Area under receiver operating characteristic (ROC) curve was reported as a measure of the predictive power of the adjusted model. Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values for different cut-offs were calculated. Area under ROC curves using previously reported scores^{12,13,25} and our own score were compared using an algorithm²⁶ based on a χ^2 distribution.

All analysis was performed using STATA software version 8.0 (Stata Corp., College Station, TX) at the biostatistics unit of the hospital.

RESULTS

Patients' Characteristics

Baseline characteristics of the 119 patients included in the study are shown in Table 1. Most patients were male (66%). Their median age was 39 years, and 77% had a history of injection drug use. The mean time of known HCV infection was 19 years. The most common HCV genotypes in our series were 1 and 3 (56% and 29%, respectively). Fifty-two percent of the study participants had a fibrosis index of grade 2 or above, and one third had a bridging fibrosis or cirrhosis in the liver biopsy. The stage of fibrosis was distributed as follows:

TABLE 1. Baseline Characteristic of the Total Group After Stratifying for the Degree of Fibrosis

	Patients With Fibrosis F0–F1	Patients With Fibrosis F2–F4	Total
Median age, y (IQR)	38 (35, 41)	40 (37, 42)	39 (36, 42)
Women, % (n)	36	31	34 (740)
Daily consumption of alcohol >40 gr, % (n)	20	25	23 (27)
Median duration of HIV disease, y (IQR)	11.5 (7.5, 15)	12 (8, 14)	12 (8, 15)
CDC stage, %			
A	63	64	63
B	10	6	8
C	28	30	30
Median CD4 lymphocyte count, $\times 10^6$ cells/L (IQR)	495 (383, 716)	546 (344, 772)	515 (358, 740)
Median duration of HVC infection, y (IQR)	19 (15, 21)	19 (16, 21)	19 (15, 21)
History of injection drug abuse, % (n)	75	79	77 (92)
Median serum HCV-RNA, copies/mL (n)	918,000	928,000	923,000 (43,500, 1,850,000)
Genotype, % (n)			
1	59	53	56 (67)
2	1	0	1 (1)
3	27	32	29 (34)
4	13	16	14 (17)
NNRTI total, mo (IQR)	17 (9, 30)	23.5 (11.5, 29.5)	20 (10, 30)
NRTI total, mo (IQR)	69.5 (44, 101)	72 (42.5, 100.5)	71 (44, 101)
PI total, mo (IQR)	36 (25, 49)	34 (20.5, 50)	36 (22, 50)

IQR indicates interquartile range; HCV, hepatitis C virus; NNRTI total, total exposure time to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; NRTI total, total exposure time to nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PI total, total exposure time to protease inhibitor therapy.

F0, n = 22 (19%); F1, n = 36 (30%); F2, n = 24 (20%); F3, n = 19 (16%); F4, n = 18 (15%).

Laboratory Parameters

The median (IQR) values of different laboratory parameters were ALT 89 U/L (62 to 142), AST 67 U/L (147 to 92), albumin 44 g/L (42 to 46), platelet counts $198 \times 10^9/L$ (156 to 231), TIMP-1 774 ng/mL (640 to 1005), MMP-1 4.8 ng/mL (3.9 to 6), MMP-2 740 ng/mL (538 to 860), PIIINP 5.6 ng/mL (4.6 to 6.8), and HA 25 $\mu\text{g/mL}$ (14.7 to 45).

Degree of Liver Fibrosis Versus Demographic and Biochemical Markers

In our series, the patients with lower degree of fibrosis were younger than those with a more severe liver disease. We did not find correlations between any antiretroviral treatment and the degree of fibrosis (Table 1). AST and ALT plasma levels were higher in patients with significant fibrosis, but this correlation disappeared after adjustment by the other factors included in the study (Table 2).

Serum Levels of MMP-1, MMP-2, TIMP-1, PIIINP, and HA Versus Liver Fibrosis

Serum levels of TIMP-1 ($r = 0.6$, $P < 0.001$), MMP-2 ($r = 0.2$; $P = 0.044$), PIIINP ($r = 0.4$, $P < 0.001$), and HA ($r = 0.5$, $P < 0.001$) were positively and significantly correlated with degree of fibrosis (Fig. 1), but MMP-1 was not. Moreover, TIMP-1/MMP1 ($r = 0.5$, $P < 0.001$) and TIMP-1/MMP2 ($r = 0.3$, $P < 0.001$) were also positively correlated with the degree of fibrosis.

Increased serum levels of TIMP-1 (odds ratio [OR] = 1.005, 95% confidence interval [CI]: 1.003 to 1.007, $P <$

0.001), TIMP-1/MMP-1 ratio (OR = 4.475, 95% CI: 2.240 to 8.938, $P < 0.001$), TIMP-1/MMP-2 ratio (OR = 2.020, 95% CI: 1.239 to 3.292, $P < 0.05$), PIIINP (OR = 1.433, 95% CI: 1.186 to 1.731, $P < 0.001$), AST (OR = 1.019, 95% CI: 1.007 to 1.032, $P = 0.002$), and decreased transformed square platelet count (OR = 0.765, 95% CI: 0.635 to 0.922, $P = 0.005$) were significantly associated with fibrosis in the univariate analysis. In the multivariate model that included HA as a categorical variable (HA >95 $\mu\text{g/mL}$; HA ≤ 95 $\mu\text{g/mL}$), the independent factors predicting a degree of liver fibrosis were TIMP-1 (OR = 1.004, 95% CI: 1.002 to 1.006, $P = 0.001$) and HA >95 (OR = 6.041, 95% CI: 1.184 to 30.816, $P = 0.031$) over a sample of 119 patients with completed data (Table 2). In the multivariable model, when HA was considered as a continuous variable, TIMP-1 (OR = 1.003, 95% CI: 1.000 to 1.005, $P = 0.021$) and HA (OR = 1.022, 95% CI: 1.002 to 1.042, $P = 0.032$) were independently associated with fibrosis. Nine patients were excluded from the latter model because they had extremely elevated values of HA. It is important to emphasize that these patients, as expected, had a high degree of liver fibrosis in their biopsy. Necroinflammatory activity was also significantly associated with fibrosis in the multivariate analysis (OR = 1.945, 95% CI: 1.307 to 2.893, $P < 0.001$).

Liver Fibrosis Prediction With MMP-1, MMP-2, TIMP-1, PIIINP, and HA

Area under ROC curve was used to determine the ability of each serum marker to discriminate fibrosis stages F2/F3/F4 from F0/F1. TIMP-1 was the best marker to discriminate moderate fibrosis (F2, F3, F4) from stages below F2, with an area under the ROC curve of 0.82. Using a cut-off value of

TABLE 2. Variables Associated With the Presence Of Significant Fibrosis (F2–F4) on the Univariate and Multivariate Analysis

Variable		Univariate Odds Ratio	(95% CI)	P	Multivariate Odds Ratio	(95% CI)	P
TIMP-1	Unitary increment	1.005	(1.003, 1.007)	0.001	1.004	(1.002, 1.006)	0.001
MMP-1	Unitary increment	1.032	(0.828, 1.285)	0.780			
MMP-2	Unitary increment	1.001	(1.000, 1.002)	0.235			
PIIINP	Unitary increment	1.433	(1.186, 1.731)	0.001			
TIMP-1/MMP-1	2-fold value	4.475	(2.240, 8.938)	0.001			
TIMP-1/MMP-2	2-fold value	2.020	(1.239, 3.292)	0.005			
HA	≤95	1			1		
	>95	15.750	(3.489, 71.107)	0.001	6.041	(1.184, 30.816)	0.031
Square platelet count	Unitary increment	0.765	(0.635, 0.922)	0.765			
ALT (UL/L)	Unitary increment	1.004	(0.997, 1.010)	0.271			
AST/ALT ratio	≤1	1					
	>1	1.273	(0.485, 3.345)	0.624			
AST (UL/L)	Unitary increment	1.019	(1.007, 1.032)	0.002			
Cholesterol	Unitary increment	0.996	(0.7, 1.004)	0.322			
Bilirubin	Unitary increment	0.934	(0.646, 1.351)	0.718			
Age	Unitary increment	1.057	(0.978, 1.143)	0.165			
Sex	Men	1		0.797			
	Women	1.082	(0.497, 2.356)				
Duration of HIV disease	Unitary increment	1.016	(0.943, 1.095)	0.677			
Duration of HCV disease	Unitary increment	0.987	(0.900, 1.082)	0.772			
HCV-RNA	2-fold value	0.939	(0.752, 1.174)	0.582			
Genotype	1 + 4	1					
	2 + 3	0.916	(0.402, 2.085)	0.834			
Alcohol >40 gr/d	1	0.706	(0.113, 4.399)	0.709			

TIMP-1 indicates tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1; MMP1 and MMP2, matrix metalloproteinases 1 and 2; PIIINP; TIMP-1/MMP-1, ratio of TIMP-1/MMP-1; TIMP-1/MMP-2, ratio of TIMP-1/MMP-2; HA, hyaluronic acid; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase.

908.5 ng/mL, the sensitivity was 65% and the specificity was 85%. The next most useful test was HA, with an area under the ROC curve of 75. Using a cut-off value of 39 μg/mL, the sensitivity was 60% and the specificity 88%. Two biochemical parameters were found to be independently associated with fibrosis F2/F3/F4 stage in the multivariate analysis: TIMP-1 (OR = 1.004, 95% CI: 1.002 to 1.006, P = 0.001) and HA >95 μg/mL (OR = 6.041, 95% CI: 1.184, 30.816; P = 0.031). The area under the ROC curve of both parameters was 0.84 (Fig. 2). The sensitivity, specificity, and negative and positive predictive value are shown in Table 3. The correlation between the score index and the estimated probability of significant fibrosis can be seen in Figure 3.

Liver Fibrosis Prediction in Our Cohort Versus APRI, Forns, and SHASTA

The Forns,¹² AST to platelet ratio index (APRI),¹³ and serum testing for HA, albumin, and AST (SHASTA)²⁵ scoring systems were applied to our sample in 85 patients who had all the parameters. For Forns score, the area under the ROC curve was 0.67 and the positive predictive value 63%. With APRI score, the area under the ROC curve was 0.71, the specificity 100%, and the positive predictive value 63%. Using the SHASTA index, the area under the ROC curve result was better than the others (0.79), but it should be noted that albumin levels in all of our patients were >3.5 mg/mL (Fig. 4).

DISCUSSION

We have shown that there is a correlation between the degree of liver fibrosis and several serum markers of extracellular matrix remodeling and fibrogenesis. The serum levels of TIMP-1 reflect the expression of TIMP-1 in the liver in HCV-monoinfected patients, and both measurements are related to the severity of the liver disease.^{27–29} In fact, an increased amount of TIMP-1 in liver tissue is considered to promote matrix accumulation by slowing down collagen breakdown. The ratio between TIMPs and MMPs, an essential determinant for the development of liver fibrosis,³⁰ was also correlated with the degree of liver fibrosis in our cohort.

In contrast to monoinfected patients, there are few data on the usefulness of these markers in the progression of fibrosis in the HIV/HCV-coinfected patients. To our knowledge, only 1 study showed higher levels of serum TIMP-1 in HIV/HCV-coinfected patients compared to HIV patients without HCV infection,³¹ but the number of patients was small and liver biopsy was not done. In addition, HIV infection seems to be modulating in vivo the expression of MMPs, decreasing dramatically the levels of mRNA of these proteolytic enzymes.³²

Our results also confirm that HA and PIIINP are correlated with the degree of fibrosis in HIV/HCV-coinfected patients,^{20,33} but HA was more correlated with liver fibrosis than PIIINP was.

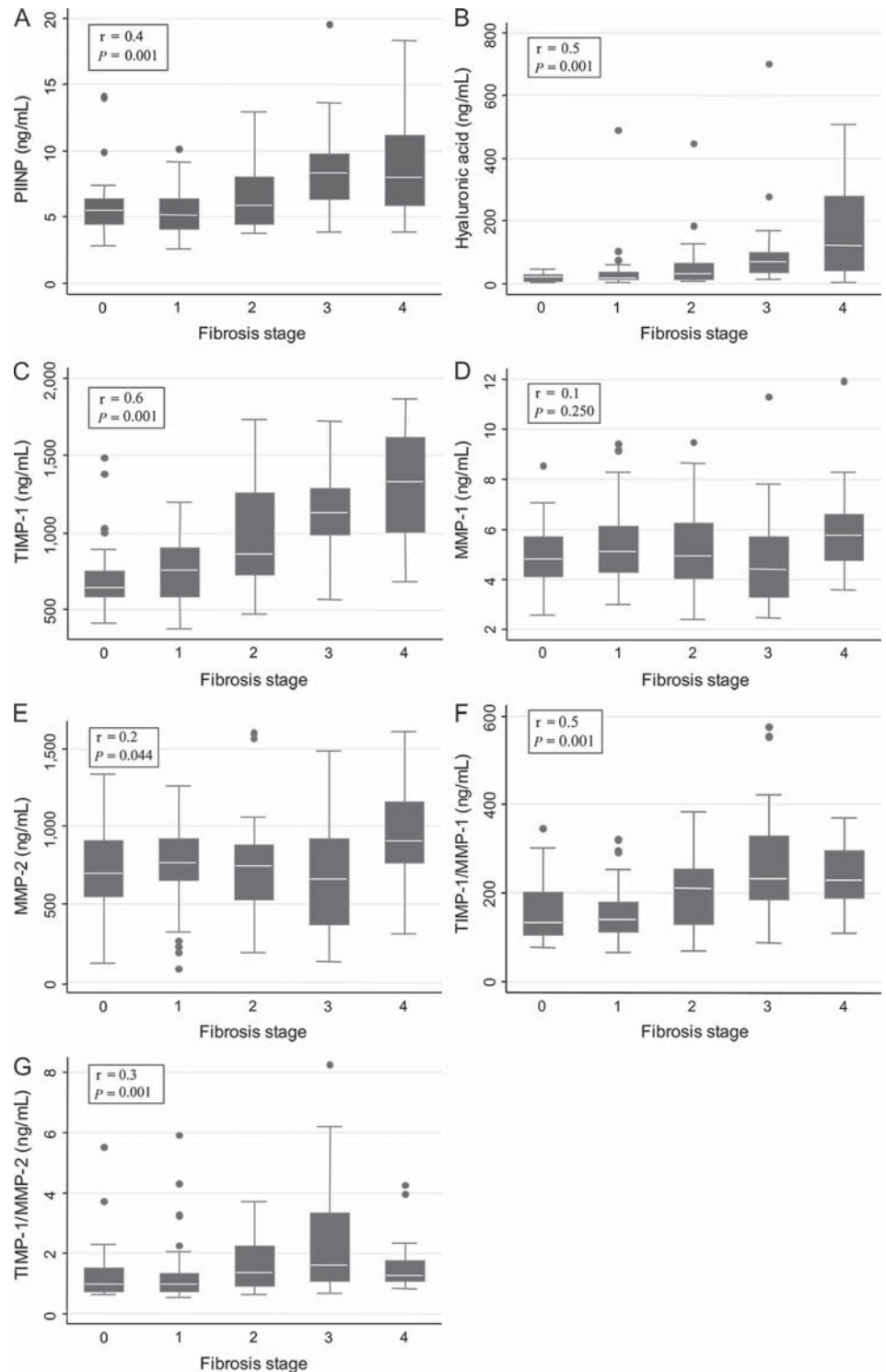


FIGURE 1. Spearman's correlations between (A) procollagen type III N-terminal peptide, or PIINP; (B) hyaluronic acid, HA; (C) tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-1, TIMP-1; (D) matrix metalloproteinase 1, MMP-1; (E) matrix metalloproteinase 2, MMP-2; and ratios (F) TIMP-1/MMP-1 and (G) TIMP-1/MMP-2 serum concentrations and Scheuer's fibrosis stage.

Liver biopsy is an invasive procedure, and several complications can occur.⁶⁻⁸ Additionally, the information provided by the liver biopsy is static and does not reflect either the ongoing balance between extracellular matrix production and degradation or the rate of progression towards cirrhosis. For this reason, the markers we used were based on the

physiopathology of liver fibrosis. We hypothesized that detection of soluble markers of matrix remodeling would offer additional information to liver biopsy and would be useful to detect the progression or regression of fibrosis and the response to changes in lifestyle or antiviral therapies.³⁴⁻³⁷ In fact, noninvasive markers of fibrosis might be more accurate

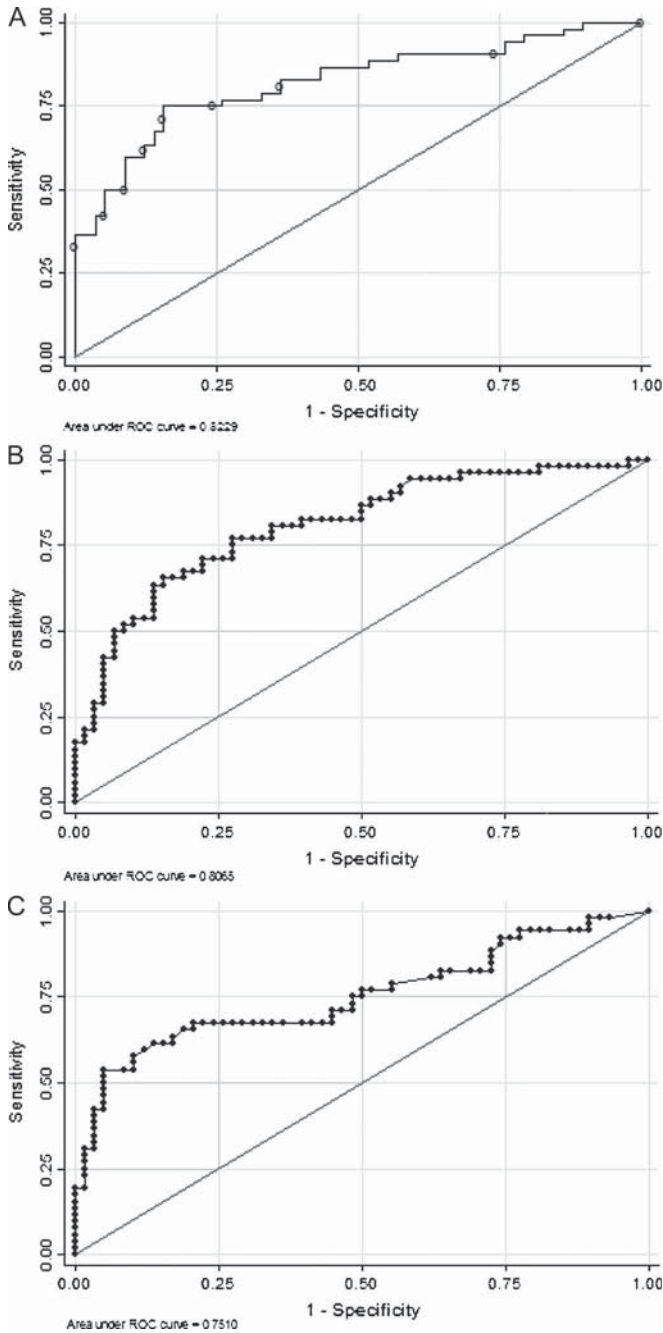


FIGURE 2. A, Receiver operating characteristic (ROC) curve testing ability of TIMP-1 and HA to identify extensive fibrosis (Scheuer’s classification F0–F1 versus F2–F4). Area under the curve is 0.84. B, ROC curve testing ability of TIMP-1 to identify extensive fibrosis. C, ROC curve testing ability of HA to identify extensive fibrosis.

than biopsy, as recently suggested.³⁸ The authors concluded that liver biopsy was responsible for most of the significantly discordant results (18%, as opposed to 2% due to fibrosis markers), mainly as a result of sampling error.

In accordance with other reports, in our study HIV/HCV-coinfected patients were younger and had a higher

TABLE 3. Different Cut-Off Points Reflecting the Fibrosis Score From the Final Regression Model, Including HA and TIMP-1, Above Which Liver Disease Is Considered Significant and Below Which It Is Not Considered Significant

Cut-Off	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Correctly Classified
0.1	100	0	47.3	0	47.3
0.2	90.3	25.8	52.2	75	56.7
0.3	80.8	64.8	66.7	78.7	71.8
0.4	75	75.7	73.6	77.2	75.5
0.5	71.2	84.5	80.4	76.6	78.2
0.6	61.5	87.9	82.1	71.8	75.5
0.7	50	91.4	83.9	67.1	71.8
0.8	42.3	94.8	88	64.7	70
0.9	32	100	100	62.4	68.2

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

progression to fibrosis compared with monoinfected HCV patients.⁴ This emphasizes the need to develop and validate specific scores to know the degree of fibrosis in this population.

We were interested in finding predictors for septal fibrosis (F2–F4), a point at which interferon and ribavirin therapy is generally recommended.²⁴ For this reason we investigated the diagnostic potential of PIINP, HA, MMPs, and TIMP-1 serum levels as noninvasive markers of liver fibrosis. We developed a score from the multivariate analysis combining TIMP-1 and HA serum levels, because they were identified as the best markers of liver fibrosis in our series, and we obtained good results, with an area under the curve of 0.84. Similar results were found in the international cohort of the European Liver Fibrosis (ELF) study with surrogate serum markers of liver fibrosis and fibrosis stage in liver biopsies of HCV-infected patients.²¹

Few studies have evaluated the potential of biochemical serum markers to differentiate mild from significant fibrosis. Among these studies, Fibrotest is the most validated test for noninvasive assessments of liver fibrosis. Fibrotest uses 5 or

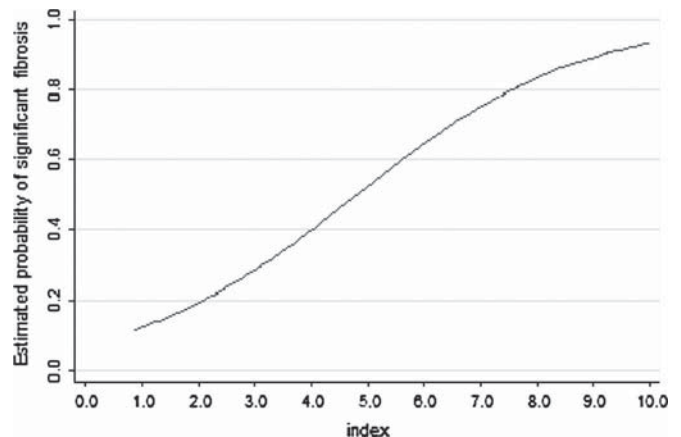


FIGURE 3. Correlation between the score index and the estimated probability of significant fibrosis.

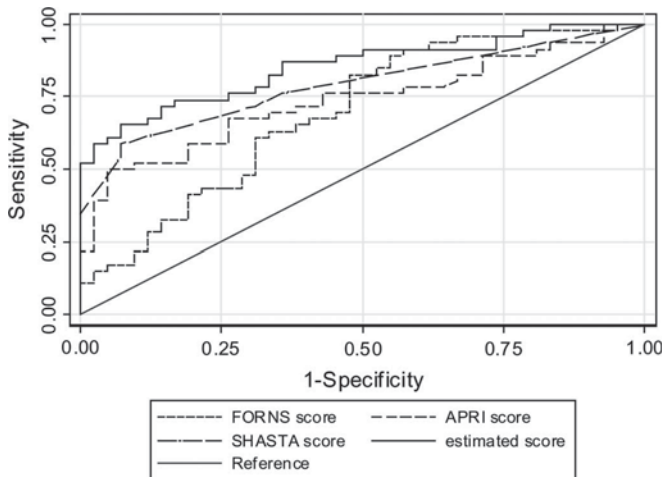


FIGURE 4. ROC curve comparing APRI index, FORNS, SHASTA score and our estimated score.

6 indirect biomarkers of fibrosis, including apolipoprotein A1, haptoglobin, alfa2 macroglobulin, gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and total bilirubin, and gamma globulin, to differentiate F0–F1 from F2–F4, obtaining an area under the curve of 0.82 in the estimation group to 0.85 in the validation group.⁹ Fibrotest has been studied in a cohort of HIV/HCV-coinfected patients³⁹ that also found that Fibrotest was able to distinguish between F2–F4 and F0/F1 with an area under the curve of 0.85. A potential limitation for Fibrotest may be the impact that antiretroviral therapy may have on several of the parameters used to calculate the score, such as GGT, total bilirubin, and lipoprotein A1. No data are given on the antiretroviral drugs used in the recent publication of Fibrotest in HIV-infected patients. This potential limitation with Fibrotest in HIV-infected patients should not be expected with the laboratory parameters used in our study, although controlled studies are needed to confirm this contention.

A model to predict liver fibrosis has been recently developed with data from the AIDS Pegasis (peginterferon alfa-2a) Ribavirin International Co-infection Trial (APRICOT) study with an area under the curve from 0.76.⁴⁰ The groups of patients and the degree of fibrosis were classified differently than in our cohort, and for this reason we have been unable to test the APRICOT score in our cohort. Other authors²⁵ have also found a good predictive value for hyaluronic acid in accordance with our results, but they recognize some limitations, such as that the cohort was chiefly composed of African American males of relatively low body weight who were mainly infected with genotype 1 HCV.

In summary, our study suggests that an index of serum markers, including TIMP-1 and HA, may be clinically useful for detecting fibrosis in HIV/HCV-coinfected individuals. The combination serum levels of TIMP-1 and HA results were well correlated with the stages of liver fibrosis. In the routine care of HIV/HCV-coinfected patients, it could be used for establishing priorities in the management of HCV. Although this score needs to be prospectively validated in further studies of

coinfected patients, we believe it deserves further attention for determining the stage of fibrosis without requiring a liver biopsy.

REFERENCES

1. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med.* 1998;338:853–860.
2. Sulkowski M, Thomas D. Hepatitis C in the HIV-infected person. *Ann Intern Med.* 2003;138:197–207.
3. Bica I, McGovern B, Dhar R, et al. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2001;32:492–497.
4. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology.* 1999;30:1054–1058.
5. Pineda JA, Romero-Gómez M, Diaz-García F, et al. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology.* 2005;41:779–789.
6. Perrault J, McGill DB, Ott BJ, et al. Liver biopsy: complications in 1000 inpatients and outpatients. *Gastroenterology.* 1978;74:103–106.
7. Churchill DR, Mann D, Coker RJ, et al. Fatal haemorrhage following liver biopsy in patients with HIV infection. *Genitourin Med.* 1996;72:62–64.
8. Garcia-Ordóñez MA, Colmenero JD, Jimenez-Onate F, et al. Diagnostic usefulness of percutaneous liver biopsy in HIV-infected patients with fever of unknown origin. *J Infect.* 1999;38:94–98.
9. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, et al. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet.* 2001;357:1069–1075.
10. Luo JC, Hwang SJ, Chang FY, et al. Simple blood tests can predict compensated liver cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology.* 2002;49:478–481.
11. Giannini E, Risso D, Botta F, et al. Validity and clinical utility of the aspartate aminotransferase-alanine aminotransferase ratio in assessing disease severity and prognosis in patients with hepatitis C virus-related chronic liver disease. *Arch Intern Med.* 2003;163:218–224.
12. Fornis X, Ampurdanes S, Llovet JM, et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology.* 2002;36:986–992.
13. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2003;38:518–526.
14. Macias J, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M, et al. Prediction of liver fibrosis in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfecting patients by simple non-invasive indexes. *Gut.* 2006;55:409–414.
15. Arthur MJ. Matrix degradation in liver: a role in injury and repair. *Hepatology.* 1997;26:1069–1071.
16. Jeffers LJ, Coelho-Little ME, Cheinquer H, et al. Procollagen-III peptide and chronic viral C hepatitis. *Am J Gastroenterol.* 1995;90:1437–1440.
17. Pares A, Deulofeu R, Gimenez A, et al. Serum hyaluronate reflects hepatic fibrogenesis in alcohol liver disease and is useful as a marker of fibrosis. *Hepatology.* 1996;24:1399–1403.
18. Boeker KH, Pehle B, Steinmetz C, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases in liver and serum/plasma in chronic active hepatitis C and HCV-induced cirrhosis. *Hepatogastroenterology.* 2000;47:812–819.
19. Lichtinghagen R, Michels D, Haberkorn CI, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-7, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are closely related to the fibroproliferative process in the liver during chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2001;34:239–247.
20. Leroy V, Monier F, Bottari S, et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitor TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with PIIINP and hyaluronic acid. *Am J Gastroenterol.* 2004;99:271–279.
21. Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. European Liver Fibrosis Group. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology.* 2004;127:1704–1713.
22. Germer JJ, Rys PN, Thorvilson JN, et al. Determination of hepatitis C virus genotype by direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test. *J Clin Microbiol.* 1999;37:2625–2630.

23. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol.* 1991;13:372–374.
24. Soriano V, Puoti M, Sulkowski M, et al. Care of patients with hepatitis C and HIV co-infection. *AIDS.* 2004;18:1–12.
25. Kelleher TB, Mehta SH, Bhaskar R, et al. Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using serum fibrosis markers: the SHASTA index. *J Hepatol.* 2005;43:78–84.
26. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. *Biometrics.* 1988;44:837–845.
27. Murawaki Y, Ikuta Y, Idobe Y, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in the liver of patients with chronic liver disease. *J Hepatol.* 1997;26:1213–1219.
28. Lichtinghagen R, Bahr MJ, Wehmeier M, et al. Expression and coordinated regulation of matrix metalloproteinases in chronic hepatitis C and hepatitis C virus-induced liver fibrosis. *Clin Sci (Lond).* 2003;105:373–382.
29. Boeker KH, Haberkorn CI, Michels D, et al. Diagnostic potential of circulating TIMP-1 and MMP-2 as markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chim Acta.* 2002;316:183–193.
30. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis.* 2001;21:373–384.
31. Mastroianni CM, Liuzzi GM, D’Ettorre G, et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-1 in plasma of patients co-infected with HCV and HIV. *HIV Clin Trials.* 2002;3:310–315.
32. Kalebic T, Masiero L, Onisto M, et al. HIV-1 modulates the expression of gelatinase A and B in monocytic cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;205:1243–1249.
33. Zheng M, Cai WM, Weng HL, et al. ROC curves in evaluation of serum fibrosis indices for hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2002;8:1073–1076.
34. Patel K, Lajoie A, Heaton S, et al. Clinical use of hyaluronic acid as a predictor of fibrosis change in hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol.* 2003;18:253–257.
35. Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, et al. Circulating matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 as serum markers of fibrosis in patients with chronic hepatitis C. Relationship to interferon response. *J Hepatol.* 1997;26:574–583.
36. Poynard T, McHutchison J, Manns M, et al. Biochemical surrogate markers of liver fibrosis and activity in a randomized of peginterferon alfa-2b and ribavirin. *Hepatology.* 2003;38:481–492.
37. Afdhal NH. Biopsy or biomarkers: is there a gold standard for diagnosis of liver biopsy? *Clin Chem.* 2004;50:1299–1300.
38. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, et al. Prospective analysis of discordant results between biochemical markers and biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clin Chem.* 2004;50:1344–1355.
39. Myers R, Benhamou Y, Imbert-Bismut F, et al. Serum biochemical markers accurately predict liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients. *AIDS.* 2003;17:721–725.
40. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology.* 2006;43:1317–1325.

Artículo 2:

Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martínez E, Miquel R, Sánchez-Tapias JM, Bargallo X, García-Criado A, de Lazzari E, **Larrousse M**, León A, Loncá M, Milinkovic A, Gatell JM, Mallolas J.

Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients.

AIDS. 2004;18:27-36.

Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients

Montserrat Laguno, Javier Murillas, José Luis Blanco, Esteban Martínez, Rosa Miquel^a, José M^a Sánchez-Tapias^b, Xavier Bargallo^c, Angeles García-Criado^c, Elisa de Lazzari^d, María Larrousse, Agathe León, Montserrat Loncá, Ana Milinkovic, Josep M^a Gatell and Josep Mallolas

Background: Current therapies for chronic hepatitis C virus (HCV) in HIV co-infected patients have a low success rate and are poorly tolerated. We have evaluated the efficacy and safety of interferon alfa-2b (IFN) + ribavirin (RBV) versus pegylated interferon alfa-2b (PEG-IFN) + RBV.

Methods: Randomized, single-centre, open-label clinical trial including patients with: detectable HCV-RNA, alanine aminotransferase > 1.5-fold upper limit of normal, abnormal liver histology, CD4 cell count > 250 × 10⁶/l and HIV RNA < 10 000 copies/ml. Patients were assigned to INF (3 × 10⁶ units three times/week) or PEG-IFN (100–150 µg/week) plus RBV (800–1200 mg/day). Duration of treatment was 48 weeks (only 24 weeks for HCV genotypes 2 or 3 and baseline HCV RNA < 800 000 IU/ml). The primary endpoint was a sustained virological response (SVR).

Results: Ninety-five patients were randomized (43 INF + RBV, 52 PEG-IFN + RBV), 68% males, 82% injecting drug users; 63% genotypes 1 or 4 and 36% genotypes 2 or 3; 62% fibrosis index grade ≥2 and 30% bridging fibrosis/cirrhosis. SVR was significantly higher in the PEG-IFN + RBV arm, 44% versus 21% (intent to treat; *P* = 0.017). Among patients with genotypes 1 or 4, SVR were 38% versus 7% (*P* = 0.007) and 53% versus 47% (*P* = 0.730) for genotypes 2 or 3. CD4 cell count but not its percentage dropped in both arms and HIV RNA viral load did not change from baseline. Side effects were very frequent in both arms leading to treatment discontinuation in 14 patients without statistical differences between arms (*P* = 0.565).

Conclusion: PEG-IFN + RBV was significantly more effective than INF + RBV for the treatment of chronic hepatitis C in HIV co-infected patients, mainly of genotype 1 or 4.

© 2004 Lippincott Williams & Wilkins

AIDS 2004, **18**:F27–F36

Keywords: HIV, hepatitis C virus, interferon alfa-2b, peginterferon alfa-2b, ribavirin

From the Infectious Diseases Unit, the ^aPathology Service, the ^bHepatology Service, the ^cRadiology Service and ^dBiostatistics, Hospital Clínic Universitari de Barcelona-IDIBAPS. University of Barcelona, Spain.

Correspondence to M. Laguno, Infectious Diseases Unit, Hospital Clinic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. E-mail: garcia@clinic.ub.es

Received: 15 April 2004; revised: 14 May 2004; accepted: 4 June 2004.

Introduction

Liver disease caused by chronic hepatitis C virus (HCV) infection is now a leading cause of morbidity and mortality among HIV-infected patients in the developed world, where classic opportunistic complications of severe immunodeficiency have declined dramatically as a result of the widespread use of highly active antiretroviral therapy [1,2]. Given that HIV and HCV share a similar route of transmission, the overall prevalence of chronic hepatitis C in patients with HIV is about 33% [3], ranging from 75% to 90% when a prior medical history of injecting drug use is reported [4].

In this setting, co-infection with HCV has become a leading cause of death and hospital admission in HIV infected patients [5]. Chronic hepatitis C has been shown to exhibit an accelerated progression to liver fibrosis in HIV infected patients as compared with HIV-seronegative immunocompetent individuals [6]. HCV co-infection may limit the adequate treatment of HIV and is associated with an increased toxicity of antiretroviral drugs [7]. Thus, the adequate management of HCV-related chronic liver disease in HIV infected patients is a major concern in this population.

Combined treatment with interferon plus ribavirin (RBV) has been the gold standard for HCV treatment since 1998 [8,9]. However, there are few data on combined therapy for HCV in HIV co-infected patients. Most published studies are observational and yield low rates of sustained virological response ranging from 20% [10,11] to 40% [12]. A new formulation of interferon has been developed and now pegylated interferon plus RBV may become the cornerstone of therapy for chronic hepatitis C [13,14]. To date, however, there is little published information about the safety and efficacy of combined treatment with pegy-

lated interferon plus RBV in HIV co-infected patients. Preliminary results of clinical trials and some observational studies have shown a lower efficacy of the combination in this population and a higher rate of adverse events [15–18]. Recently, three randomized studies were presented with an overall sustained virological response (SVR) rate for the pegylated interferon + RBV arms ranging from 26% up to 40% [19–21].

The objective of our study was to assess the efficacy and safety, in terms of SVR and adverse events, of interferon alfa-2b (IFN) + RBV versus pegylated interferon alfa-2b (PEG-IFN) + RBV in previously untreated HCV patients co-infected with HIV.

Methods

Patients

Patients were selected among HIV–HCV co-infected patients who received medical care for their HIV infection between April 2001 and October 2002. The patients had to fulfil the following inclusion criteria: previously untreated chronic hepatitis C with HCV RNA positive in plasma, alanine aminotransferase (ALT) > 1.5-fold the upper limit of normal and histological modifications in the liver biopsy (fibrosis > 1 or/and necroinflammatory activity); control of HIV infection with a viral load < 10 000 copies/ml and a CD4 cell count > 250 × 10⁶ cells/l, in response to a stable antiretroviral treatment (ART) or without ART if it was not required. Exclusion criteria were the presence of other causes of hepatopathy, decompensated cirrhosis, pregnancy and potential contraindications for interferon or for ribavirin therapy such as haemoglobinopathies, cardiopathy, autoimmune diseases, major depression or other severe psychiatric pathologies and active illicit drug consumption within the last 12 months.

Study design and organization

The study was a prospective, single-centre, randomized open-label trial carried at the specialized HIV unit of the Hospital Clinic, a tertiary centre in Barcelona, Spain at which more than 2500 HIV patients are receiving care. The centre's institutional ethics committee approved the protocol and all patients provided written informed consent before entering in the study.

Treatment and monitoring

Eligible patients were randomly assigned to one of the two study treatments in equal proportions (Fig. 1) by means of a computer generated table of random numbers. The first treatment group, arm A, received PEG-IFN (Peg-Intron A; Schering Corporation, Kenilworth, NJ, USA), subcutaneously at a dose of 100 µg when body weight was < 75 kg or 150 µg when it was

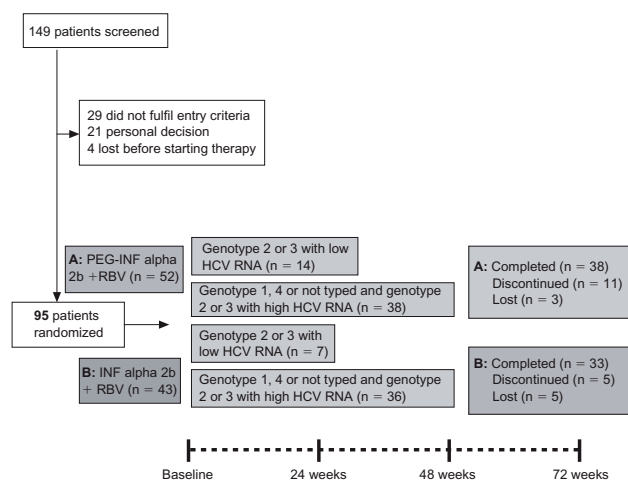


Fig. 1. Trial profile.

75 kg or more, each week plus oral RBV (Rebetol; Schering Corporation) every day. The second group, arm B, received IFN (Intron A; Schering Corporation), 3×10^6 units subcutaneously three times/week plus daily oral RBV. The dose of RBV was adjusted to body weight: 800 mg when the body weight was < 60 kg, 1000 mg when it was between 60 and 75 kg, and 1200 mg when body weight was > 75 kg. RBV was administered in two divided doses per day. The duration of the therapy was 48 weeks for all patients with the exception of those with HCV genotypes 2 or 3 and HCV RNA at baseline below 800 000 IU/ml who received only 24 weeks of therapy.

Patients were evaluated before beginning treatment, 2 weeks after starting therapy and every 4 weeks until the cessation of therapy, and also at 12 and 24 weeks after cessation of therapy to evaluate the SVR. A blood analysis including a haemogram and a complete biochemistry with lactate was carried out at every medical visit, in addition to a medical interview to establish possible secondary effects of the treatment. At week 4 and every 12 weeks thereafter we also determined the thyroid function; the HIV viral load and the CD4 T cell count. Serum HCV RNA was measured by a quantitative PCR assay at baseline, before starting treatment, and 12 weeks after starting therapy (Cobas AmpliPrep/Cobas Amplicor HCV Monitor Test version 2.0; sensitivity 500 copies/ml; Roche Molecular Systems Inc., Branchburg, New Jersey, USA). During treatment at weeks 4, 24, 36 and 48 and at 12 and 24 weeks after cessation of therapy HCV RNA was measured by a qualitative PCR assay (Cobas AmpliPrep/Cobas Amplicor HCV test version 2.0; sensitivity of 50 copies/ml; Roche Molecular Systems). Genotyping was carried out as described previously [22]. Liver biopsy was performed in all patients before randomization. All biopsy samples were analysed by a single pathologist in our hospital and graded according to Scheure's classification [23].

Assessment of efficacy

The primary measure of efficacy was the SVR, defined as undetectable HCV RNA in serum at the end of follow up (24 weeks after cessation the treatment) by an intent-to-treat (ITT) analysis. Patients with detectable HCV RNA after 24 weeks of therapy were considered failures and therapy was discontinued. Secondary parameters of efficacy were: the rate of virological response (VR) at the end of treatment, the rate of sustained biochemical response (SBR) defined as the presence of normal ALT values at the end of 24 weeks of follow up and the rate of relapses defined as patients with VR but not SVR.

Assessment of safety

Adverse events were graded as mild, moderate, severe, or potentially life-threatening according a modification

of the World Health Organization scale [24]. Therapy was permanently discontinued for life-threatening events. For severe adverse events other than anaemia, the dose of IFN, PEG-IFN or RBV could be decreased by 50%. Full doses could be restarted when the event abated. For anaemia, the RBV dose was lowered to 50% for falls in haemoglobin of < 100g/l, and RBV was discontinued if haemoglobin concentrations fell to < 85g/l. Full doses of RBV could be restarted when the haemoglobin increased to the normal level for that patient. The interferon dose could be halved if the polymorph nuclear lymphocyte count decreased to < 750×10^6 cells/l or the platelet count decreased to < 60×10^6 cells/l. Treatment was discontinued when the lymphocyte count fell to < 500×10^6 cells/l or platelets fell to < 50 000 cells/ml. Neither granulocyte colony stimulating factor nor erythropoietin was used in this study.

Statistical analysis

A descriptive analysis of the baseline variables was conducted looking at the central tendency and dispersion. These values were compared with the aim of ensuring that the demographic, epidemiological, clinical, biochemical and histopathological characteristics were similar among the patients in the two therapy groups.

The inferential analysis of the continuous quantitative variables were performed, when possible, by means of parametric tests (Student's t test). The analysis of the dichotomic variables (response/no response) was made by means of contingency tables (Chi-squared test or Fisher's exact test). Analyses were done by ITT on the whole treated population (all patients who received at least one dose of study medication) and by 'on treatment' (OT). In addition, a logistic regression analysis was carried out using the SVR as the dependent variable. Univaried logistic regression was used to confirm the importance of previously identified prognostic factors. To assess the independence of these factors, a backward elimination procedure was then undertaken using the factors that were significant in the univaried analyses. All reported *P* values are two-sided. The data were analysed in the Epidemiology and Statistics Unit, UASP, Hospital Clinic, Barcelona, Spain.

The sample size (90 patients; 45 in each treatment arm) was calculated on the basis of a bilateral test of comparison of a proportion observed with respect to a theoretical proportion [25]. We assumed a response rate of 60% in the group with PEG-INF therapy and wanted to detect differences ≥ 20 percentage points if they exist in the INF group therapy; with an alpha risk of 0.05 and a power of 80%.

Results

Patients' characteristics

Enrolment began in April 2001, and the trial was completed in February 2004. A total of 149 patients were screened; 95 were included, received at least one dose of medication and were evaluated in the ITT analyses, both by efficacy and safety (see Fig. 1). Baseline characteristics including histological findings in liver biopsies were similar between the two groups (Table 1). The majority of the patients were male (68%) with a mean age of 40 years. Eighty two per cent of the subjects had a history of illicit injecting drug use. The mean time of known chronic HCV infection was 17 years. The more frequent HCV genotypes in our series were 1 and 3 (49% and 33%, respectively). Sixty-two per cent of the study participants had a fibrosis index of grade 2 or above, and one-third had a bridging fibrosis or cirrhosis in the liver biopsy.

Eighty-four patients (88%) were receiving ART during the study period. Most of them a regimen containing two nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors plus one non-nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor. The mean duration of previous treatment for HIV infection was 63 months. Sixty-seven patients (70%) had a baseline HIV RNA plasma levels < 200 copies/ml. The mean CD4 T cell count before starting the HCV therapy was 560×10^6 cells/l.

Outcome

Response rates are summarized in Table 2 and Fig. 2. In the global analyses by ITT, 34% of patients reached SVR. This rate was significantly higher for the group receiving PEG-INF than for the INF treatment group,

44% versus 21% ($P = 0.017$). By OT analyses the response rates were 59% PEG-INF and 27% INF ($P = 0.007$). In genotypes 1 or 4 the difference of SVR by ITT analyses between groups of treatment was 38% in the PEG-INF arm versus 7% in the INF arm ($P = 0.007$); by OT analyses it was 52% versus 10% ($P = 0.002$). In genotypes 2 or 3 the rates of SVR for the two groups were similar: 53% versus 47% ($P = 0.730$) by ITT analyses and 67% versus 64% ($P = 0.873$) by OT analyses.

Patients with baseline low levels HCV RNA (< 800 000 IU/ml) reached better rate of SVR than patients with basal HCV RNA $\geq 800 000$ IU/ml: 49% versus 22% ($P = 0.007$). The response rate was different depending on the degree of fibrosis in the liver; for fibrosis grades 0–2, VR was 48% versus 29% in the group with most advanced fibrosis (grades 3–4). However the SVR was similar, 36% versus 29% ($P = 0.467$), due to a higher number of relapses in the group with a lower degree of fibrosis. The overall SBR rate was 45%. Although the patients assigned PEG-INF had better results, the difference did not reach statistical significance: 53% versus 33% ($P = 0.079$). Among patients with SVR, six (20%) did not achieve normal values of ALT at the end of follow up. The proportion of patients who cleared virus but who relapsed by the end of follow-up was small in both treatment groups (8% PEG-INF arm, 9% INF arm). It is important to note that the three patients who relapsed were HCV genotypes 2 or 3 with a baseline HCV RNA < 80 000 copies/ml and assigned to a 6-month regimen.

To examine the influence of potentially important prognostic factors on SVR we assessed by univariate

Table 1. Baseline characteristics of the patients. None of the differences were statistically significant (Chi-squared test).

	PEG + RBV (n = 52)	INF + RBV (n = 43)	Total (n = 95)
Mean age (years)	40	40	40
Sex, male (%)	63	74	68
Mean body weight (kg)	62	64	63
HIV-1 risk factor (% injecting drug users)	75	91	82
Mean duration of HIV infection (years)	10	12	11
Patients on antiretroviral therapy (%)	94	81	88
Mean baseline CD4 cell count ($\times 10^6$ cells/l)	570	556	560
Baseline HIV viral load (copies/ml)	199	199	199
Hepatitis C virus genotype (%)			
1	55	43	49
2	4	2	3
3	33	33	33
4	8	21	14
Not typable	0	2	1
HCV RNA (% < 800 000 IU/ml)	53	38	46
Mean duration of HCV infection (years)	17	17.5	17
Mean inflammatory Scheure's score	3	4	3
Scheure's fibrosis score (%)			
0–2	71	69	70
3–4	29	31	30

RBV, Ribavirin; PEG, pegylated interferon alfa-2b; INF, interferon alfa-2b.

Table 2. Percentages of virological response (VR) and 24-week sustained virological response (SVR) by intent-to-treat analysis.

	PEG + RBV (n = 52)	INF + RBV (n = 43)	Total (n = 95)	P
Overall (n = 95)				
VR	52	30	42	0.033 ^a
SVR	44	21	34	0.017 ^a
SVR by genotype				
1 or 4 (n = 59)	38	7	24	0.007 ^a
2 or 3 (n = 34)	53	47	50	0.730 ^a
SVR by degree of fibrosis				
0–2 (n = 66)	49	21	36	0.019 ^a
3–4 (n = 28)	33	23	29	0.549 ^a
SVR by baseline HCV RNA				
< 800 000 IU/ml (n = 43)	60	31	49	0.076 ^b
\geq 800 000 IU/ml (n = 50)	30	15	22	0.240 ^b
SVR by dose of therapy				
No modification (n = 57)	37	11	25	0.033 ^b
Dose reduction (n = 38)	55	38	47	0.342 ^b

^aChi-squared test. ^bFisher's exact test, RBV, Ribavirin; PEG, pegylated interferon α -2b; INF, interferon α -2b; HCV, hepatitis C virus.

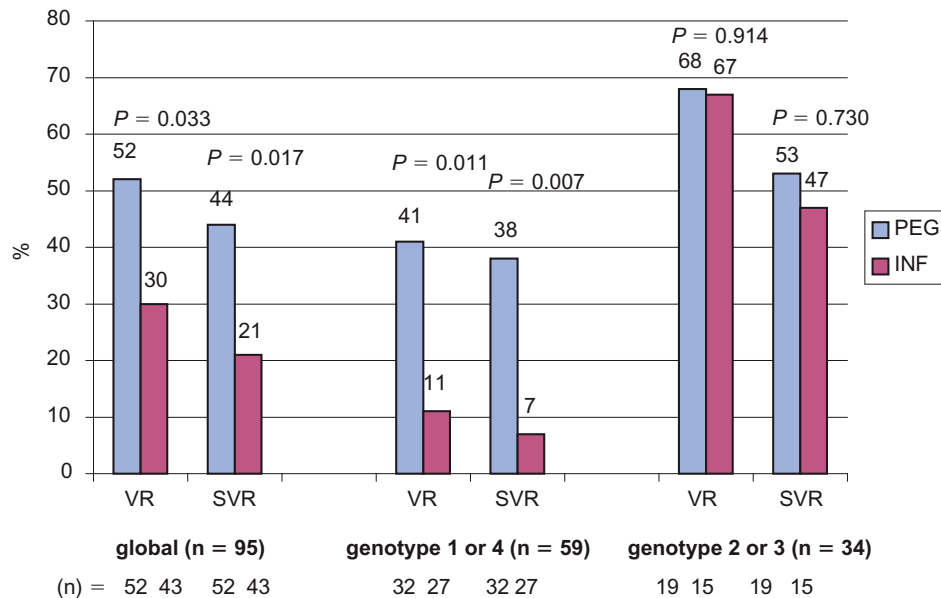


Fig. 2. Response rate by intent-to-treat analysis. VR, Virological response at end of therapy; SVR, sustained virological response 24 weeks after cessation of therapy.

and multivariate methods the following variables: HCV genotype, baseline HCV RNA, degree of fibrosis in the liver sample before start of therapy, years with HCV infection, baseline CD4 cell count, baseline HIV VL, Centers for Disease Control classification at baseline, years with HIV infection, ART or no therapy for HIV, risk group, age, sex, baseline body weight, kind of interferon drug and the necessity or not to modify the dose of HCV therapy (Table 3). HCV genotypes 2 or 3 ($P = 0.011$), baseline HCV RNA < 800 000 IU/ml ($P = 0.008$) and PEG-INF therapy ($P = 0.019$) were significantly associated with a better SVR. Female sex and modifications in the dose of study medication

due to side effects almost reached significance and were also included in the multivariate analysis. Only genotype 2 or 3 ($P = 0.006$), PEG-INF based therapy ($P = 0.025$) and the dose modification of assigned drugs remained as independent predictors associated with a better SVR.

Safety evaluation

The side-effect profiles of PEG-INF + RBV and INF + RBV were similar; there were no unexpected or unique adverse events (Table 4). There was a substantial increase in injection site reactions in the PEG-INF group compared with the INF group but the difference

Table 3. Univariate and multivariate analysis of outcome (sustained virological response) predictors. For multivariate analysis only statistically significant values were included in the table.

Variable	Crude odds ratio (95% CI)	P	Adjusted odds ratio (95% CI)	P
Age (years)				
≥ 40	1	0.949		
< 40	0.9 (0.4–2.3)			
Sex				
Male	1	0.072		
Female	2.3 (0.9–5.6)			
Body weight (kg)				
> 60	1	0.229		
≤ 60	1.7 (0.7–4.4)			
Years with HCV	0.9 (0.8–1.1)	0.159		
Risk factor				
Others	1	0.472		
Injecting drug use	0.7 (0.2–1.9)			
Years with HIV	1 (0.9–1.1)	0.971		
Alcohol (> 20 mg/day)				
No	4.4 (0.7–26)	0.255		
Yes	0.9 (0.2–4)			
CDC classification				
A	1	0.316		
B	0.6 (0.1–3.6)			
C	0.4 (0.1–1.3)			
Antiretroviral therapy				
Yes	1	0.634		
No	0.7 (0.1–2.9)			
≥ 350	1	0.695		
< 350	0.8 (0.3–2.3)			
HIV viral load (copies/ml)				
≥ 200	1	0.496		
< 200	1.4 (0.5–3.6)			
HCV genotype				
1–4	1	0.011	1	0.006
2–3	3.2 (1.3–7.9)		4.1 (1.5–11.2)	
Fibrosis score				
0–2	1	0.467		
3–4	0.7 (0.2–1.8)			
HCV RNA (IU/ml)				
≥ 800 000	1	0.008		
< 800 000	3.4 (1.3–8.3)			
Therapy modification				
No	1	0.074	1	0.036
Yes	2.8 (1.1–7.4)		3.2 (1.1–8.6)	
Kind of interferon				
PEG	1	0.019	1	0.025
INF	0.3 (0.1–0.8)		0.3 (0.1–0.85)	

CI, Confidence interval; CDC, Centers for Disease Control and Prevention; HCV, hepatitis C virus. ($\times 10^6$ cells/l)

was not statically significant. The typical event was generally mild, not treatment limiting, and characterized by localized erythema. Influenza-like syndrome was the most frequent adverse effect related to therapy: it appeared in more than 80% of patients at the beginning of treatment and improved within a few weeks.

Anaemia was the most frequent haematological adverse event (Fig. 3) with an overall prevalence of (27%), 31% for the PEG-INF + RBV regimen compared with 23% for the INF + RBV regimen, being mild or moderate in most cases. A decrease in haemoglobin to < 100 g/l,

the protocol requirement for dose modification, occurred in 13% of patients and discontinuation for anaemia was rare (one patient). Neutropenia was present in 22% of patients (27% for the PEG-INF arm compared with 16% for INF arm). The frequency of dose reduction for neutropenia according to the protocol was 9%; however, no patients discontinued treatment for this reason. A thrombocytopenia appeared in 20% of patients (25% PEG-INF compared with 14% for INF regimen); 3% of patients had a platelet decrease that reached the protocol-defined criterion for dose reduction and one patient discontinued therapy due to thrombocytopenia.

Table 4. Percentages of discontinuation of treatment, dose reduction and overall adverse events of any grade during treatment.

	PEG + RBV (n = 52)	INF + RBV (n = 43)	Total (n = 95)	<i>P</i> ^a
Discontinuation				
Any reason	23	14	19	0.245
Adverse effect	17	12	15	0.565
Dose reduction for:				
Any adverse event	42	37	40	0.677
Anaemia	12	16	14	0.559
Neutropenia	13	7	11	0.504
Thrombocytopenia	6	5	5	1
General symptoms				
Influenza-like	88	74	82	0.107
Asthenia	69	81	75	0.237
Anorexia	48	30	40	0.094
Headache	23	23	23	1
Myalgia	37	23	31	0.185
Haematological findings				
Anaemia	31	23	27	0.491
Neutropenia	27	16	22	0.321
Thrombocytopenia	25	14	20	0.207
Gastrointestinal symptoms	17	19	18	1
Psychiatric symptoms				
Depression	37	51	43	0.212
Irritability	27	42	34	0.135
Insomnia	21	19	20	0.802
Dermatological symptoms				
Alopecia	25	16	21	0.325
Injection site reaction	21	7	15	0.080
Mitochondrial toxicity	2	7	4	0.325
Thyroid dysfunction	12	5	8	0.286

^aFisher's exact test. RBV, Ribavirin; PEG, pegylated interferon alfa-2b; INF, interferon alfa-2b.

Forty-one (43%) patients developed symptoms of depression (sadness, tiredness, apathy) during the therapy (37% for PEG-INF versus 51% for INF). Fifteen of them (37%) were treated with citalopram, a selective serotonin re-uptake inhibitor, resulting in a significant improvement in their symptoms. Two patients interrupted the interferon-based therapy due to severe psychiatric pathology: one psychotic episode in a patient with no previous history of psychiatric events and one major depression.

During the treatment period, eight patients developed biochemical thyroid dysfunction, and four of these patients presented secondary symptoms: three cases of hypothyroidism that needed substitution therapy with levothyroxin, and one case of hyperthyroidism treated with metimazol. None of them had to stop the HCV therapy for this reason.

Biochemical mitochondrial toxicity defined as hyperlactatemia (lactate > 20 mg/dl) and/or increase in pancreatic enzymes (amylase/lipase > 400/200 IU/l) was present in nine patients during the study period. Only one case had symptomatic mitochondrial toxicity: weight loss, abdominal pain, nausea and vomiting. This patient discontinued ART (stavudine, lamivudine and

saquinavir) and HCV therapy leading to complete recovery.

There were no cases of descompensated liver disease in our series.

Fourteen (15%) out of 95 patients included in the study discontinued treatment due to adverse events, nine in the PEG-INF arm and five in the INF arm. The major causes were: a severe influenza-like syndrome (eight cases); lactic acidosis (one case); psychiatric pathology (two cases); severe anaemia requiring blood transfusion (one case); thrombocytopenia (one case); and after a heart stroke (one case). Two patients decided to withdraw therapy before 24 weeks, and two additional patients stopped the therapy due to a protocol violation (use of injecting drugs).

At baseline, the mean CD4 cell count was 560×10^6 cells/l. In the follow up there was a decrease to a mean of 331×10^6 cells/l, but the percentage of CD4 cells remained stable (Fig. 3). In 19 patients the CD4 cell count decreased to $< 200 \times 10^6$ cells/l but we did not observe any opportunistic infection. Regarding HIV viral load, we did not observe meaningful changes during follow up.

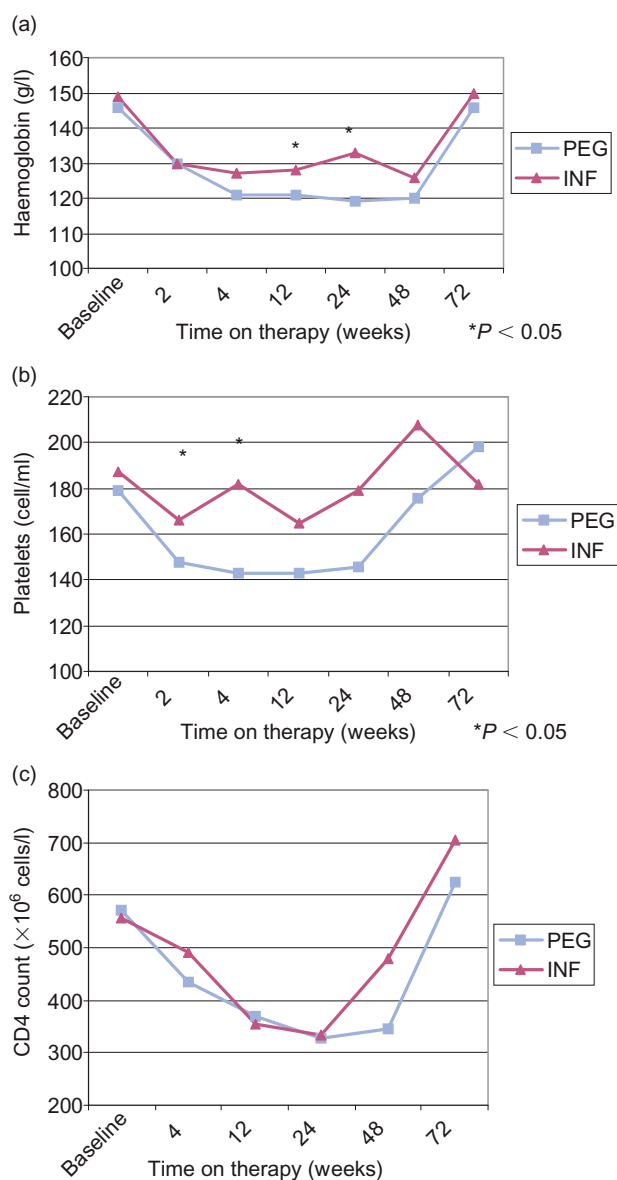


Fig. 3. Evolution of haematological parameters during therapy. (a) Mean haemoglobin. (b) Mean platelet count. (c) mean CD4 cell count.

Discussion

In our study PEG-IFN + RBV was significantly more effective than IFN + RBV for the treatment of chronic hepatitis C in HIV co-infected patients. In concordance with published data in the literature from open non-randomized studies [17,18], the rate of SVR was lower than that reported with PEG-IFN + RBV in mono-infected HCV patients [13,14]. However, the rate of global SVR achieved in our study was better than the rate described in previous trials and similar to the recently communicated final results of APRICOT study [19]. The benefit of the PEG-IFN versus INF regimen was most apparent for patients with genotype

1, the subgroup that is most common and the most difficult to treat.

In our series, genotypes 2 or 3, PEG-IFN therapy and dose modification of assigned drugs were independent factors associated with a better SVR. Of note is the fact that a dose reduction was not associated with worst outcome. Conversely this group had a better SVR, possibly related to a smaller rate of withdrawals. Although some authors have related the basal HCV RNA values with the rate of SVR [14,17] this variable was not selected as an independent factor for SVR probably due to the relatively small number of patients and the fact that three patients with a low baseline HCV RNA levels and genotypes 2 or 3 relapsed after 6 months of therapy. Also, some studies found a relationship between the degree of fibrosis and the rate of SVR [13,14]. We observed a tendency to achieve a lower rate of response in patients with higher degree of fibrosis but, in our study, we did not find any statistically significant difference.

In studies in HCV mono-infected patients, most of those who reached a SVR also had normal ALT levels at the end of follow up [13,14]. In our series, however, 20% of patients with SVR remained with ALT values over the upper limit of the normal range. This could be due to a toxic effect on the liver of some antiretroviral drugs. For this reason, the biochemical response in HCV-HIV co-infected patients is not a good marker of virological response.

Side effects secondary to HCV therapy were very frequent (> 90%), but in the majority of cases were mild or moderate. It seems that some of these side effects (influenza-like syndrome, local reactions in the skin or anorexia) were most prevalent in the patients treated with PEG-IFN, but we did not find statistically significant differences between the two therapy groups. Abnormal haematological parameters were present in one-fifth of patients but only half of them needed modifications in drug dosage. Total CD4 cell count decreased in both arms but no evidence of deleterious effect on HIV control were seen.

Of special concern are two important types of side effects. The first one is the high incidence of depressive symptoms in co-infected patients treated with interferon-based therapy. Most of them were not severe and improved with antidepressant therapy, without reduction or cessation of HCV therapy. We recommended close assessment of psychiatric symptoms during the first weeks after initiating interferon-based therapy in HIV-HCV co-infected patients. Early treatment of these side effects with antidepressants would help to avoid early dropouts from therapy [26]. The second type is a side effect not previously reported in mono-infected patients on HCV therapy, but well described

in co-infected patients on ART who begin HCV therapy: mitochondrial toxicity [27]. This side effect is related to the fact that RBV, a nucleoside analogue, is able to inhibit the mitochondrial gamma polymerase and to interfere in the intracellular metabolism of didanosine [28]. In our series mitochondrial toxicity occurred in 12% of patients; although most cases were asymptomatic, concomitant use of ribavirin plus ART containing nucleoside analogues such as didanosine or stavudine, should be cautioned against or not recommended [29].

Is well known that HIV–HCV co-infected patients have higher rates of therapy withdrawal than mono-infected patients. This may simply reflect a higher rate of serious adverse events in this population compared with HIV-negative individuals. In the present study, the rate of premature discontinuation due to adverse effects was 15%; this rate is lower than previous reports in co-infected HIV–HCV patients [10,18,21]. A potential explanation is that all patients were recruited in a single centre and were managed by the same multidisciplinary and experienced team.

In summary, PEG-IFN + RBV provides a considerable clinical advantage over therapy with IFN + RBV in HIV–HCV co-infected patients, and the difference was driven mainly by the better results among patients with HCV genotypes 1 or 4.

Acknowledgements

Sponsorship: Supported in part by research grants from Schering-Plough, grant 2001SGR 00377 from Generalitat de Catalunya (DURSI) and a grant from the 'Red Temática de Investigación en SIDA (Red de grupos 173) of FISs'.

References

1. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, *et al.* Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998, **338**:853–860.
2. Sulkowski M, Thomas D. Hepatitis C in the HIV-infected person. *Ann Intern Med* 2003, **138**:197–207
3. Thomas DL, Vlahov D, Solomon L, Cohn S, Taylor E, Garfein R, *et al.* Correlates of hepatitis C virus infections among injection drug users. *Medicine (Baltimore)* 1995, **74**:212–220.
4. Stubbe L, Soriano V, Antunes F. Hepatitis C in the EuroSIDA cohort of European HIV-infected patients: prevalence and prognostic value. *XII International Conference on AIDS*. Geneva July 1998 [abstract 22261].
5. Bica I, McGovern B, Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R, *et al.* Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001, **32**:492–497.
6. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, *et al.* Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology* 1999, **30**:1054–1058.
7. Sulkowski MS, Thomas DL, Chaisson RE, Moore RD. Elevated liver enzymes following initiation of antiretroviral therapy. *JAMA* 2000, **283**:2526–2527.
8. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, *et al.* Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998, **352**:1426–1432.
9. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, *et al.* Interferon α -2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998, **339**:1485–1492.
10. Landau A, Batisse D, Van Huyen JP, Piketty C, Bloch F, Pialoux G, *et al.* Efficacy and safety of combination therapy with interferon-alpha2b and ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS* 2000, **14**:839–844.
11. Nasti G, Di Gennaro G, Tavio M, Cadornin L, Tedeschi RM, Talamini R, *et al.* Chronic hepatitis C in HIV infection: feasibility and sustained efficacy of therapy with interferon α -2b and tribavirin. *AIDS* 2001, **15**:1783–1787.
12. Sauleda S, Juarez A, Esteban JI, Altisent C, Ruiz I, Puig L, *et al.* Interferon and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus-infected patients with congenital coagulation disorders. *Hepatology* 2001, **34**:1035–1040.
13. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncalves FL Jr, *et al.* Peginterferon α -2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002, **347**:975–982.
14. Manss MP, McHutchinson JG, Gordon SC, Rutgi VK, Shiffman M, Reindollar R, *et al.* Peginterferon α -2b plus ribavirin compared with interferon α -2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001, **358**:958–965.
15. Hopkins S, Lyons F, Brannigan E, Mulcahy F, Bergin C. Tolerability of pegylated interferon and ribavirin in the HIV/HCV co-infected population. *XIV International Conference on AIDS*. Barcelona, July 2002 [abstract ThPeC7531].
16. Cargnel A, Angeli E, Casella A, Gubertini G, Mainini A, Orlando G. An open, multicentric, randomized trial comparing pegylated interferon α 2 b plus ribavirin vs pegylated interferon α 2 b for treatment of HIV/HCV coinfecting patients. *53rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases*. Boston, November 2002 [abstract 802].
17. Perez-Olmeda M, Nunez M, Romero M, Gonzalez J, Castro A, Arribas JR, *et al.* Pegylated IFN- α 2b plus ribavirin as therapy for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS* 2003, **17**:1023–1028.
18. Moreno L, Quereda C, Moreno A, Perez-Elias MJ, Antela A, Casado J, *et al.* Pegylated interferon α 2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS* 2004, **18**:67–73.
19. Torriani FJ, Rockstroh J, Rodriguez-Torres M, Lissen E, González J, Lazzarin A, *et al.* Final results of APRICOT: A randomized partially blinded, international trial evaluating Peginterferon- α -2a + Ribavirin vs Interferon- α -2a + Ribavirin in the treatment of HCV in HIV/HCV co-infection. *Eleventh Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. San Francisco, February 2004 [abstract 112].
20. Chung R, Andersen J, Volberding P, Robbins G, Liu T, Sherman K, *et al.* A randomized, controlled trial of PEG-interferon- α -2a plus ribavirin vs interferon α -2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected persons: follow-up results of ACTG ASOH. *Eleventh Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. San Francisco, February 2004 [abstract 110].
21. Perrone C, Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel F, *et al.* Final results of ANRS HCO2-RIBVIC: a randomized controlled trial of pegylated-interferon- α -2b plus ribavirin vs interferon- α -2b plus ribavirin for the initial treatment of chronic hepatitis C in HIV-coinfecting patients. *Eleventh Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*. San Francisco, February 2004 [abstract 117LB].

22. Germer JJ, Rys PN, Thorvilson JN, Persing DH. **Determination of hepatitis C virus genotype by direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test.** *J Clin Microbiol* 1999, **37**:2625–2630.
23. Scheuer PJ. **Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment.** *J Hepatol* 1991, **13**:372–374.
24. World Health Organization. *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 1989 Revision.* Geneva: World Health Organization; 1992.
25. JM Domenech. *Bioestadística. Métodos Estadísticos Para Investigadores.* Barcelona: E Herder; 1980:126.
26. Kraus MR, Schafer A, Faller H, Csef H, Scheurlen M. **Paroxetine for the treatment of interferon alpha-induced depression in chronic hepatitis C.** *Aliment Pharmacol Ther* 2002, **16**: 1091–1099.
27. Lafeuillade A, Hittinger G, Chadapaud S. **Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV co-infection.** *Lancet* 2001, **357**:280–281.
28. Sherman K. **Evidence suggesting mitochondrial toxicity in HIV/HCV co-infected patients receiving ribavirin and didanosine.** *Tenth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections.* Boston, February 2003 [abstract 763].
29. Bonnet F, Bonarek M, Abridj A, Mercie P, Dupon M, Gemain MC, *et al.* **Severe lactic acidosis in HIV-infected patients treated with nucleosidic reverse transcriptase analogs: a report of 9 cases.** *Rev Med Interne* 2003, **24**:11–16.

Artículo 3:

Laguno M, **Larrousse M**, Murillas J, Blanco JL, León A, Milinkovic A, Lonca M, Martínez E, Sánchez-Tapias JM, de Lazzari E, Gatell JM, Costa J, Mallolas J.

Predictive Value of Early Virologic Response in HIV/Hepatitis C Virus–Coinfected Patients Treated With an Interferon-Based Regimen Plus Ribavirin.

JAIDS 2007;44:174-178.

Predictive Value of Early Virologic Response in HIV/Hepatitis C Virus–Coinfected Patients Treated With an Interferon-Based Regimen Plus Ribavirin

Montserrat Laguno, MD,* María Larrousse, MD,* Javier Murillas, MD,* José Luis Blanco, MD,*
 Agathe León, MD,* Ana Milinkovic, MD,* Montserrat Loncá, MD,* Esteban Martínez, MD,*
 José María Sánchez-Tapias, MD,† Elisa de Lazzari, BSc,‡ Josep M^a Gatell, MD,*
 Josep Costa, MD,§ and Josep Mallolas, MD*

Background: As a result of adverse events, a moderate rate of virologic response, and high costs associated with hepatitis C virus (HCV) therapy, finding early markers of sustained treatment response is a clinical priority. In the HCV-monoinfected population, a reduction ≥ 2 log in plasma HCV RNA at week 12 of therapy (early virologic response [EVR]) predicts a sustained virologic response (SVR). Few data are available in HIV/HCV-coinfected patients, however.

Methods: A subanalysis of data from HIV/HCV-coinfected patients treated with pegylated interferon- α -2b (PEG, 100–150 μ g/wk) or interferon- α -2b (IFN, 3 MIU 3 times per week) plus ribavirin (RBV, 800–1200 mg/d) was conducted in a randomized single-center clinical trial. The duration of treatment was 48 weeks (only 24 weeks for HCV genotype 2 or 3 with a baseline HCV RNA level $< 800,000$ IU/mL).

Results: Ninety-five patients were randomized (43 assigned to IFN + RBV and 52 assigned to PEG + RBV). Eighty patients completed at least 12 weeks on therapy and were included in the EVR analysis. Thirty-five (43%) of them attained an SVR (56% and 30% of patients treated with PEG and IFN, respectively; $P = 0.026$). An EVR occurred in 55 (69%; 80% of PEG + RBV group and 56% of IFN + RBV group). Overall, 35 of 55 patients with an EVR were sustained responders, yielding a positive predictive value of 64% (70% in PEG + RBV arm and 55% in IFN + RBV arm). None of the patients who demonstrated an HCV RNA decline of < 2 logs at week 12 reached an SVR (negative predictive value of 100%).

Conclusion: Our results confirm the utility of an EVR to predict the chance of the lack of an SVR in HIV/HCV-coinfected patients, particularly those treated with PEG.

Received for publication May 23, 2006; accepted August 30, 2006.

From the *Infectious Diseases Service, Hospital Clínic Universitari de Barcelona, Barcelona, Spain; †Hepatology Service, Hospital Clínic Universitari de Barcelona, Barcelona, Spain; ‡Department of Biostatistics, Universitari de Barcelona, Barcelona, Spain; and §Microbiology Service, Hospital Clínic Universitari de Barcelona, Barcelona, Spain.

Supported, in part, by research grants from Schering-Plough, grant 2001SGR 00377 from Generalitat de Catalunya, and a grant from the “Red Temática de Investigación en SIDA (Red de grupos 173) of FIS.” M. Laguno is funded by a grant from the Spanish Ministry of Health (FIS 2004).

Reprints: Montserrat Laguno, MD, Infectious Diseases Service, Hospital Clínic Universitari de Barcelona, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain (e-mail: mlaguno@clinic.ub.es).

Copyright © 2006 by Lippincott Williams & Wilkins

Key Words: chronic hepatitis C virus, early virologic response, interferon, peginterferon- α -2b, ribavirin, sustained virologic response, treatment

(*J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;44:174–178)

Chronic infection with hepatitis C virus (HCV) and complications associated with its clinical course represent an important cause of morbidity and mortality in HIV/HCV-coinfected patients after the widespread use of highly active antiretroviral therapy (HAART).^{1–3} In addition, HIV/HCV-coinfected patients have been shown to exhibit an accelerated progression to liver fibrosis.⁴ Moreover, HCV coinfection may limit the adequate treatment of HIV and is associated with increased toxicity of antiretroviral drugs.⁵ Thus, improved therapeutic management of HCV-related chronic liver disease has become a major concern in this set of patients.

Current therapies for chronic HCV based on pegylated interferon- α (PEG) associated with ribavirin (RBV) have demonstrated good rates of success in HIV/HCV-coinfected patients, eliminating the virus in nearly 40% of patients.^{6–9} Nevertheless, this treatment is not well tolerated in coinfecting patients and also has the potential to interact with some antiretroviral drugs.^{6–14}

Several studies have evaluated potential predictive factors of virologic response to monitor an effective response to therapy. For example, baseline demographic data, such as female gender and age < 40 years, or data related to the HCV characteristics, such as genotype 2 or 3 and a low baseline viral load ($< 800,000$ IU/mL), have been associated with a better response.^{6–8,15,16} Similarly, some authors have analyzed potential early markers to predict the final virologic response; among them, it seems that a reduction of ≥ 2 logs in plasma HCV RNA at week 12 of treatment (early virologic response [EVR]) would have a good predictive value of a sustained virologic response (SVR).^{17–19}

Although there are some discordant results,²⁰ the clearance of HCV RNA seems to occur more slowly in HIV/HCV-coinfected patients than in HCV-monoinfected subjects.²¹ As a consequence, concern has arisen over the feasibility of following the rules derived from HIV-negative patients and whether they can be applied in HIV/HCV-coinfected patients.

The objective of our study was to assess the utility of an EVR to predict an SVR to HCV therapy in a group of HIV/HCV-coinfected patients.

PATIENTS AND METHODS

We analyzed the EVR in a cohort of HIV/HCV-coinfected patients included in a randomized, prospective, single-center, open-label clinical trial designed to evaluate the efficacy and tolerability of 2 interferon-based therapeutic regimens: (1) interferon- α -2b (IFN) at a dose of 37 IU administered subcutaneously 3 times per week plus daily oral RBV, or (2) PEG administered subcutaneously at a dose of 100 μ g when the patient's body weight was 75 kg or at a dose of 150 μ g when the patient's body weight was 75 kg or more each week plus oral RBV each day. The dose of RBV, 800 to 1200 mg, was adjusted to body weight and administered in 2 divided doses per day. The duration of treatment was 48 weeks, but only 24 weeks when the HCV genotype was 2 or 3 and the baseline HCV RNA level was <800,000 IU/mL. The study design and primary results have been published previously.⁹

The efficacy of the therapy was defined as undetectable HCV RNA in serum at 24 weeks after cessation of the treatment (SVR) by an intent-to-treat analysis. An EVR was defined as a reduction of plasma HCV RNA levels ≥ 2 logs at week 12 of treatment compared with baseline. In addition, a qualitative assay of HCV RNA at week 4 was performed, and a very early virologic response (vEVR) was defined if HCV RNA was undetectable at this time.

Serum HCV RNA was measured by a quantitative polymerase chain reaction (PCR) assay at baseline, before starting treatment, and 12 weeks after starting therapy (Cobas AmpliPrep/Cobas Amplicor HCV Monitor Test, version 2.0, with a sensitivity of 500 copies/mL; Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ). During treatment, at weeks 4, 24, 36, and 48 as well as 24 weeks after cessation of therapy, HCV RNA was measured by a qualitative PCR assay (Cobas AmpliPrep/Cobas Amplicor HCV Monitor Test, version 2.0, with a sensitivity of 50 copies/mL; Roche Molecular Systems).

A descriptive analysis of the continuous variables at baseline was conducted looking at the median and central tendency measures and at the interquartile range (IQR) as a dispersion measure. Categorical variables at baseline were describing using percentage of the total group. These values were compared between the 2 therapy groups with the aim of ensuring that the demographic, epidemiologic, clinical, biochemical, and histopathologic characteristics did not differ. Continuous variables were compared between groups by means of the Wilcoxon rank sum test. Quantitative variables were compared using the χ^2 or Fisher exact test. Analyses were done by intention to treat on all patients who achieved at least 12 weeks on therapy.

Positive predictive value (PPV) was defined as the probability that an SVR would occur in those patients with evidence of an EVR. Conversely, negative predictive value (NPV) was defined as the probability that patients without evidence of an EVR would not achieve an SVR.

All tests were 2-tailed and based on a confidence level of 0.05. The analyses were performed using STATA (StataCorp

2003 STATA Statistical Software, release 8.0; Stata Corporation, College Station, TX).

RESULTS

A total of 95 subjects (68% male with a median age of 40 years) were included in the study (43 assigned to the IFN + RBV group and 52 assigned to the PEG + RBV group), as reported previously.⁹ Baseline characteristics were similar between the 2 groups (Table 1). In the global intent-to-treat analyses, 34% of patients attained an SVR (44% in the group receiving PEG + RBV compared with 21% for the IFN + RBV treatment group; $P = 0.017$).

Eighty patients in our study completed at least 12 weeks of therapy and were included in the EVR study. Of this group, 55 patients (69%) showed a reduction of ≥ 2 logs in plasma HCV RNA at week 12 of treatment. The frequency of an EVR was significantly higher in patients treated with PEG than in those treated with IFN (80% vs. 56%; $P = 0.030$; Fig. 1).

Regarding the HCV genotype, an EVR was detected in 54% of patients infected with genotypes 1 through 4 (71% of patients treated with PEG vs. 38% of patients treated with IFN), whereas an SVR was detected in 31% of patients (50% in the PEG + RBV group vs. 12.5% in the IFN + RBV group). In those patients infected with genotypes 2 and 3, an EVR was seen in 93% of patients and an SVR was attained in 63% of patients. There were no significant differences between the 2 treatment groups.

TABLE 1. Baseline Characteristics of the Patients

	PEG + RBV (N = 52)	IFN + RBV (N = 43)	Total (N = 95)
Age (y)*	40	40	40
Male gender (%)	63	74	68
Body weight (kg)*	62	64	63
HIV-1 risk factor (% IDUs)	75	91	82
Duration of HIV infection (y)*	10	12	11
Patients on ART (%)	94	81	88
Baseline CD4 count (cells/mm ³)*	570	556	560
Baseline HIV viral load (copies/mL)*	199	199	199
HCV genotype (%)	55	43	49
1	4	2	3
2	33	33	33
3	8	21	14
4	0	2	1
Not typable			
HCV RNA level (% <800,000 IU/mL)	53	38	46
Duration of HCV infection (y)*	17	17.5	17
Inflammatory Scheur's score*	3	4	3
Fibrosis Scheur's score (%)			
0-2	71	69	70
3-4	29	31	30

None of the differences were statistically significant.

*Median.

ART indicates antiretroviral therapy; IDUs, intravenous drug users.

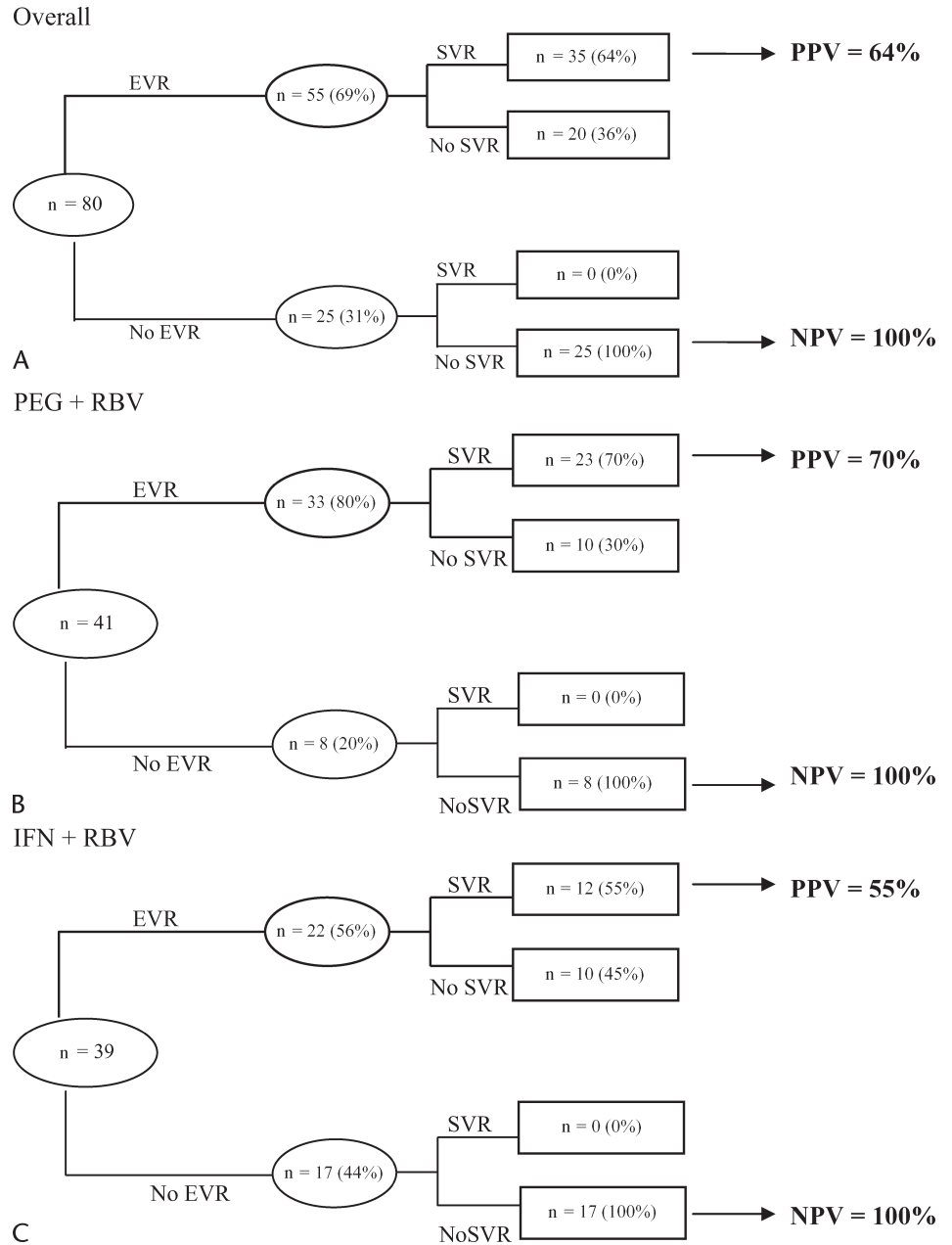


FIGURE 1. EVR as a predictor of SVR in those patients who achieved 12 weeks on therapy (n = 80).

The overall PPV of the SVR for individuals showing an EVR was 64% (Table 2). Regarding the kind of interferon used in the therapy, the PPV value of an EVR was 55% in the case of IFN-based therapy and 70% in the case of the PEG-based regimen (see Table 2; see Fig. 1). Conversely, none of the patients treated with any kind of interferon who demonstrated a decline in HCV RNA level <2 logs at week 12 reached an SVR (NPV of 100%).

In 19 patients, HCV RNA was undetectable at week 4. The PPV achieved with this vEVR was 89%, and the NPV was 70%. Considering the kind of interferon used, the PPV of the vEVR was 67% when a patient was on IFN-based therapy and 100% when a patient was on the PEG-based regimen.

DISCUSSION

The high morbidity, moderate rate of SVR, and high cost of treatment with interferon and RBV-based HCV therapy have prompted research to evaluate factors that may predict the final outcome therapy. Previous studies have shown that in HCV-monoinfected patients, an EVR could be useful in indicating which patients are likely to respond to the therapy.¹⁶⁻¹⁹ There are few data in the literature that confirm an EVR's usefulness in predicting treatment outcome in HIV/HCV-coinfected patients, however.^{6-8,21,22}

In our series, an EVR was reached in 69% of those 80 patients who completed 12 weeks on therapy, and 44% of them attained an SVR; the PPV for this cohort was 64%. There were

TABLE 2. Percentages of EVR and SVR by Intent-to-Treat Analysis in Those Patients Who Completed 12 Weeks on Therapy (n = 80)

	EVR	SVR	PPV	NPV
Overall (n = 80)	69	44	64	100
IFN (n = 39)	56	31	55	100
PEG (n = 41)	80	56	70	100
Genotypes 1 + 4 (n = 48)	54	31	58	100
IFN (n = 24)	38	12.5	33	100
PEG (n = 24)	71	50	71	100
Genotypes 2 + 3 (n = 30)	93	63	68	100
IFN (n = 14)	93	64.2	69	100
PEG (n = 16)	94	62.5	67	100

IFN indicates interferon- α -2b; PEG, pegylated interferon- α -2b.

also clear differences between treatment groups; the rates of SVR are intimately related to the EVR, and we could detect how patients treated with PEG demonstrated a better response than the patients who received IFN. A possible pathogenic explanation would be a better initial decrease of HCV plasmatic viremia when we used this new interferon formulation compared with the classic formulation.²³ This idea seems to be confirmed when we analyze the results of vEVR; clearly, the response is better in the group of patients treated with PEG.

In the same way as the SVR, the EVR in the coinfecting patients is lower than that obtained in similar studies in mono-infected patients;^{17,18} in addition, the chances of an SVR tend to be lower in early virologic responders in the setting of HIV/HCV coinfection, possibly because of a greater number of relapses.²²

If we focus our attention on the group of patients with a better rate of virologic response, those treated with PEG, we must emphasize the high PPV related to an EVR, which reaches 70% even in those patients with genotype 1 or 4.

Similar to previously published studies in mono-infected patients¹⁸ as well as to the few data available on coinfecting populations,^{7,22} no patients in our study achieved an SVR in the absence of an EVR. In light of potential toxicities and costs, the high NPV allowed us to stop the treatment for those patients who did not achieve an EVR. Nevertheless, individual decisions regarding discontinuation of antiviral treatment in patients with advanced fibrosis should consider the possible beneficial effects of maintaining the therapy (ie, decreasing necroinflammatory activity and slowing the progression of fibrosis),^{7,8} even in the absence of a viral response.^{7,25}

At the present time, increasing interest exists in analysis of the kinetics of viral elimination after beginning treatment with interferon so as to determine the optimal time point for evaluation of the HCV RNA level and to predict the final response as early as possible. Some examples of these studies in mono-infected patients are the evaluation of the HCV response at week 2 in a new course of treatment in relapsed patients²⁶ or evaluation of the EVR at week 4 in a group of previous nonresponding patients.²⁷ Similarly, a recent study from Cargnel et al²⁸ shows that the EVR in coinfecting patients at week 8 is strongly associated with a likelihood of achieving an SVR. Our results at week 4 are in agreement with these

data; HCV RNA levels in almost 90% of the patients with an vEVR remain undetectable at the end of the follow-up period. Nevertheless, we are aware that new studies with a large number of patients are necessary to validate all these data and to express a consensus rule to establish the best point time for evaluation of the EVR.

In conclusion and considering the limited size of this cohort, the results of our study suggest that the rules of reduction of 2 log of the viral load at week 12 of HCV therapy in coinfecting patients have the same value as those in mono-infected patients. The high PPV provides a goal to motivate adherence during the therapy and stimulates patients to continue the treatment. In the same way, the high NPV forces us to consider discontinuation of anti-HCV treatment in HIV/HCV-coinfecting patients who do not achieve an EVR.

REFERENCES

1. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med.* 1998;338:853–860.
2. Sulkowski M, Thomas D. Hepatitis C in the HIV-infected person. *Ann Intern Med.* 2003;138:197–207.
3. Bica I, McGovern B, Dhar R, et al. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2001;32:492–497.
4. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivire Group. *Hepatology.* 1999;30:1054–1058.
5. Sulkowski MS, Thomas DL, Chaisson RE, et al. Elevated liver enzymes following initiation of antiretroviral therapy. *JAMA.* 2000;283:2526–2527.
6. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, et al. APRICOT Study Group. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2004;351:438–450.
7. Chung RT, Andersen J, Volberding P, et al. AIDS Clinical Trials Group A5071 Study Team. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfecting persons. *N Engl J Med.* 2004;351:451–459.
8. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, et al. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2004;292:2839–2848.
9. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS.* 2004;18:27–36.
10. Dieterich DT. Treatment of hepatitis C and anemia in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis.* 2002;185(Suppl 2):S128–S137.
11. Moreno A, Quereda C, Moreno L, et al. High rate of didanosine-related mitochondrial toxicity in HIV/HCV-coinfecting patients receiving ribavirin. *Antivir Ther.* 2004;9:133–138.
12. Bani-Sadr F, Carrat F, Pol S, et al. Risk factors for symptomatic mitochondrial toxicity in HIV/hepatitis C virus coinfecting patients during interferon plus ribavirin-based therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005;40:47–52.
13. Bani-Sadr F, Carrat F, Rosenthal E, et al. Spontaneous hepatic decompensation in patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus during interferon-ribavirin combination treatment. *Clin Infect Dis.* 2005;41:1806–1809.
14. Mauss S, Valenti W, DePamphilis J, et al. Risk factors for hepatic decompensation in patients with HIV/HCV coinfection and liver cirrhosis during interferon-based therapy. *AIDS.* 2004;18(Suppl):F21–F25.
15. Civeira MR, Prieto J. Early predictors of response to treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 1999;31(Suppl 1):237–243.
16. Lee SS, Heathcote EJ, Reddy KR, et al. Prognostic factors and early predictability of sustained viral response with peginterferon alfa-2a (40 KD). *J Hepatol.* 2002;37:500–506.

17. Fried MW, Shiffman ML, Reddy RK, et al. Peginterferon alpha-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002;347:975–982.
18. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, et al. Early virologic response to treatment with peginterferon alpha-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:645–652.
19. Ferenci P. Predicting the therapeutic response in patients with chronic hepatitis C: the role of viral kinetic studies. *J Antimicrob Chemother*. 2004;53:15–18.
20. Sherman KE, Shire NJ, Rouster SD, et al. Viral kinetics in hepatitis C or hepatitis C/human immunodeficiency virus-infected patients. *Gastroenterology*. 2005;128:313–327.
21. Torriani F, Ribeiro R, Gilbert T, et al. HCV and HIV dynamics during HCV treatment in HCV/HIV coinfection. *J Infect Dis*. 2003;188:1498–1507.
22. Soriano V, Nunez M, Camino N, et al. Hepatitis C virus-RNA clearance in HIV-coinfected patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon plus ribavirin. *Antivir Ther*. 2004;9:505–509.
23. Davis GL. Monitoring of viral levels during therapy of hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36(Suppl 1):145–151.
24. Di Martino V, Thevenot T, Boyer N, et al. HIV coinfection does not compromise liver histological response to interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *AIDS*. 2002;16:441–445.
25. Deleted in proof.
26. Halfon P, Khiri H, Tran A, et al. Hepatitis C virus RNA load in relapsed patients: week two of treatment is the best time to predict the complete response. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15:1067–1071.
27. Trimoulet P, de Ledinghen V, Foucher J, et al. Predictive value of early HCV RNA quantitation for sustained response in nonresponders receiving daily interferon and ribavirin therapy. *J Med Virol*. 2004;72:46–51.
28. Cargnel A, Angeli E, Mainini A, et al. Italian Co-Infection Study (ICOS) Group. Open, randomized, multicentre Italian trial on PEG-IFN plus ribavirin versus PEG-IFN monotherapy for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients on HAART. *Antivir Ther*. 2005;10:309–317.

Artículo 4:

Laguno M, Cifuentes C, Murillas J, Veloso S, **Larrousse M**, Payeras A, Bonet L, Vidal F, Milinkovic A, Bassa A, Villalonga C, Pérez I, Tural C, Martínez-Rebollar M, Calvo M, Blanco JL, Martínez E, Sánchez-Tapias JM, Gatell JM, Mallolas J.

Randomized trial comparing pegylated interferon alpha-2b versus pegylated interferon alpha-2a, both plus ribavirin, to treat chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus patients.

Hepatology 2009;49:22-31.

Randomized Trial Comparing Pegylated Interferon α -2b Versus Pegylated Interferon α -2a, Both Plus Ribavirin, to Treat Chronic Hepatitis C in Human Immunodeficiency Virus Patients

Montserrat Laguno,¹ Carmen Cifuentes,² Javier Murillas,³ Sergio Veloso,⁴ Maria Larrousse,¹ Antoni Payeras,² Lucia Bonet,³ Francesc Vidal,⁴ Ana Milinkovic,¹ Antoni Bassa,² Concha Villalonga,³ Iñaki Pérez,⁵ Cristina Tural,⁶ Maria Martínez-Rebollar,¹ Marta Calvo,¹ Jose Luis Blanco,¹ Estaban Martínez,¹ Jose M. Sánchez-Tapias,⁷ Jose M. Gatell,¹ and Jose Mallolas¹

Although two pegylated interferons (Peg-IFN) are available to treat chronic hepatitis C virus (HCV) infection, no head-to-head comparative studies have been published. We aim to compare the efficacy and safety of PEG IFN alfa-2b (PEG 2b) versus PEG IFN alfa-2a (PEG 2a), plus ribavirin (RBV). A prospective, randomized, multi-center, open-label clinical trial including 182 human immunodeficiency virus (HIV)–hepatitis C virus (HCV) patients naïve for HCV therapy was performed. Patients were assigned to PEG 2b (80-150 μ g/week; n = 96) or PEG 2a (180 μ g/week; n = 86), plus RBV (800-1200 mg/day) for 48 weeks. The primary endpoint was sustained virological response (SVR: negative HCV-RNA 24 weeks after completion of treatment). At baseline, both groups were well balanced: 73% male; 63% HCV genotype 1 through 4; 29% had fibrosis index of 3 or greater. The overall SVR was 44% (42% PEG 2b versus 46% PEG 2a, $P = 0.65$). Among genotypes 1 through 4, SVRs were 28% versus 32% ($P = 0.67$) and 62% versus 71% ($P = 0.6$) in genotypes 2 through 3 for PEG 2b and PEG 2a, respectively. Early virological response (EVR; ≥ 2 log reduction from baseline or negative HCV-RNA at week 12) was 70% in the PEG 2b group and 80% in the PEG 2a group ($P = 0.13$), reaching a positive predictive value of SVR of 64% and a negative predictive value of 100% in both arms. Side effects were present in 96% of patients but led to treatment discontinuation in 10% of patients (8% on PEG 2b and 13% on PEG 2a, $P = 0.47$). **Conclusion:** In patients with HIV, HCV therapy with PEG 2b or PEG 2a plus RBV had no significant differences in efficacy and safety. (HEPATOLOGY 2009;49:22-310.)

Liver disease caused by chronic hepatitis C virus (HCV) infection is a leading cause of morbidity and mortality among human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients in the developed world and

represents an important health care problem in this population^{1,2}; thus, the adequate management of HCV-related chronic liver disease in HIV-infected patients arises as a major priority.

Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; ART, antiretroviral treatment; EVR, early virological response; HCV, hepatitis C virus; HIV, human immunodeficiency virus; NPV, negative predictive value; PEG IFN, pegylated interferon; PEG 2a, pegylated interferon alfa 2a; PEG 2b, pegylated interferon alfa 2b; PPV, positive predictive value; RBV, ribavirin; RVR, rapid virological response; SVR, sustained virological response.

From the ¹Infectious Diseases Service, Hospital Clínic, Barcelona, Spain; ²Internal Medicine Service, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca, Spain; ³Internal Medicine Service, Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca, Spain; ⁴Internal Medicine Service, Hospital Joan XXIII and Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain; ⁵Biostatistics, Hospital Clínic, Barcelona; ⁶Internal Medicine Service, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain; and ⁷Hepatology Service, Hospital Clínic, Barcelona, Spain.

Received July 4, 2008; accepted August 21, 2008.

Dr. M. Laguno is funded by a grant from the Spanish Ministry of Health (FIS 2007). Dr. Mallolas is funded by a grant from the "Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer" (IDIBAPS). This study was supported in part by a research grant from the "Red Temática de Investigación en SIDA (Red de grupos del FIS).

Address reprint requests to: MMontserrat Laguno, Infectious Diseases Unit, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. E-mail: mlaguno@clinic.ub.es; fax: (34) 3-4515424

Copyright © 2008 by the American Association for the Study of Liver Diseases.

Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

DOI 10.1002/hep.22598

Potential conflict of interest: Dr. Payeras is on the speakers' bureau of Roche and Abbott Laboratories. Dr. Mallolas is a consultant for Roche and Schering-Plough.

Over the past years, we have experienced a great advance in the knowledge of the natural history of this chronic infection and the possible interactions between both viruses in co-infected individuals,³⁻⁶ and we have explored the efficacy of different drugs for viral eradication. Pegylated interferon (PEG IFN) combined with ribavirin (RBV) has become the gold standard for HCV treatment in HIV co-infected patients since 2004.⁷⁻¹⁰

Two formulations of PEG IFN alpha are currently available on the market: PEG IFN alfa-2a (PEG 2a) and PEG IFN alfa-2b (PEG 2b) with similar patterns of adverse effects.^{11,12} The efficacy data, measured by the sustained virological response (SVR), range between 22% and 55% depending on the study that we analyzed.^{7-10,13-15} These two drugs differ in terms of their chemical structure and pharmacokinetic properties^{11,12}; these differences, as well as the study design and patient population included in each trial, may account for the variation in the rate of SVR across studies. Despite the existence of consistent data on the therapeutic efficacy of both molecules in co-infected patients,^{7-10,13-15} no head-to-head comparisons between the two pegylated interferons have been published so far. In HCV-monoinfected patients¹⁶⁻¹⁹ and recently in HIV co-infected patients,²⁰ cross-study comparisons and retrospective analyses of previous data have been published; however, these results are difficult to interpret because trials were not randomized, and the study design, doses of anti-HCV drugs, and baseline characteristics of patients were not consistent among studies. Only preliminary data from two different prospective, comparative studies on HCV-monoinfected patients have been reported recently.^{21,22} Therefore, we aimed to prospectively compare the efficacy and safety, in terms of SVR and adverse events, of PEG 2b plus RBV versus PEG 2a plus RBV in previously untreated HCV patients co-infected with HIV.

Patients and Methods

Patients. HIV-HCV co-infected individuals who received medical care for HIV infection were consecutively enrolled between January 2003 and March 2006. The patients had to fulfill the following inclusion criteria: previously untreated chronic hepatitis C with positive HCV-RNA in plasma, alanine aminotransferase (ALT) levels greater than 1.5-fold higher than the upper limit of normal, and histological modifications in the liver biopsy; control of HIV infection with CD4+ cell count above 250 cells/mm³, and HIV viral load lower than 50,000 copies/mL, in response to a stable antiretroviral treatment (ART) or without ART if not required. Exclusion criteria were presence of other causes of hepatopathy, decompen-

sated cirrhosis, pregnancy, and formally known contraindications for PEG IFN or RBV therapy such as hemoglobinopathies, cardiopathy, autoimmune diseases, major depression or other severe psychiatric pathological conditions, and active illicit drug consumption within the last 12 months.

Study Design and Participating Centers. The study was a prospective, multicenter, randomized, open-label trial carried out in the specialized HIV units of five hospitals of Spain (Hospital Clinic, Barcelona; Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca; Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca; Hospital Joan XXIII, Tarragona; Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona). The institutional ethics committee approved the protocol in each center, and all patients provided written informed consent before entering the study.

Treatment and Monitoring. Eligible patients were randomly assigned to one of the two study treatments in equal proportions by means of a computer-generated table of random numbers. The first treatment group received PEG 2b (Peg-Intron, Schering Corp., Kenilworth, NJ) subcutaneously (80-150 μ g adjusted to body weight) once per week, plus daily oral RBV (Rebetol, Schering Corp.). The second group received PEG 2a (Pegasys, F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland) subcutaneously (180 μ g) once per week, plus daily oral RBV (Copegus, F. Hoffmann-La Roche). The dose of RBV was adjusted to body weight: 800 mg for body weight below 60 kg, 1000 mg when it was between 60 and 75 kg, and 1200 mg when it was above 75 kg. The dose of RBV was divided into two daily doses. The duration of therapy was 48 weeks for all patients.

Patients were evaluated before treatment, 2 weeks after initiation of treatment, and every 4 weeks thereafter until cessation of therapy. One last evaluation was performed 24 weeks after cessation of therapy to evaluate the SVR. A complete cell count and routine chemistry tests including lactate were conducted at every medical visit, as well as a medical interview to monitor possible secondary effects associated with treatment. Thyroid function, plasma HIV viral load, and CD4+ cell count were also evaluated at week 4 and every 12 weeks thereafter. Serum HCV-RNA was measured by a quantitative polymerase chain reaction assay at baseline, and 12 weeks after initiation of therapy [Versant HCV-RNA 3.0 (bDNA), Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY]. HCV-RNA was measured by a qualitative polymerase chain reaction assay (Versant HCV RNA Qualitative Assay, Siemens Medical Solutions Diagnostics) with a sensitivity of 30 IU/mL during weeks 4, 24, 36, and 48 of treatment, and 24 weeks after cessation of treatment. HCV genotyping was done as previously described.²³ Liver biopsy was performed in all

patients before randomization, and biopsy samples were analyzed and graded according to Scheuer's classification.²⁴

Assessment of Efficacy. The primary measure of efficacy was the SVR, defined as undetectable HCV-RNA in serum at the end of follow-up (24 weeks after cessation of treatment) by an intent-to-treat (ITT) analysis. Patients with detectable HCV-RNA after 24 weeks of therapy were considered failures, and therapy was discontinued. Secondary parameters of efficacy were: the rate of early virological response (EVR), defined as negative HCV-RNA or a 2 or greater log reduction of HCV-RNA from baseline at week 12 of treatment; the rate of rapid virological response (RVR), defined as negative HCV-RNA at week 4 of treatment; sustained biochemical response, defined as the presence of normal ALT values at the end of 24 weeks of follow-up; and the rate of relapse, defined as patients with end-of-treatment response but not SVR. Finally, we analyzed the positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) to achieve the SVR for those patients with RVR and EVR.

Assessment of Safety. Adverse events were graded as mild, moderate, severe, or potentially life-threatening according to a modification of the World Health Organization scale.²⁵ Therapy was permanently discontinued in patients developing life-threatening events. In cases of hematological toxicity, the RBV or PEG IFN dose was lowered according to the drug label recommendations,^{11,12} and full doses were restarted when the hematological parameters returned to previously normal levels for that patient. The use of granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin was permitted in this study and used at the discretion of the doctor responsible for each patient.

Statistical Analysis. A descriptive analysis of the baseline variables was conducted, including measures of central tendency and dispersion. These values were compared to ensure that the demographic, epidemiological, clinical, laboratory, and histopathological characteristics were similar between both groups of therapy. The inferential analysis of the continuous quantitative variables was performed, when possible, by means of a parametric test (Student *t* test) or a nonparametric test (*U*—Mann Whitney test). The analysis of the dichotomic variables (response/no response) was made by means of a chi-squared test or a Fisher's exact test. Analyses were done by "intent to treat" on the entire treated population (all patients who received at least one dose of study medication). A logistic regression analysis was carried out using the SVR as the dependent variable. Univariate logistic regression was used to confirm the importance of previously identified prognostic factors. To assess the independence of these factors, a backward elimination procedure was

then undertaken using the factors that were significant in the univariate analyses. All reported *P*-values are two-sided. Data were analyzed by STATA (StataCorp, 2005, Stata Statistical Software: Release 9.2. College Station, TX: Stata Corp.).

The sample size (164 patients; 82 in each arm of study) was calculated on the basis of a bilateral test of comparison of a proportion observed with respect to a theoretical proportion.²⁶ We aimed to detect differences above 20 percentage points if they existed (assuming a response rate of 40% in the best group versus 20% in the other group), with an alpha risk of 0.05 and a power of 80%.

Results

Patient Characteristics. Enrollment began in January 2003, and the trial was completed in October 2007. A total of 182 patients were included in this study (86 in the PEG 2b arm and 96 in the PEG 2a arm).

Patients who received at least one dose of medication were evaluated in the ITT analyses. Baseline characteristics, including histological findings in liver biopsies, were similar between the two treatment groups (Table 1). Most patients were male (73%). Mean overall age, weight, and height were 41 years, 68 kg, and 170 cm, respectively. Seventy-six percent of subjects had a history of illicit intravenous drug consumption. The mean time since their chronic hepatitis C infection was 18 years. The most frequent genotypes in our patients were 1 and 3 (45% and 34%, respectively). Baseline HCV-RNA concentration was higher than 600,000 IU/mL in 59% of patients and 400,000 IU/mL or less in 24% of patients.

Sixty-eight percent of patients had a fibrosis index of 2 or greater, and one third of our population had bridging fibrosis or cirrhosis in the liver biopsy. Thirty percent of the overall population had steatosis in the liver biopsy, with no significant differences among HCV genotypes, or antiretroviral treatment groups.

Mean time from HIV diagnosis was 11 years. Seventy-three percent of patients had a baseline HIV-RNA plasma level less than 200 copies/mL. The mean CD4+ cell count before initiation of HCV therapy was 598 cells/mm³, and almost 92% of patients had basal CD4+ cell counts greater than 300 cells/mm³. One hundred fifty-one patients (83%) included in this study received ART throughout the study period. Most of these patients (56%) were on a treatment regimen containing two nucleoside analog reverse transcriptase inhibitors plus one nonnucleoside analog reverse transcriptase inhibitor. Thirty-five patients (22%) had taken abacavir as a component in their ART regimen (16% and 28%, in the PEG 2b and the PEG 2a groups, respectively; *P* = 0.084).

Table 1. Baseline Characteristics of the Patients

Characteristic	Interferon			P Value	
	PEG 2b (n = 86)	PEG 2a (n = 96)	All (n = 182)		
Male sex, n (%)	68 (79.1)	64 (66.7)	132 (72.5)	0.07	
Age (years)*	40.7 (5.0)	40.6 (5.4)	40.7 (5.2)	0.9	
Age at time to HCV infection (years)*	23.3 (6.9)	22.2 (6.6)	22.8 (6.8)	0.34	
Baseline weight (kg)*	69.4 (12.3)	67.3 (10.8)	68.3 (11.5)	0.25	
Baseline height (cm)*	171 (9)	170 (8)	170 (8)	0.68	
HCV genotype, n (%)				0.53	
	1	47 (50.5)	79 (45.4)		
	2	3 (3.7)	6 (3.4)		
	3	31 (38.3)	28 (30.1)		
	4	15 (18.5)	15 (16.3)		
Baseline HCV-RNA >400,000 IU/mL, n (%)	65 (78.3)	69 (74.1)	134 (76.1)	0.60	
Baseline HCV-RNA >600,000 IU/mL, n (%)	50 (60.2)	54 (58.1)	104 (59.1)	0.88	
Baseline HCV-RNA >800,000 IU/mL, n (%)	48 (57.8)	50 (53.7)	98 (55.7)	0.66	
Fibrosis score†				1	
	0-2	51 (70.8)	64 (71.1)		
	3-4	21 (29.2)	26 (28.9)		
Baseline ALT (grade I- II), n (%)	63 (73.2)	73 (76)	136 (74.7)	0.73	
HIV risk group, n (%)	IDU	69 (81.2)	68 (70.8)	137 (75.7)	0.18
	HMX	4 (4.7)	7 (7.3)	11 (6.1)	
	HTX	9 (10.6)	20 (20.8)	29 (16)	
	Others	3 (3.5)	1 (1)	4 (2.1)	
Baseline CD4 cell count (cell/mL)*	592.5 (269.2)	602.3 (279.6)	597.7 (274.0)	0.81	
Baseline CD4 cell count >300 cell (mL), n (%)	78 (91.8)	88 (91.7)	166 (91.7)	1	
HIV viral load < 200 copies/mL, n (%)	63 (74.1)	70 (72.9)	133 (73.5)	0.87	

None of the differences was statistically significant. (Fisher's exact test for categorical factors and *t* test or Mann-Whitney *U* test for continuous).

*Mean (SD).

RBV, ribavirin; PEG 2b, Peg-interferon alfa 2b; PEG 2a, Peg-interferon alfa 2a; IDU, intravenous drug users; HIV, human immunodeficiency virus; HCV, hepatitis C virus.

Outcome. Response rates are summarized in Fig. 1 and Table 2. In the global intent-to-treat analyses, 44% of patients reached SVR (42% versus 46%, for PEG 2b and PEG 2a, respectively; $P = 0.654$). Among patients with HCV genotype 1 or 4, the rates of SVR were not different between treatment groups (28% versus 32%; $P = 0.676$). Likewise, no significant differences were found in SVR rates in patients with genotype 2 or 3 (62% and 71%; $P = 0.6$).

The proportion of patients who had HCV-RNA undetectable during therapy but relapsed in the follow-up was small in both treatment groups: 8% in the PEG 2b arm versus 6% in the PEG 2a arm ($P = 0.774$).

Fifty-two patients became negative for HCV-RNA after 4 weeks on PEG IFN therapy. Thus, an RVR was obtained in 35% of patients, and this response was similar in both treatment groups. There were no significant differences in RVR rates between arms of therapy within the genotype 1 or 4 group (21% in PEG 2b versus 16% in PEG 2a, $P = 0.587$), or the genotype 2 or 3 group (55% versus 78%, $P = 0.141$). The overall PPV of RVR for subsequent SVR was 81% (88% for PEG 2b versus 74% for PEG 2a, $P = 0.295$). Among patients with genotypes 1 or 4, the PPV was 75% (87% versus 62%, $P = 0.569$) and 82% for genotypes 2 or 3 (87% versus 78%, $P = 0.660$). The NPV of global RVR for not achieving SVR

was 74% (79% versus 70% for PEG 2b and PEG 2a, respectively, $P = 0.360$). In the group of patients with genotype 1 or 4, the NPV was 78% (87% versus 72%, $P = 0.157$); whereas in those patients with genotypes 2 or 3 the NPV was 61% similar in both arms of therapy.

Of the entire population, an EVR was achieved in 115 patients (75%), and the rates were similar between treatment groups (69% versus 80%, $P = 0.133$). Regarding HCV genotypes, the rate of EVR in the genotype 1 or 4 group was 57% in PEG 2b and 71% in PEG 2a ($P = 0.181$); for genotype 2 or 3, the rate of EVR was 83% and 96%, respectively ($P = 0.197$). The overall PPV of the SVR for individuals showing an EVR was 64%, with almost identical PPVs between treatment groups. Likewise, we did not observe significant differences between treatments for genotypes 1 or 4 (50% versus 51%, $P = 1$) and genotypes 2 or 3 (76% versus 81%, $P = 0.743$). The NPV of not obtaining a SVR in patients who did not obtain an EVR was 100%, regardless of treatment and genotype.

Regarding baseline HCV-RNA, no differences in SVR were observed between the patients with low baseline levels (<400,000 IU/mL) or those with HCV-RNA 400,000 IU/mL or greater (55% versus 41%, $P = 0.154$). Moreover, the overall rate of SVR was independent of the degree of fibrosis ($P = 0.725$) and also in the analyses by treatment groups.

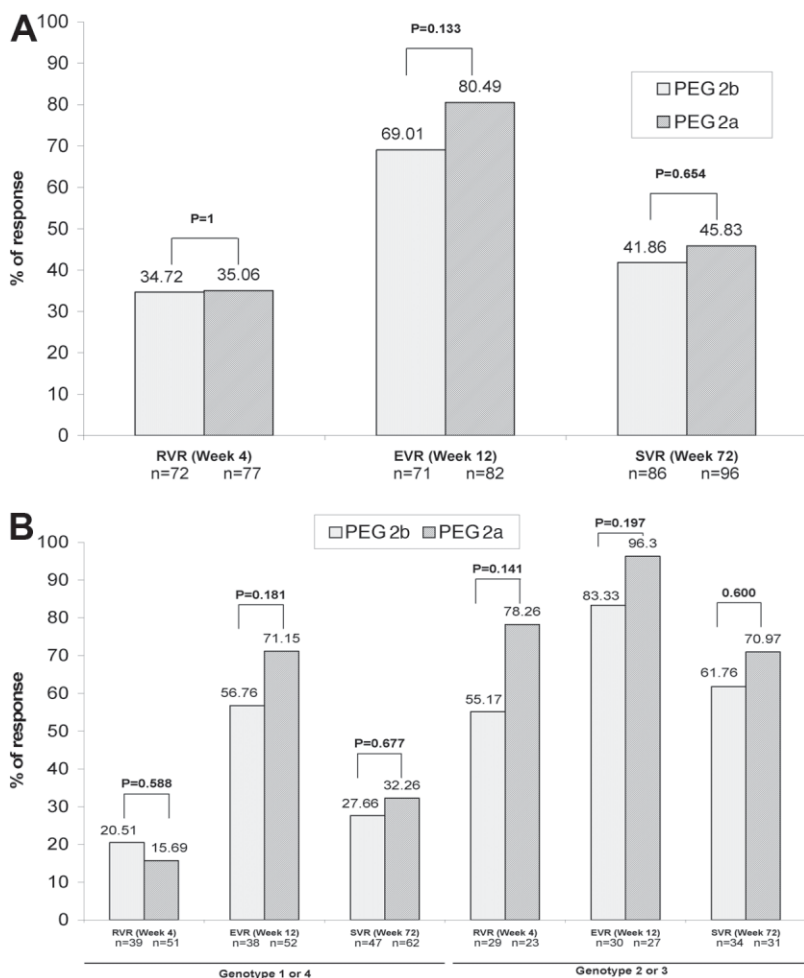


Fig. 1. Response rate by ITT. (A) Global; (B) By genotype. RVR, rapid virological response at week 4; EVR, early virological response at week 12; SVR, sustained virological response 24 weeks after cessation of therapy.

The overall sustained biochemical response rate seen in this study was 50%. Among patients with SVR, 14 (18%) did not achieve normal values of ALT at the end of follow-up.

To examine the influence of potentially important prognostic factors for SVR, we assessed the following variables by univariate and multivariate methods (Table 3): HCV genotype, baseline HCV-RNA and ALT concen-

Table 2. Percentages of Rapid Virological Response (RVR) and Early Virological Response (EVR) by Genotype and Their Positive Predictive Value (PPV) and Negative Predictive Value (NPV) of SVR in the Overall Cohort and by HCV Genotype

	PEG 2b N = 86			PEG 2a N = 96			Overall N = 182			P Value*		
	1/4	2/3	All	1/4	2/3	All	1/4	2/3	All	1/4	2/3	All
RVR	21	55	35	16	78	35	18	65	35	0.587	0.141	1
PPV of SVR	87	87	88	62	78	74	75	82	81	0.569	0.660	0.295
NPV of SVR	87	61	79	72	60	70	78	61	74	0.157	1	0.360
EVR	57	83	69	71	96	80	65	89	75	0.181	0.197	0.133
PPV of SVR	50	76	65	51	81	64	51	78	64	1	0.743	1
NPV of SVR	100	100	100	100	100	100	100	100	100	1	1	1
SVR	28	62	42	32	71	46	30	66	44	0.676	0.600	0.654
SVR by degree of fibrosis												
0-1 (n = 51)	25	38	32	53	56	54	41	45	43	0.250	0.665	0.263
2-4 (n = 105)	34	73	48	27	75	43	30	74	45	0.598	1	0.701
SVR by baseline HCV-RNA												
≤400,000 IU/mL (n = 37)	37	37	37	55	80	67	47	61	54	0.649	1	0.117
>400,000 IU/mL (n = 132)	27	69	44	27	65	38	27	67	41	10.144	1	0.483

PEG 2b, Peg-interferon alpha 2b; PEG 2a, Peg-interferon alpha 2a.

Percentage sustained virological response (SVR) in overall patients, by genotype, degree of liver fibrosis, and baseline HCV viral load.

*Fisher's exact test: No statistically significant differences.

Table 3. Univariate and Multivariate Analysis of SVR Predictors

Effect	Odds Ratio	Lower 95% Confidence Limit OR	Upper 95% Confidence Limit OR	Pr Chi-Squared	Odds Ratio	Lower 95% Confidence Limit OR	Upper 95% Confidence Limit OR	Pr > Chi-Squared
PEG 2a versus PEG 2b	1.258	0.693	2.282	0.4501	1.606	0.813	3.171	0.1725
Therapy modifications (Yes versus No)	0.994	0.486	2.034	0.9872				
HCV RNA >800,000 IU/mL versus ≤800,000	0.797	0.438	1.451	0.4579				
HCV RNA >600,000 IU/mL versus ≤600,000	0.745	0.407	1.364	0.3406				
HCV RNA >400,000 IU/mL versus ≤400,000	0.575	0.286	1.156	0.1205				
Fibrosis 3-4 versus 0-2	1.051	0.541	2.040	0.8839				
Steatosis (Yes versus No)	1.116	0.400	3.110	0.8339				
ART (Yes versus No)	0.690	0.318	1.497	0.3473				
ABC use (Yes versus No)	1.059	0.495	2.263	0.8824				
Sex: male versus female	2.000	1.008	3.968	0.0475	2.828	1.241	6.447	0.0134
Age ≤ 40 years versus > 40 years	2.035	1.123	3.688	0.0192	2.637	1.308	5.317	0.0067
HIV Viral load ≤200 versus >200 cp/m	1.293	0.661	2.531	0.4531				
Baseline ALT	1.003	0.998	1.008	0.2501				
CD4 cell count ≤350 versus >350	0.453	0.199	1.032	0.056				
HCV Genotype: 2-3 versus 1-4	4.501	2.335	8.678	<.0001	4.618	2.317	9.202	<.0001
Weight > 75 kg versus ≤75 kg	0.680	0.334	1.385	0.2878				
EVR (yes versus no)	>999.999	<0.001	>999.999	0.9402				
RVR (yes versus no)	12.506	5.324	29.375	<.0001				
Age at the moment to be infected by HCV	0.973	0.929	1.020	0.3394				
Fibrosis 2-4 versus 0-1	0.767	0.385	1.525	0.4489				
CDC stage B versus A	0.610	0.248	1.502	0.1004				
CDC stage C versus A	0.452	0.210	0.975	0.1004				

For multivariate analysis only statistically significant values were included in the table. HIV, human immunodeficiency virus; ART, antiretroviral therapy; ABC, Abacavir; HCV, hepatitis C virus; ALT, alanine aminotransferase; PEG 2b, Peg-interferon alfa 2b; PEG 2a, Peg-interferon alfa 2a; RVR, rapid virological response; EVR, early virological response. Therapy modifications = any change in the initial doses of anti-HCV drugs that the patient needed during the study.

tration, degree of fibrosis and presence of steatosis in the liver biopsy before starting therapy, age at the moment of HCV infection, baseline CD4 cell count and plasma HIV viral load, HIV classification at baseline, use of ART for HIV, therapy containing abacavir, age, sex, baseline body weight, class of interferon, the need to modify the dose of HCV therapy, and on-treatment markers of good virological response (RVR and EVR). Male sex ($P = 0.047$), age 40 years or younger ($P = 0.019$), HCV genotypes 2 or 3 ($P < 0.0001$), and achieving an RVR ($P < 0.0001$) were significantly associated with a higher likelihood of SVR. When these variables and the class of interferon were included in the multivariate analysis, only genotype 2 or 3 ($P < 0.0001$), male gender ($P = 0.013$), and age 40 years or younger ($P = 0.007$) remained as independent predictors associated with better SVR rate.

Safety Evaluation. Eighty-one percent of the patients included in the study completed the 48 weeks of treatment; only 32 patients (18%) had premature discontinuation (14 in the PEG 2b and 18 in the PEG 2a group, $P = 0.7$). Nineteen (10%) patients discontinued treatment because of adverse events, 8% in the PEG 2b and 13% in the PEG 2a arms ($P = 0.467$). The main causes were as follows: five cases of psychiatric disorders, five

cases of severe flu-like syndrome or general discomfort, four cases of thrombocytopenia or leukopenia, two cases of lactic acidosis, one case attributable to a severe debut of psoriatic arthritis, one case of severe weight loss with worsening lipoatrophy and one case of decompensated cirrhosis. Six patients in each therapy arm decided to withdraw therapy before 24 weeks, and one patient was discarded because of a protocol violation.

Ninety-six percent of our patients experienced some type of adverse effect (Fig. 2 and Table 4). The most frequently reported ones were general symptoms such as fatigue, anorexia, fever, myalgia, and headache (flu-like syndrome) that appeared in 87% of patients, especially at the beginning of treatment. Neuropsychiatric symptoms (irritability, apathy, insomnia, depression) were observed in 65% of patients. Hematological disorders were also frequent: anemia (hemoglobin <10.5 g/mL) was observed in 28% of patients early in the course of treatment (weeks 2-8), whereas leukopenia (<2500 cell/mL) and thrombocytopenia (<125,000 cell/mL) appeared in 42% and 38% of patients, respectively, throughout the first semester of treatment.

In general terms, the side effect profiles were similar in both groups of treatment. However, patients on PEG 2a

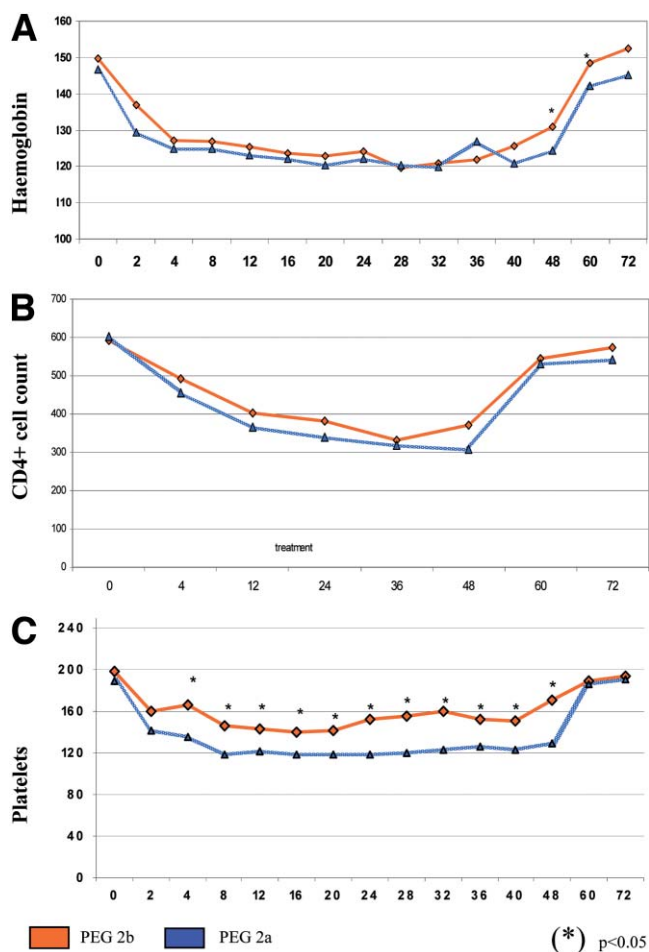


Fig. 2. Evolution of hematological parameters during the therapy: (A) mean hemoglobin; (B) mean CD4+ cell count; (C) mean platelet count.

showed a significantly higher incidence of leukopenia ($P = 0.004$) and thrombocytopenia ($P = 0.0037$) than patients on PEG 2b; also, patients on PEG 2b had a tendency to show more frequent events of flu-like syndrome ($P = 0.064$).

Almost half of the patients (49%) had a grade 3 adverse effect, with a significantly higher incidence in PEG 2a patients (57%) than in PEG 2b (40%) ($P = 0.018$). If we included those patients who stopped treatment because of pharmacological toxicity (grade 4 adverse effects), the incidence rate of severe adverse effects increased to 55% (46% on PEG 2b versus 62% on PEG 2a, $P = 0.037$).

Leukopenia was the most frequently reported hematological adverse event, with an overall prevalence of 42% (30% and 52% for PEG 2b and PEG 2a, respectively, $P = 0.0041$), and was mild to moderate in most cases. Of the patients that developed leukopenia, 19% needed dose drug reduction; 8 patients (2 in the PEG 2b and 6 in the PEG 2a group) required granulocyte-stimulating therapy and 3 patients discontinued treatment because of this adverse effect. Thrombocytopenia developed in 38% of pa-

tients (27% and 48% for PEG 2b and PEG 2a, respectively, $P = 0.0037$); 9% of patients had a platelet count decrease that required drug dose reduction, and two patients discontinued therapy because of thrombocytopenia. Anemia was present in 28% of patients, between both PEG therapy groups; in 9% of cases, the decrease in hemoglobin levels required a drug dose modification or erythropoietin administration (11 patients; five in the PEG 2b and six in the PEG 2a groups), but none of the patients discontinued the therapy for this reason. Seventy-five percent of patients who developed severe anemia, grade 3 or 4, were taking zidovudine in their scheme of ART.

One hundred eighteen patients in this study (65%) developed neuropsychiatric symptoms during therapy: irritability in 36%, depression (sadness, tiredness, apathy) in 32%, and insomnia in 26%, without statistical differences between both treatment arms. Twenty-two percent of patients required treatment with selective serotonin re-uptake inhibitors such as citalopram or paroxetine, resulting in a significant improvement in their symptoms. Five patients interrupted the interferon-based therapy because of this type of adverse effect.

During the treatment period, three patients developed thyroid dysfunction: two cases of hypothyroidism that needed substitution therapy with levothyroxine and one case of hyperthyroidism treated with metamizol. No patient stopped the HCV therapy for this reason.

Discussion

The cornerstone of treatment for chronic hepatitis C is the combination of pegylated interferon and ribavirin. Two pegylated interferon molecules are commercially available with this indication: PEG 2a and PEG 2b. Currently, several trials are focused on exploring new strategies that maximize treatment effectiveness using either PEG 2b or PEG 2a in different scenarios; nevertheless, to date, no data are available about head-to-head prospective comparative trials on efficacy in HIV-HCV co-infected patients. Therefore, our aim was to perform a controlled study to compare the efficacy and safety of these two therapeutic options in HIV-HCV co-infected patients.

In the current study, both treatment groups were comparable and presented similar baseline characteristics. It is important to emphasize that all patients received a dose of ribavirin adjusted to body weight.

The overall rate of SVR, the primary end-point of the study, was 44% and was similar for the two arms of PEG IFN therapy. The rates of SVR obtained within the different genotype groups (30% in patients with genotypes 1 or 4 and 66% in patients with genotypes 2 or 3) are good and similar to those reported in the most recently pub-

Table 4. Adverse Events: Frequency of Adverse Events During Treatment, Treatment Dose Reduction or Discontinuation Therapy

	PEG 2b (N = 86)	PEG 2a (N = 96)	Total (N = 182)	P Value*
Discontinuation				
Any reason	16	20	19	0.700
Adverse effect	8	13	10	0.567
Adverse Events:				
Any	95	97	96	0.708
Grade III	40	57	49	0.018
Grade IV	13	16	14	0.673
Grade III or IV	47	63	55	0.037
General symptoms:	91	83	87	0.188
Flu-like	71	57	64	0.064
Asthenia	71	72	71	1
Anorexia	49	40	44	0.233
Headache	22	14	18	0.172
Myalgia	22	13	17	0.114
Hematological findings				
Anemia	28	28	28	1
Neutropenia	30	52	42	0.004
Thrombocytopenia	27	48	38	0.004
Gastrointestinal symptoms	24	19	21	0.371
Neuropsychiatric symptoms	69	61	65	0.352
Depression	31	32	32	1
Irritability	43	30	36	0.089
Insomnia	22	29	26	0.311
Dermatological symptoms				
Hair thinning	16	11	14	0.392
Injection-site reaction	13	7	10	0.226
Mitochondrial toxicity	2	5	4	0.449

*Fisher's exact test.

lished trials in HIV patients.¹⁴ The experience gained by medical professionals in managing these patients over recent years and the optimal use of anti-HCV drugs certainly has contributed to this increase in therapy effectiveness. In our study, the strong predictors of SVR resulting from the multivariate analyses were factors already known to be associated with a better response rate such as genotype 2 or 3,^{8-10,13,27} age 40 years or younger, and male sex. Conversely, baseline HCV-RNA viral load and degree of liver of fibrosis were not related to therapeutic response in our series, probably because of the relatively small number of patients included in our study.

The tolerability of HCV therapy remains a weak point of these drugs; development of side effects proved to be very common in both groups of therapy, a finding that is in accordance with previously published studies.^{8-10,13-15} More than half of our cohort required therapeutic intervention including dose modification or introduction of adjuvant therapy. In the current study, serious adverse effects (grades 3 and 4) were more frequently observed in the group of patients receiving PEG 2a.

The toxicological profile of the two PEG IFN molecules was similar, and comparable to those of previous studies. "General symptoms" such as flu-like, asthenia,

and anorexia, were the most common adverse events observed in both treatment groups. Also, neuropsychiatric symptoms and hematological anomalies were very common. Hematological toxicity in the form of thrombocytopenia and leukopenia was observed more frequently in the PEG 2a arm; similar data were reported by other authors in HCV monoinfected²⁸ and co-infected patients.²⁹ Anemia showed similar rates of incidence in both treatment groups and was clearly associated with concomitant use of zidovudine; these data are in agreement with previously reported studies and confirm the importance of avoiding this therapeutic association.²⁹⁻³¹

The dropout rate in our study was very low and was similar in both treatment groups. Close medical supervision of these patients and better management of side effects may have played an important role in this outcome. In addition, the rate of relapsers was low, and this may be related to the high doses of RBV administered to our patients, as suggested in one study with HCV-monoinfected patients.³²

SVR is usually associated with ALT normalization.^{33,34} However, in co-infected patients, the coexistence of other factors that can contribute to liver inflammation, such as alcohol, drugs, or antiretroviral therapy, may explain the high rate of patients (18%) with SVR that failed to

achieve sustained biochemical response in the current study.

About viral kinetics, it is noteworthy that the PPV obtained from the RVR for subsequent SVR was as high as 80% in our study, regardless of the type of PEG IFN therapy or the genotype group. Therefore, in accordance with other studies,^{15,35-37} attaining RVR is highly predictive of attaining SVR. Conversely, failure to attain EVR was a consistent indicator of failure to achieve SVR (NPV 100%) in all cases.

We conclude that in HIV patients, treatment of chronic HCV with ribavirin combined with either PEG 2b or PEG 2a had no statistically significant differences in tolerance and efficacy.

References

- Bica I, McGovern B, Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R, et al. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2001;32:492-497.
- Sulkowski M, Thomas D. Hepatitis C in the HIV-infected person. *Ann Intern Med* 2003;138:197-207.
- Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *HEPATOLOGY* 1999;30:1054-1058.
- Graham CS, Baden LR, Yu E, Mrus JM, Carnie J, Heeren T, et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001;33:562-569.
- Rullier A, Trimoulet P, Neau D, Bernard PH, Foucher J, Lacoste D, et al. Fibrosis is worse in HIV-HCV patients with low-level immunodepression referred for HCV treatment than in HCV-matched patients. *Hum Pathol* 2004;35:1088-1094.
- Cooper CL, Cameron DW. Review of the effect of highly active antiretroviral therapy on hepatitis C virus (HCV) RNA levels in human immunodeficiency virus and HCV coinfection. *Clin Infect Dis* 2002;35:873-879.
- Torriani FJ, Rodríguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-García J, Lazzarin A, et al. APRI-COT Study Group. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2004;351:438-450.
- Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE, et al. AIDS Clinical Trials Group A5071 Study Team. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfecting persons. *N Engl J Med* 2004;351:451-459.
- Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel-Fabiani F, Benzekri A, et al. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;292:2839-2848.
- Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martínez E, Miquel R, Sánchez-Tapias JM, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS* 2004;18:27-36.
- Data sheet of Pegasys. F. Hoffmann-La Roche Ltd., Basel, Switzerland.
- Data sheet of PegINTRON. Schering Corp., Kenilworth, NJ.
- Cargnel A, Angeli E, Mainini A, Gubertini G, Giorgi R, Schiavini M, et al. Open, randomized, multicentre Italian trial on PEG-IFN plus ribavirin versus PEG-IFN monotherapy for chronic hepatitis C in HIV-coinfecting patients on HAART. *Antivir Ther* 2005;10:309-317.
- Soriano V, Miralles C, Berdún MA, Losada E, Aguirrebengoa K, Ocampo A, et al. Premature treatment discontinuation in HIV/HCV-coinfecting patients receiving pegylated interferon plus weight-based ribavirin. *Antivir Ther* 2007;12:469-476.
- Crespo M, Sauleda S, Esteban JI, Juarez A, Ribera E, Andreu AL, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin vs interferon alfa-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfecting patients. *J Viral Hepat* 2007;14:228-238.
- Márquez-Peiró JF, Valero-Alcocer VE, Llopis-González A, Pérez-Peiró C. Effectiveness of peginterferon alfa-2a or -2b plus ribavirin in naïve patients with hepatitis C infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008;26:135-140.
- Almasio PL, Cavalletto L, Chemello L, Craxi A, Fahrbach K, Frame D, et al.; for the HCV Meta-Analysis Working Group. Efficacy of PEG-IFN alfa-2b vs PEG-IFN alfa-2a + ribavirin regimens in treatment-naïve chronic HCV patients: a cumulative meta-analysis of retrospective data from 6 clinical sites. 56th annual meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (56th AASLD). November 2005: San Francisco, CA [Abstract 62599].
- Poordad F, Tran TT, Ayoub W, Patel Y, Chan L. A comparison of sustained viral response in patients with chronic hepatitis C virus (HCV) treated with peginterferon alfa-2a (peg2a) versus peginterferon alfa-2b (peg2b) and ribavirin. 70th Annual Scientific Meeting of the ACG 2005. October 2005: Honolulu, HI [Abstract 325].
- Silva M, Poo J, Wagner F, Jackson M, Cutler D, Grace M, et al. A randomized trial to compare the pharmacodynamic, and antiviral effects peginterferon alfa-2b and peginterferon alfa2a in patients with chronic hepatitis C (Compare). *J Hepatol* 2006;45:204-213.
- Berenguer J, Gonzalez J, Lopez Aldeguer J, Von-Wichman MA, Quereda C, Pulido F, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin vs peginterferon alfa-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (47th ICAAC). September 2007: Chicago [Abstract V-1897].
- Sulkowski M, Lawitz E, Shiffman ML, Muir AJ, Galler G, McCone J, et al. Final results of the IDEAL (individualized dosing efficacy vs. flat dosing) to assess optimal pegylated interferon therapy Phase IIIB study. 43th European Association for the Study of the Liver (43th EASL). April 2008: Milan, Italy [Abstract LB-991].
- Ascione A, De Luca M, Tartaglione MT, Lampasi F, Galeota Lanza A, Picciotto FP, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin versus peginterferon alfa-2b plus ribavirin in naïve patients with chronic hepatitis C virus infection: results of a prospective randomized trial. 43th European Association for the Study of the Liver (43th EASL). April 2008: Milan, Italy [Abstract LB-990].
- Germer JJ, Rys PN, Thorvilson JN, Persing DH. Determination of hepatitis C virus genotype by direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test. *J Clin Microbiol* 1999;37:2625-2630.
- Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991;13:372-374.
- International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 1989 Revision. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1992.
- Doménech JM. *Bioestadística. Métodos estadísticos para investigadores*. Barcelona, Spain: E Herder; 1980, 126 pp.
- Dore GJ, Torriani FJ, Rodríguez-Torres M, Bräu N, Sulkowski M, Lammoglia RS, et al. Baseline factors prognostic of sustained virological response in patients with HIV-hepatitis C virus co-infection. *AIDS* 2007;21:1555-1559.
- Schmid M, Kreil A, Jessner W, Homoncik M, Datz C, Gangl A, et al. Suppression of haematopoiesis during therapy of chronic hepatitis C with different interferon alpha mono and combination therapy regimens. *Gut* 2005;54:1014-1020.
- Mira JA, López-Cortés LF, Merino D, Arizcorreta-Yarza A, Rivero A, Collado A, et al. Predictors of severe haematological toxicity secondary to pegylated interferon plus ribavirin treatment in HIV-HCV-coinfecting patients. *Antivir Ther* 2007;12:1225-1235.

30. Fuster D, Huertas JA, Gómez G, Solà R, González García J, et al. Baseline factors associated with haematological toxicity that leads to a dosage reduction of pegylated interferon-alpha2a and ribavirin in HIV- and HCV-coinfected patients on HCV antiviral therapy. *Antivir Ther* 2005;10:841-847.
31. Núñez M, Ocampo A, Aguirrebengoa K, Cervantes M, Pascual A, Echeverría S, et al; PRESCO Team. 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.
32. Jacobson IM, Brown RS Jr, Freilich B, Afdhal N, Kwo PY, Santoro J, et al; WIN-R Study Group. Peginterferon alfa-2b and weight-based or flat-dose ribavirin in chronic hepatitis C patients: a randomized trial. *HEPATOLOGY* 2007;46:971-981.
33. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçalves FL Jr, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
34. Manss MP, McHutchinson JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-965.
35. Torriani F, Ribeiro R, Gilbert T, Schrenk UM, Clauson M, Pacheco DM, et al. HCV and HIV dynamics during HCV treatment in HCV/HIV coinfection. *J Infect Dis* 2003;188:1498-1507.
36. Soriano V, Nunez M, Camino N, Maida I, Barreiro P, Romero M, et al. Hepatitis C virus-RNA clearance in HIV-coinfected patients with chronic hepatitis C treated with pegylated interferon plus ribavirin. *Antivir Ther* 2004;9:505-509.
37. Laguno M, Larrousse M, Murillas J, Blanco JL, León A, Milinkovic A, et al. Predictive value of early virologic response in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients treated with an interferon-based regimen plus ribavirin. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;44:174-178.

Artículo 5:

Perez-Elias MJ, **Larrousse M**, Ortega E, Hernandez-Quero J , Rodriquez-Torres M, Clotet B, Felizarta F, Gutiérrez J, Pineda JA , Nichols G, Lou Y, Wire MB.

Pharmacokinetics of Fosamprenavir plus Ritonavir in HIV-1-infected Adult Subjects with Hepatic Impairment.

Antimicrob. Agents Chemother. 2009; 53:5185-5196.

Pharmacokinetics of Fosamprenavir plus Ritonavir in Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Adult Subjects with Hepatic Impairment[∇]

María J. Pérez-Eliás,¹ María Larrousse Morellon,² Enrique Ortega,³ José Hernández-Quero,⁴ Maribel Rodríguez-Torres,⁵† Bonaventura Clotet,⁶ Franco Felizarta,⁷ Felix Gutiérrez,⁸ Juan A. Pineda,⁹ Garrett Nichols,¹⁰ Yu Lou,¹⁰ and Mary Beth Wire^{10*}

*Hospital Ramón y Cajal, Madrid, Spain*¹; *Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain*²; *Hospital General Universitario, Valencia, Spain*³; *Hospital Clínico San Cecilio, Granada, Spain*⁴; *Fundación de Investigación de Diego, Santurce, Puerto Rico*⁵; *Hospital Germans Trias, Pujol S. De Medicina, Barcelona, Spain*⁶; *Clínica Sierra Vista, Bakersfield, California*⁷; *Hospital Universitario de Elche, Elche, Spain*⁸; *Hospital Universitario Ntra. Sra. de Valme, Sevilla, Spain*⁹; and *GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, North Carolina*¹⁰

Received 11 May 2009/Returned for modification 23 June 2009/Accepted 4 August 2009

The effect of hepatic impairment on fosamprenavir/ritonavir pharmacokinetics was investigated. Sixty human immunodeficiency virus type 1-infected subjects, including 13, 20, and 10 subjects with mild, moderate, and severe hepatic impairment, respectively, and a comparator group of 17 subjects with normal hepatic function, were enrolled. Subjects with normal hepatic function received fosamprenavir at 700 mg plus ritonavir at 100 mg twice daily, whereas subjects with hepatic impairment received adjusted doses in anticipation of increased exposures. For subjects with mild hepatic impairment, the studied regimen of fosamprenavir 700 mg twice daily plus ritonavir 100 mg once daily delivered 17% higher values for the maximum plasma amprenavir concentration at the steady state (C_{max}), 22% higher values for the area under the plasma concentration versus time curve over the dosing interval at the steady state [$AUC_{(0-\tau)}$], similar values for the concentration at the end of the dosing interval (C_{τ}), and 114% higher unbound C_{τ} values. For subjects with moderate hepatic impairment, the studied dosage regimen of fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily delivered 27% lower plasma amprenavir C_{max} values, 27% lower $AUC_{(0-24)}$ values, 57% lower C_{τ} values, and 21% higher unbound amprenavir C_{τ} values. For subjects with severe hepatic impairment, the studied dosage regimen of fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily delivered 19% lower plasma amprenavir C_{max} values, 23% lower $AUC_{(0-24)}$ values, 38% lower C_{τ} values, and similar unbound amprenavir C_{τ} values. With a reduced ritonavir dosing frequency of 100 mg once daily, the plasma ritonavir $AUC_{(0-24)}$ values were 39% lower, similar, and 40% higher for subjects with mild, moderate, and severe hepatic impairment, respectively. The results of the study support the use of reduced fosamprenavir/ritonavir doses or dosing frequencies in the treatment of patients with hepatic impairment. No significant safety issues were identified; however, plasma amprenavir and ritonavir exposures were more variable in subjects with hepatic impairment, and those patients should be closely monitored for safety and virologic response.

Among the estimated 40 million persons infected with human immunodeficiency virus (HIV) worldwide, an estimated 2 to 4 million are chronically infected with hepatitis B virus (HBV) and an estimated 4 to 5 million are chronically infected with hepatitis C virus (HCV) (1). The prevalence of HBV and HCV coinfection in HIV-infected subjects is correlated with intravenous drug use as an HIV risk factor; the prevalence is above 40% in some southern European countries (2, 5, 7). Those with hepatitis infection often have some degree of liver impairment. For those with chronic HCV infection alone, the estimated rate of progression to cirrhosis is 2 to 20% over 20 years (1).

Dosing recommendations for the hepatically impaired are available for several protease inhibitors, although most exclude

those with severe impairment and/or include safety precautions. Until recently, unboosted amprenavir was the only protease inhibitor indicated for use in the treatment of HIV-infected patients with severe hepatic impairment; indeed, all antiretroviral agents other than selected nucleosides are contraindicated for this difficult-to-treat population. Thus, more options are clearly needed.

Fosamprenavir is the prodrug of the HIV type 1 (HIV-1) protease inhibitor amprenavir and is often used in combination with low-dosage ritonavir to increase plasma amprenavir concentrations by inhibiting amprenavir CYP3A4-mediated metabolism. We studied fosamprenavir/ritonavir combinations administered to HIV-infected subjects with mild, moderate, and severe hepatic impairment as well as to control subjects with normal hepatic function for 2 weeks. Because amprenavir is highly bound to plasma proteins (including albumin and α_1 -acid glycoprotein [AAG]) that are synthesized in the liver, plasma unbound amprenavir concentrations and percent unbound were evaluated in the present study. The primary goals of this study were to evaluate the impact of hepatic impairment

* Corresponding author. Mailing address: GlaxoSmithKline, Five Moore Drive, 17.2231.2B, Research Triangle Park, NC 27709. Phone: (919) 483-5852. Fax: (919) 483-6380. E-mail: mary.b.wire@gsk.com.

† Present address: 359 De Diego Ave., San Juan, Puerto Rico 00909-1711.

[∇] Published ahead of print on 10 August 2009.

on amprenavir and ritonavir pharmacokinetics (PK) and to determine dosing recommendations for this patient population.

MATERIALS AND METHODS

Study design and dosing. This study was conducted at 5 study centers in the United States and Puerto Rico and 14 study centers in Spain during the period from November 2004 through November 2007. These study centers received Institutional Review Board or International Ethics Committee approval to enroll subjects into the study prior to initiation, and subjects provided written informed consent prior to enrollment in the study.

This phase I, open-label, parallel-group, multicenter study was originally designed to enroll HIV-infected, treatment-naïve or -experienced subjects with mild (number of subjects, ~10) and moderate (~10) hepatic impairment as defined by Child-Pugh classification (4) as well as a control group with normal hepatic function. The protocol was later modified to enroll subjects with severe (number of subjects, ~10) hepatic impairment and another control group with normal hepatic function. Subjects with moderate or severe hepatic impairment were matched with HIV-infected subjects with normal hepatic function on the basis of gender, age (± 5 years), and weight (± 5 kg). Eligible subjects were required to have exhibited indications of stable HIV disease for at least 3 months and to be receiving either no current therapy or antiretroviral therapy consisting of nucleoside or nucleotide reverse transcriptase inhibitors with or without a protease inhibitor(s) other than atazanavir or tipranavir. The hepatically impaired subjects and their matched controls were started on or switched their protease inhibitor to fosamprenavir and ritonavir for 14 days of treatment, either alone or along with background nucleoside or nucleotide reverse transcriptase inhibitors; treatment with concomitant protease inhibitors or nonnucleoside inhibitors was prohibited. Given the a priori knowledge of the impact of hepatic impairment on plasma amprenavir exposure (8) and ritonavir exposure (3), doses were adjusted for each group in accordance with the level of hepatic impairment. Subjects with normal hepatic function received the standard regimen of fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily. Subjects with mild hepatic impairment received fosamprenavir at 700 mg twice daily, those with moderate hepatic impairment were randomized to receive either fosamprenavir at 300 mg twice daily or fosamprenavir at 700 mg once daily, and subjects with severe hepatic impairment received fosamprenavir at 300 mg twice daily; for all subjects with hepatic impairment, the frequency of ritonavir coadministration was reduced to 100 mg once daily. Fosamprenavir 700-mg doses were administered as tablets, whereas doses of less than 700 mg were administered as an oral suspension (50 mg/ml). A prior relative bioavailability study had demonstrated bioequivalence between the fosamprenavir oral suspension and tablet formulations after single-dose administration, whereas, at the steady state, the fosamprenavir oral suspension delivered equivalent plasma amprenavir values for the area under the plasma concentration versus time curve over the dosing interval at steady state [$AUC_{(0-\tau)}$] and for the concentration at the end of the dosing interval (C_{τ}) and a 23% higher maximum concentration at the steady state (C_{max}) than the tablet formulation (unpublished data). All ritonavir doses were administered as capsules. When ritonavir was administered once daily, it was coadministered with the morning dose of fosamprenavir. The study drugs were administered at least 2 h before or after a meal, but grape or apple juice was allowed to improve the palatability of the fosamprenavir oral suspension formulation.

Subjects. Male and nonpregnant, nonlactating female subjects 18 to 65 years of age, with body mass indices of 19 to 35 kg/m² and clinically stable HIV disease for at least 3 months prior to enrollment, were eligible for the study. To be classified as hepatically impaired, subjects were required to have had a known medical history of liver disease and previous confirmation of liver fibrosis by liver biopsy or a macroscopic evaluation result by laparoscopy, computerized tomography scan, magnetic resonance imaging, or ultrasonography consistent with chronic liver disease associated with an unambiguous medical history. Hepatically impaired subjects with a Child-Pugh score of 5 to 6 were classified as exhibiting mild impairment, those with a score of 7 to 9 as exhibiting moderate impairment, and those with a score of 10 to 15 as exhibiting severe impairment (4).

Potential subjects whose results showed the presence of grade 3 alanine aminotransferase (ALT) or aspartate aminotransferase (AST) or any grade 4 laboratory abnormality in a screening assessment were excluded from the study. In addition, potential subjects with hepatic impairment who had received atazanavir treatment within the preceding 2 weeks, had evidence of alcohol abuse within the preceding 2 months, or had acute or exacerbating hepatitis were excluded.

Control subjects with normal hepatic function who were HBV or HCV positive, had a history of alcohol abuse or illicit drug use within the preceding 6 months, or had a positive alcohol test result at screening were excluded. Investigational products were not allowed; in addition, concurrent medications were not allowed in cases in which a significant interaction was expected to result in a potential safety issue, alter immune system function, or impact the PK results of the study.

PK and safety assessments. Subjects underwent predose (trough) PK sampling on the mornings of days 3, 7, 10, and 13; morning doses of the study drugs were administered at the study center (observed dosing) on those days. On the evening of day 13, study site staff reminded subjects (e.g., by telephone) to take their dose of the study drugs that evening. On day 14, serial PK samples were collected predose (within 15 min prior to administration of the next dose) and at 0.25, 0.50, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, and 12 h after the administration of fosamprenavir and ritonavir. Subjects with hepatic impairment returned to the study center on the morning of day 15 for collection of a 24-h PK sample. Additional PK samples were collected on day 14 for measurement of unbound amprenavir concentrations at 2 and 12 h after dosing for the regimens of fosamprenavir administered twice daily and at 2 and 24 h after dosing for the regimen of fosamprenavir administered once daily. Subject safety was assessed by ascertainment of adverse events (graded using the *Division of AIDS Table for Grading Severity of Adult Adverse Experiences, August 1992* [<http://rcc.tech-res.com/safetyandpharmacovigilance/>]), clinical laboratory tests, and plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte count.

PK sampling procedures and analytical methods. PK samples were obtained from a forearm vein and collected into potassium EDTA anticoagulation tubes for measurement of total plasma fosamprenavir, amprenavir, and ritonavir concentrations or sodium citrate anticoagulation tubes for measurement of unbound amprenavir concentrations. Samples were immediately inverted 8 to 10 times to mix the anticoagulant with the whole blood and then placed on ice or in a refrigerator. Plasma was separated by refrigerated (4°C) centrifugation at 2,000 \times g for 10 min within 1 h of sample collection. Supernatant plasma was transferred to polypropylene tubes and stored at -20°C or at a lower temperature until analysis.

The bioanalytical method used to measure fosamprenavir and amprenavir concentrations and the methods used for measurement of unbound amprenavir concentrations were each validated using quality control (QC) samples at five concentration levels, in replicates of six measurements on each occasion, on three separate occasions. The QC sample acceptance criteria for each analytical run were that no more than one-third of the QC samples should be beyond $\pm 15\%$ of the actual concentration and at least 50% of the QC samples at each concentration must be within $\pm 15\%$ of the actual concentration.

Fosamprenavir and amprenavir were extracted from 50 μ l of human plasma by protein precipitation using acetonitrile containing [¹³C₆]fosamprenavir and [¹³C₆]amprenavir as internal standards. Extracts were then analyzed using high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry with a TurboIonSpray interface and multiple-reaction monitoring. Ritonavir was extracted from 100 μ l of human plasma by protein precipitation using acetonitrile containing [²H₂¹⁵N¹³C₆]ritonavir as an internal standard. Extracts were then analyzed using high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry with a TurboIonSpray interface and multiple-reaction monitoring. Plasma concentrations of study drugs were determined using a standard calibration curve constructed with standard solutions prepared with human plasma. The lower limit of quantification (LLQ) for fosamprenavir was 0.005 μ g/ml, and the higher limit of quantification (HLQ) was 1 μ g/ml; the LLQ was 0.010 μ g/ml and the HLQ was 5 μ g/ml for both amprenavir and ritonavir. The calibration curves were linear over these concentration ranges. For the study, the values for within- and between-run precision (percent coefficient of variation) for fosamprenavir were $\leq 8.2\%$ and $\leq 6.1\%$, respectively, for amprenavir were $\leq 6.2\%$ and 6.5%, respectively, and for ritonavir were $\leq 3.9\%$ and 5.5%, respectively. The accuracy (percent bias) for fosamprenavir was between -1.4% and -0.6%, for amprenavir was between -5.3% and 3.3%, and for ritonavir was between -5.5% and -1.4%.

Unbound amprenavir from human plasma samples was isolated using centrifugal filtration. Subsequently, amprenavir and the corresponding internal standard, [¹³C₆]amprenavir, were extracted from 100 μ l of plasma ultra (protein-free)-filtrate by solid-phase extraction. Extracts were then analyzed using high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry with a TurboIonSpray interface and multiple-reaction monitoring. The LLQ for amprenavir was 0.0005 μ g/ml, and the HLQ was 1 μ g/ml. The calibration curves were linear over this concentration range. For the study, the between-run precision (percent coefficient of variation) for amprenavir was $\leq 6.6\%$. The accuracy (percent bias) for amprenavir was between -9.0% and -7.7%.

PK and statistical analyses. Plasma amprenavir and ritonavir PK parameters were calculated based on actual sample collection times recorded during the study using the noncompartmental 200 model of Winnonlin Professional software, version 4.1 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). The values recorded for the C_{max} were the actual observed values. The C_r was calculated as the average of predose concentrations collected at the steady state. The $AUC_{(0-7)}$ was calculated by a combination of linear (for ascending concentrations) and logarithmic (for descending concentrations) trapezoidal methods. To facilitate the comparison of regimens administered over different dosing intervals, the AUC over 24 h [$AUC_{(0-24)}$] was calculated by multiplying the $AUC_{(0-7)}$ for the twice-daily regimen (i.e., the 12-h dosing interval) by 2 and leaving the $AUC_{(0-7)}$ for the once-daily regimen (i.e., the 24-h dosing interval) unchanged. To facilitate the comparison of the groups to which different fosamprenavir doses were administered, plasma amprenavir C_{max} , $AUC_{(0-7)}$, and C_r values were normalized to a 700-mg dose of fosamprenavir by multiplying the individual PK parameter value by 700 and dividing it by the size of the dose administered in milligrams. Apparent clearance following oral dosing (CL/F) was calculated as the administered dose/ $AUC_{(0-7)}$. The values recorded for the unbound amprenavir concentration in plasma at 2 h after dosing (unbound C_{2h}) and at the end of the dosing interval at the steady state (unbound C_r) were the actual observed values, and the percent unbound amprenavir at those time points was calculated as the unbound concentration divided by the corresponding total concentration and multiplied by 100.

Plasma amprenavir and ritonavir PK parameters were compared between hepatic impairment groups and subjects with normal hepatic function by analysis of variance, considering the group as a fixed effect. The ratio of geometric least-square means and associated 90% confidence intervals was estimated for each comparison. Achievement of steady-state plasma amprenavir and ritonavir concentrations was assessed by calculating the 90% confidence interval of the slope of the linear regression of predose concentrations versus the day for each group.

The relationship between the amprenavir dose-normalized $AUC_{(0-7)}$ [DN- $AUC_{(0-7)}$] and the Child-Pugh score and clinical laboratory assessments of levels of albumin, bilirubin, prothrombin time, cholinesterase, ammonia, ALT, and AST was assessed by Pearson correlation and multivariate stepwise regression analysis, adjusting for baseline measurements. The Child-Pugh score was treated as a continuous variable, and subjects with normal hepatic function were assigned a score of 0. The ritonavir $AUC_{(0-7)}$ was assessed for the same relationships.

RESULTS

Subject demographics. Sixty subjects received study drugs, and 55 completed the study. The majority of subjects were white (97%) and male (85%); mean age ranged between 42 and 44 years and mean body mass indices ranged between 23.6 and 26.6 kg/m² across the groups (Table 1). Most subjects (40/43 [91%]) with hepatic impairment showed evidence of coinfection with HCV; 3 subjects with hepatic impairment were coinfecting with HBV. One subject with normal hepatic function was coinfecting with HCV. At the prebaseline time point (day -4), no subjects with mild or moderate hepatic impairment had encephalopathy; by contrast, two of those with severe hepatic impairment had grade 2 encephalopathy at the baseline. Ascites was graded at 2 or higher for 90% (9/10) of subjects with severe hepatic impairment at the baseline compared with only 35% (7/20) of subjects with moderate hepatic impairment and no subjects with mild hepatic impairment. Among all subjects, 48 (80%) reported taking nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitors and 57 (95%) reported taking other concurrent medications during the study.

A total of 53 subjects were included in the statistical analysis of the PK data, including 10 subjects with mild hepatic impairment, 18 subjects with moderate hepatic impairment, 8 subjects with severe hepatic impairment, and 17 subjects with normal hepatic function; 3 subjects were excluded from the statistical analysis of the PK data because of dosing error,

TABLE 1. Demographic and baseline characteristics

Characteristic	Treatment group value(s) ^a					
	Mild HI (FPV 700 mg BID + RTV 100 mg OD) (n = 13)	Moderate HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg OD) (n = 10)	Moderate HI (FPV 700 mg OD + RTV 100 mg OD) (n = 10)	Normal hepatic function (FPV/RTV 700/100 mg BID) (n = 10) ^b	Severe HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg OD) (n = 10)	Normal hepatic function (FPV/RTV 700/100 mg BID) (n = 7) ^c
Mean (range) age (yr)	42.2 (34-50)	44.0 (39-49)	43.7 (38-54)	43.4 (34-49)	42.8 (38-53)	43.9 (33-48)
No. (%) male	12 (92)	8 (80)	8 (80)	8 (80)	9 (90)	6 (86)
Mean (range) BMI (kg/m ²)	23.62 (19.7-32.4)	24.25 (22.1-33.7)	24.81 (19.7-34.3)	25.89 (19.7-34.9)	24.95 (20.4-33.0)	26.59 (20.7-31.6)
No. (%) white	13 (100)	10 (100)	9 (90)	9 (90)	10 (100)	7 (100)
No. (%) hepatitis B surface antigen positive	0	2 (20)	1 (10)	0	1 (10)	0
No. (%) hepatitis C antibody positive	13 (100)	10 (100)	9 (90)	1 (10)	8 (80)	0
No. (%) in CDC C classification ^d	5 (38)	5 (50)	4 (40)	4 (40)	3 (30)	2 (29)
Median (range) baseline CD4 ⁺ cell count (cells/mm ³)	404 (79-1,281)	226 (36-338)	202 (111-525)	392 (78-877)	260 (90-420)	470 (90-1,280)
Mean (range) albumin (g/liter) ^e	35.0 (29.0-42.0)	33.3 (30.0-44.0)	34.0 (26.0-43.0)	44.1 (40.0-47.0)	26.1 (21-30)	44.7 (43.0-47.0)
Mean (range) α ₁ -acid glycoprotein (g/liter) ^f	0.53 (0.27-0.86)	0.45 (0.30-0.62)	0.44 (0.26-0.077)	1.02 (0.71-2.04)	0.66 (0.22-2.36)	0.90 (0.55-1.27)

^a FPV, fosamprenavir; RTV, ritonavir; OD, once daily; BID, twice daily; HI, hepatic impairment; BMI, body mass index.
^b Normal hepatic function group matched to subjects with moderate hepatic impairment receiving fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily for sex, age (±5 years), and body mass index (±5 kg) values.
^c Normal hepatic function group matched to subjects with severe hepatic impairment for sex, age (±5 years), and body mass index (±5 kg) values.
^d CDC C classification as per <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm>.
^e Day -4.
^f Day 1.

TABLE 2. Summary of amprenavir PK parameter estimates, unbound amprenavir concentrations, and unbound percentages^a

Treatment group	Geometric mean [95% confidence interval] (% coefficient of variation of the geometric mean)				
	Dose normalized (DN)			Observed	
	DN-AUC _(0-τ) (μg · h/ml)	DN-C _{max} (μg/ml)	DN-C _τ (μg/ml)	AUC _(0-τ) (μg · h/ml)	AUC ₍₀₋₂₄₎ (μg · h/ml)
Mild HI (FPV 700 mg BID + RTV 100 mg QD) (n = 10)	46.6 [39.0, 55.5] (25)	7.04 [5.72, 8.66] (30)	2.38 [1.80, 3.15] (40)	46.6 [39.0, 55.5] (25)	93.1 [78.1, 111.0] (25)
Moderate HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) (n = 10)	64.8 [46.5, 90.4] (49)	10.2 [7.18, 14.5] (52)	2.63 [1.73, 3.99] (64)	27.8 [19.9, 38.7] (49)	55.6 [39.9, 77.5] (49)
Moderate HI (FPV 700 mg QD + RTV 100 mg QD) (n = 8)	57.8 [42.1, 79.3] (39)	6.68 [5.14, 8.70] (32)	0.93 [0.53, 1.62] (75)	57.8 [42.1, 79.3] (39)	57.8 [42.1, 79.3] (39)
Normal hepatic function (FPV/RTV 700/100 mg BID) (n = 10) ^b	38.1 [31.6, 46.0] (27)	6.00 [4.97, 7.25] (27)	2.62 [2.14, 3.21] (29)	38.1 [31.6, 46.0] (27)	76.3 [63.3, 92.0] (27)
Severe HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) (n = 8)	70.8 [52.8, 94.9] (36)	11.2 [8.22, 15.3] (38)	3.17 [1.99, 5.05] (60)	30.3 [22.6, 40.7] (36)	60.7 [45.3, 81.4] (36)
Normal hepatic function (FPV/RTV 700/100 mg BID) (n = 7) ^c	39.4 [34.5, 45.0] (14)	5.94 [5.05, 6.99] (18)	2.19 [1.82, 2.64] (20)	39.4 [34.5, 45.0] (14)	78.8 [69.1, 89.9] (14)

^a FPV, fosamprenavir; RTV, ritonavir; QD, once daily; BID, twice daily; HI, hepatic impairment; unbound C_{2h}, unbound amprenavir concentration at 2 h after dosing; unbound C_τ, unbound amprenavir concentration at the end of the dosing interval at the steady state.

^b Normal hepatic function group matched to subjects with moderate hepatic impairment receiving fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

^c Normal hepatic function group matched to subjects with severe hepatic impairment for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

^d n = 9.

^e n = 8.

^f n = 6.

^g n = 7.

^h n = 5.

incorrect cohort assignment, or protocol violation (administration of nevirapine).

PK. Plasma fosamprenavir concentrations were generally quantifiable between 0.25 and 1 h after dosing for more than 50% of subjects with hepatic impairment. In contrast, plasma fosamprenavir concentrations were below the limit of quantification at all time points for the majority of subjects with normal hepatic function. Fosamprenavir concentrations were low in all groups (the highest fosamprenavir concentration was 0.033 μg/ml), and fosamprenavir concentrations were below the LLQ (<0.005 μg/ml) in all samples after the 4-h postdose sampling time.

Mild hepatic impairment. Mild hepatic impairment had a minor impact on total plasma amprenavir and ritonavir exposure, as demonstrated by an 18% average reduction in plasma amprenavir and ritonavir CL/F values, equating to 22 to 23% higher plasma amprenavir and ritonavir AUC_(0-τ) values compared to subjects with normal hepatic function. An average of a 17% higher plasma amprenavir C_{max} value, similar amprenavir C_τ values, and 114% higher plasma unbound amprenavir C_τ values were observed for subjects with mild hepatic impairment compared to subjects with normal hepatic function (Fig. 1; Tables 2 and 3). With a reduced ritonavir dosing frequency of 100 mg administered once daily for subjects with mild hepatic impairment, the observed ritonavir AUC₍₀₋₂₄₎ was an average of 39% lower and ritonavir C_τ was 60% lower compared to the values observed for subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily (Fig. 2; Tables 4 and 5).

Moderate hepatic impairment. Moderate hepatic impairment had a significant impact on total plasma amprenavir and ritonavir exposure, as demonstrated by an average of a 34 to 41% reduction in plasma amprenavir CL/F values and a 48 to 55% reduction in plasma ritonavir CL/F values, equating to 51 to 70% higher plasma amprenavir DN-AUC_(0-τ) and 93 to

120% higher plasma ritonavir AUC_(0-τ) values compared to the values observed for subjects with normal hepatic function (Fig. 1, Table 2, Table 3, Fig. 2, Table 4, and Table 5). Because a significant increase in plasma amprenavir and ritonavir exposure for subjects with moderate hepatic impairment was expected, those subjects received reduced doses or reduced dosing frequencies of both drugs. With the use of a reduced ritonavir dosing frequency of 100 mg administered once daily for subjects with moderate hepatic impairment, the observed ritonavir AUC₍₀₋₂₄₎ values were similar and the ritonavir C_τ value was approximately 50% lower compared to the values observed for subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily (Table 4 and Table 5). For subjects with moderate hepatic impairment, the regimen of fosamprenavir at 700 mg once daily plus ritonavir at 100 mg once daily (i.e., a reduced dosing frequency of both drugs) delivered averages of 11% higher plasma amprenavir C_{max} values, 24% lower amprenavir AUC₍₀₋₂₄₎ values, 65% lower amprenavir C_τ values, and 40% lower unbound amprenavir C_τ values compared to subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily (Table 2 and Table 3). For subjects with moderate hepatic impairment, the studied regimen of fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily (i.e., reduced dose of fosamprenavir and reduced dosing frequency of ritonavir) delivered averages of 27% lower plasma amprenavir C_{max} values, 27% lower amprenavir AUC₍₀₋₂₄₎ values, 57% lower amprenavir C_τ values, and 21% higher unbound amprenavir C_τ values compared to subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily (Table 2 and Table 3).

Severe hepatic impairment. Severe hepatic impairment had a significant impact on total plasma amprenavir and ritonavir exposure, as demonstrated by an average of a 44% reduction in

TABLE 2—Continued

Geometric mean [95% confidence interval] (% coefficient of variation) for amprenavir						
Observed			Observed unbound amprenavir concn and % unbound			
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	C_{τ} ($\mu\text{g/ml}$)	CL/F (ml/min)	C_{2h} ($\mu\text{g/ml}$)	C_{τ} ($\mu\text{g/ml}$)	2-h % unbound	C_{τ} % unbound
7.04 [5.72, 8.66] (30)	2.38 [1.80, 3.15] (40)	215 [180, 256] (25)	0.56 [0.42, 0.75] (41)	0.26 ^e [0.19, 0.36] (42)	8.92 [7.68, 10.4] (21)	10.9 ^e [8.88, 13.3] (25)
4.38 [3.08, 6.22] (52)	1.13 [0.74, 1.71] (64)	154 [111, 215] (49)	0.35 ^d [0.20, 0.61] (82)	0.15 ^d [0.08, 0.26] (88)	10.1 ^d [7.49, 13.5] (40)	12.5 ^d [9.98, 15.5] (29)
6.68 [5.14, 8.70] (32)	0.93 [0.53, 1.62] (75)	173 [126, 238] (39)	0.67 ^e [0.56, 0.80] (20)	0.07 ^f [0.04, 0.14] (69)	11.8 ^e [8.81, 15.8] (32)	9.26 ^f [7.37, 11.6] (22)
6.00 [4.97, 7.25] (27)	2.62 [2.14, 3.21] (29)	262 [217, 316] (27)	0.35 ^d [0.30, 0.41] (21)	0.12 ^d [0.10, 0.15] (24)	7.53 ^d [6.10, 9.29] (28)	6.16 ^d [4.52, 8.38] (42)
4.80 [3.52, 6.54] (38)	1.36 [0.85, 2.16] (60)	141 (105, 189) [36]	0.34 ^e [0.22, 0.53] (51)	0.12 [0.05, 0.26] (122)	8.37 ^e [6.57, 10.7] (27)	9.37 [6.24, 14.1] (52)
5.94 [5.05, 6.99] (18)	2.19 [1.82, 2.64] (20)	254 (222, 290) [14]	0.44 ^f [0.30, 0.65] (38)	0.12 ^h [0.07, 0.20] (43)	8.97 ^f [5.14, 15.7] (57)	5.69 ^h [3.72, 8.69] (35)

plasma amprenavir CL/F and 64% reduction in plasma ritonavir CL/F values, equating to 80% higher in plasma amprenavir DN-AUC_(0- τ) and 180% higher in plasma ritonavir AUC_(0- τ) values (Fig. 1, Table 2, Table 3, Fig. 2, Table 4, and Table 5). Because a significant increase in plasma amprenavir and ritonavir exposure was expected for subjects with severe hepatic impairment, those subjects received reduced doses or reduced dosing frequencies of both drugs. With the use of a reduced ritonavir dosing frequency of 100 mg once daily in subjects with severe hepatic impairment, the observed ritonavir AUC₍₀₋₂₄₎ value was on average 40% higher and the ritonavir C_{τ} value was 38% higher compared to subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily (Table 4 and Table 5). For subjects with severe hepatic impairment, the studied dosage regimen of fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily (i.e., reduced dose of fosamprenavir and reduced dosing frequency of ritonavir) delivered an average 19% lower plasma amprenavir C_{max} value, 23% lower amprenavir AUC₍₀₋₂₄₎ value, 38% lower amprenavir C_{τ} value, and similar unbound amprenavir C_{τ} value compared to subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily (Table 2 and Table 3).

Relationships between unbound and total amprenavir C_{τ} values and between drug exposure and markers of hepatic impairment. Levels of unbound amprenavir in plasma and total C_{τ} values were highly correlated ($r = 0.799$ [$P < 0.001$]), as shown in Fig. 3; a similar correlation was observed between unbound and total amprenavir concentrations at 2 h after dosing ($r = 0.748$ [$P < 0.001$]).

Concerning the relationship between drug exposure and markers of hepatic function, the strongest correlations for the amprenavir DN-AUC_(0- τ) values were with the Child-Pugh score ($r = 0.5408$ [$P < 0.001$]) and levels of cholinesterase ($r = -0.5935$ [$P < 0.001$]) and albumin ($r = -0.5924$ [$P < 0.001$]) (Fig. 4a and b). The strongest correlations for the ritonavir AUC_(0- τ) values were with the Child-Pugh score ($r = 0.5218$ [$P < 0.001$]) and levels of cholinesterase ($r = -0.4941$ [$P < 0.001$]), albumin ($r = -0.4910$ [$P < 0.001$]) (Fig. 5a and b), and bilirubin ($r = 0.4989$ [$P < 0.001$]). Markers of hepatic function such as the Child-Pugh score and levels of albumin, bilirubin, and cholinesterase were highly correlated with each other. In

stepwise regression analysis, only the baseline albumin level was significantly associated with amprenavir DN-AUC_(0- τ) values, and the relationship was inverse (Fig. 4b).

Safety. (i) Clinical adverse events. During this 14-day study, the antiretroviral regimen that included fosamprenavir/ritonavir was generally well tolerated by subjects with hepatic impairment and by those with normal hepatic function.

Eleven of the 13 subjects with mild hepatic impairment completed the study; 1 subject withdrew due to an adverse event (gastritis) after 1 day of dosing with fosamprenavir/ritonavir and another decided to withdraw from the study for personal reasons after 8 days of dosing. Four subjects within this cohort experienced a total of four grade 3 to 4 or serious adverse events, one of which was considered by the investigator to have been study drug related (grade 3 gastritis leading to withdrawal). Adverse events not considered to be related to the study drugs comprised increased creatine phosphokinase levels, hepatic encephalopathy, and suicidal ideation (the latter two conditions were considered serious adverse events).

Of the 20 subjects with moderate hepatic impairment, all completed the study. Three subjects within the two cohorts experienced grade 3 to 4 or serious adverse events, of which one was considered by the investigator to have been at least possibly related to the study drugs (grade 3 elevation of AST). Adverse events not considered to be related to study medications included respiratory infection and ankle edema. One subject with normal hepatic function experienced pneumonia, which was not considered to have been drug related.

Of the 10 subjects enrolled with severe hepatic impairment, 7 completed the study. Two subjects withdrew due to adverse events (one with grade 1 vomiting deemed related to the study drugs and one due to worsening hepatic encephalopathy attributed by the investigator to surreptitious ingestion of the benzodiazepine chloracepate). The third of the subjects who did not complete the study was withdrawn due to a protocol violation. Three subjects experienced grade 3 to 4 or serious adverse events, none of which was attributed to study medications. These included the case of encephalopathy described above, a case of grade 4 exacerbation of chronic liver failure (comprising worsening of baseline hepatic encephalopathy and an increase in pro-

TABLE 3. Comparison of amprenavir PK parameters, unbound amprenavir concentrations, and unbound percentages between groups^a

Treatment group	Geometric least-squares mean ratio (90% confidence interval) vs normal hepatic function ^b				
	DN PK parameter			Observed PK parameter	
	DN-AUC _(0-τ) ^e	DN-C _{max}	DN-C _τ	AUC _(0-τ)	AUC ₍₀₋₂₄₎ ^f
Mild HI (FPV 700 mg BID + RTV 100 mg QD) ^c	1.22 (0.94, 1.59)	1.17 (0.90, 1.53)	0.91 (0.63, 1.32)	1.22 (0.94, 1.59)	1.22 (0.94, 1.59)
Moderate HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) ^c	1.70 (1.31, 2.21)	1.70 (1.30, 2.22)	1.00 (0.69, 1.45)	0.73 (0.56, 0.95)	0.73 (0.56, 0.95)
Moderate HI (FPV 700 mg QD + RTV 100 mg QD) ^c	1.51 (1.15, 2.00)	1.11 (0.84, 1.48)	0.35 (0.24, 0.53)	1.51 (1.15, 2.00)	0.76 (0.57, 1.00)
Severe HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) ^d	1.80 (1.40, 2.31)	1.88 (1.44, 2.47)	1.45 (0.97, 2.15)	0.77 (0.60, 0.99)	0.77 (0.60, 0.99)

^a FPV, fosamprenavir; RTV, ritonavir; QD, once daily; BID, twice daily; HI, hepatic impairment; unbound C_{2h}, unbound amprenavir concentration at 2 h after dosing; unbound C_τ, unbound amprenavir concentration at the end of the dosing interval at the steady state.

^b Subjects with normal hepatic function received fosamprenavir/ritonavir at 700/100 mg twice daily.

^c Comparison made to normal hepatic function group matched to subjects with moderate hepatic impairment receiving fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

^d Comparison made to normal hepatic function group matched to subjects with severe hepatic impairment for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

^e Comparison of DN-AUC_(0-τ) values shows the impact of each level of hepatic impairment on plasma amprenavir exposure (i.e., assuming subjects received the same dose and dosing interval).

^f Comparison of AUC₍₀₋₂₄₎ values shows differences in observed amprenavir exposure over the same interval of time.

thrombin time), and cholecystitis that occurred after the study drugs had been discontinued.

(ii) **Liver chemistry changes.** Treatment-emergent grade 3 or higher toxicities in liver chemistries were uncommon, with none recorded for ALT among subjects with mild, moderate, or severe hepatic impairment. Mean bilirubin concentrations decreased from day 1 to day 14 of the study in all groups (−11.3 U/liter in the cohort with mild hepatic impairment, −15.7 and −13.9 U/liter for members of the cohort with moderate hepatic impairment who were administered the study drugs twice daily and once daily, respectively, and −13.4 U/liter in the cohort with severe hepatic impairment). No significant changes were noted in AAG and albumin concentrations from day 1 to day 14.

DISCUSSION

Hepatic impairment can alter drug disposition and exposure through various mechanisms such as the shunting of blood past the liver, impaired metabolizing activity of the hepatocytes, impaired biliary excretion, and reduced protein binding. Given that amprenavir is metabolized by CYP3A4 and is ≥90% bound to plasma proteins, multiple mechanisms could be involved in the altered amprenavir disposition. Both total and unbound plasma concentrations were increased in subjects with hepatic impairment. For example, comparisons between the severe hepatic impairment and normal hepatic function groups yielded geometric least squares mean ratios of 0.62 for total plasma C_τ (1.42 for DN C_τ) and 0.96 for unbound plasma

TABLE 4. Summary of ritonavir PK parameter estimates

Treatment group ^a	Geometric mean [95% confidence interval] (% coefficient of variation of the geometric mean)				
	AUC _(0-τ) (μg · h/ml)	AUC ₍₀₋₂₄₎ (μg · h/ml)	C _{max} (μg/ml)	C _τ (μg/ml)	CL/F (ml/min)
Mild HI (FPV 700 mg BID + RTV 100 mg QD) (n = 10)	4.59 [2.75, 7.67] (75)	4.59 [2.75, 7.67] (75)	0.80 [0.44, 1.45] (92)	0.07 [0.03, 0.14] (121)	363 [217, 605] (75)
Moderate HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) (n = 10)	7.21 [4.92, 10.6] (57)	7.21 [4.92, 10.6] (57)	1.10 [0.68, 1.77] (75)	0.09 [0.05, 0.14] (76)	231 [158, 338] (57)
Moderate HI (FPV 700 mg QD + RTV 100 mg QD) (n = 8)	8.26 [5.28, 12.9] (58)	8.26 [5.28, 12.9] (58)	1.26 [0.61, 2.60] (107)	0.08 [0.04, 0.16] (95)	202 [129, 316] (58)
Normal hepatic function (FPV/RTV 700/100 mg BID) (n = 10) ^b	3.75 [2.52, 5.57] (60)	7.49 [5.04, 11.1] (60)	0.77 [0.48, 1.26] (77)	0.17 [0.12, 0.23] (50)	445 [299, 662] (60)
Severe HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) (n = 8)	10.8 [5.72, 20.5] (89)	10.8 [5.72, 20.5] (89)	1.26 [0.57, 2.78] (121)	0.23 [0.15, 0.35] (53)	154 (81.1, 291) [89]
Normal hepatic function (FPV/RTV 700/100 mg BID) (n = 7) ^c	3.88 [2.37, 6.34] (57)	7.75 [4.74, 12.7] (57)	0.77 [0.38, 1.56] (90)	0.17 [0.12, 0.24] (41)	430 (263, 703) [57]

^a FPV, fosamprenavir; RTV, ritonavir; QD, once daily; BID, twice daily; HI, hepatic impairment.

^b Normal hepatic function group matched to subjects with moderate hepatic impairment receiving fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

^c Normal hepatic function group matched to subjects with severe hepatic impairment for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

TABLE 3—Continued

Geometric least-squares mean ratio (90% confidence interval) vs normal hepatic function ^b						
Observed PK parameter			Unbound amprenavir concn and % unbound amprenavir between groups			
<i>C</i> _{max}	<i>C</i> _τ	CL/F	Unbound <i>C</i> _{2h}	Unbound <i>C</i> _τ	2-h % unbound	<i>C</i> _τ % unbound
1.17 (0.90, 1.53)	0.91 (0.63, 1.32)	0.82 (0.63, 1.07)	1.62 (1.16, 2.28)	2.14 (1.29, 3.56)	1.18 (0.94, 1.50)	1.77 (1.37, 2.27)
0.73 (0.56, 0.95)	0.43 (0.30, 0.62)	0.59 (0.45, 0.76)	1.02 (0.72, 1.44)	1.21 (0.74, 1.98)	1.33 (1.05, 1.69)	2.02 (1.58, 2.58)
1.11 (0.84, 1.48)	0.35 (0.24, 0.53)	0.66 (0.50, 0.87)	1.93 (1.33, 2.80)	0.60 (0.34, 1.03)	1.57 (1.21, 2.02)	1.50 (1.15, 1.98)
0.81 (0.62, 1.06)	0.62 (0.42, 0.92)	0.56 (0.43, 0.72)	0.77 (0.50, 1.18)	0.96 (0.42, 2.17)	0.93 (0.62, 1.40)	1.65 (1.05, 2.58)

*C*_τ (approximately 2.2 for DN unbound *C*_τ). Because both total and unbound plasma amprenavir concentrations were increased in subjects with hepatic impairment, the metabolism of amprenavir was reduced in this population, which could have been due to impaired hepatocyte metabolic activity and the shunting of blood past the liver (i.e., bypassing the site of metabolism).

In a previous study of unboosted amprenavir, subjects with moderate hepatic impairment had 28% higher plasma amprenavir *C*_{max} and 2.5-fold-higher AUC to infinity [AUC_(0-∞)] values and subjects with severe hepatic impairment had 96% higher plasma amprenavir *C*_{max} and 4.5-fold-higher AUC_(0-∞) values compared to subjects with normal hepatic function (8). Since the study involved only single-dose administration, *C*_τ values were not collected; however, mean plasma amprenavir concentrations at 12 h after administration of a single dose of amprenavir were increased approximately 2.5-fold for subjects with moderate hepatic impairment and 3.5-fold for subjects with severe hepatic impairment (unpublished data). Compared to the impact of ritonavir coadministration on amprenavir PK, where the amprenavir *C*_{max} value increased 51% and the AUC_(0-τ) and *C*_τ values increased 3.4-fold and 12.7-fold, respectively (9), moderate hepatic impairment had a lesser impact and severe hepatic impairment had a greater impact on amprenavir *C*_{max} and AUC values, whereas both moderate and

severe hepatic impairment had a lesser impact on amprenavir *C*_τ values than ritonavir coadministration.

Even though ritonavir coadministration results in large increases in plasma amprenavir exposure, the present study demonstrated increased amprenavir exposure in subjects with hepatic impairment receiving ritonavir-boosted fosamprenavir. The increase in amprenavir exposure observed in the boosted setting was less than that observed for unboosted amprenavir. For example, for subjects with moderate hepatic impairment, amprenavir AUC_(0-τ) values increased 51 to 70% in the ritonavir-boosted setting versus 2.5-fold in the unboosted amprenavir study; similarly, for subjects with severe hepatic impairment, amprenavir AUC_(0-τ) values increased 80% in the ritonavir-boosted setting versus 4.5-fold in the unboosted amprenavir study. Ritonavir exposure [AUC_(0-τ)] also increased 93 to 120% for subjects with moderate hepatic impairment and 180% for subjects with severe hepatic impairment, and the increases were of a magnitude similar to those reported for lopinavir/ritonavir (3).

A previously reported study also demonstrated increased amprenavir and ritonavir exposures in eight HIV-infected subjects with cirrhosis who were receiving fosamprenavir/ritonavir (6), but specific recommendations could not be made for each level of hepatic impairment. The study presented herein prospectively enrolled subjects with mild, moderate, and severe

TABLE 5. Comparison of ritonavir PK parameters between groups

Treatment group ^a	Geometric least-squares mean ratio (90% confidence interval) vs normal hepatic function ^b				
	AUC _(0-τ) ^e	AUC ₍₀₋₂₄₎ ^f	<i>C</i> _{max}	<i>C</i> _τ	CL/F
Mild HI (FPV 700 mg BID + RTV 100 mg QD) ^c	1.23 (0.78, 1.92)	0.61 (0.39, 0.96)	1.03 (0.58, 1.84)	0.40 (0.22, 0.70)	0.82 (0.52, 1.27)
Moderate HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) ^c	1.93 (1.25, 2.98)	0.96 (0.62, 1.49)	1.42 (0.81, 2.50)	0.53 (0.31, 0.93)	0.52 (0.34, 0.80)
Moderate HI (FPV 700 mg QD + RTV 100 mg QD) ^c	2.20 (1.39, 3.50)	1.10 (0.69, 1.75)	1.62 (0.89, 2.95)	0.49 (0.27, 0.89)	0.45 (0.29, 0.72)
Severe HI (FPV 300 mg BID + RTV 100 mg QD) ^d	2.80 (1.52, 5.16)	1.40 (0.76, 2.58)	1.64 (0.74, 3.64)	1.38 (0.91, 2.09)	0.36 (0.19, 0.66)

^a FPV, fosamprenavir; RTV, ritonavir; QD, once daily; BID, twice daily; HI, hepatic impairment.

^b Subjects with normal hepatic function received fosamprenavir/ritonavir at 700/100 mg twice daily.

^c Comparison made to normal hepatic function group matched to subjects with moderate hepatic impairment receiving fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

^d Comparison made to normal hepatic function group matched to subjects with severe hepatic impairment for sex, age (± 5 years), and body mass index (± 5 kg).

^e Comparison of AUC_(0-τ) values shows the impact of each level of hepatic impairment on plasma ritonavir exposure (i.e., assuming subjects received the same dosing interval).

^f Comparison of AUC₍₀₋₂₄₎ values shows difference in observed ritonavir exposure over the same interval of time.

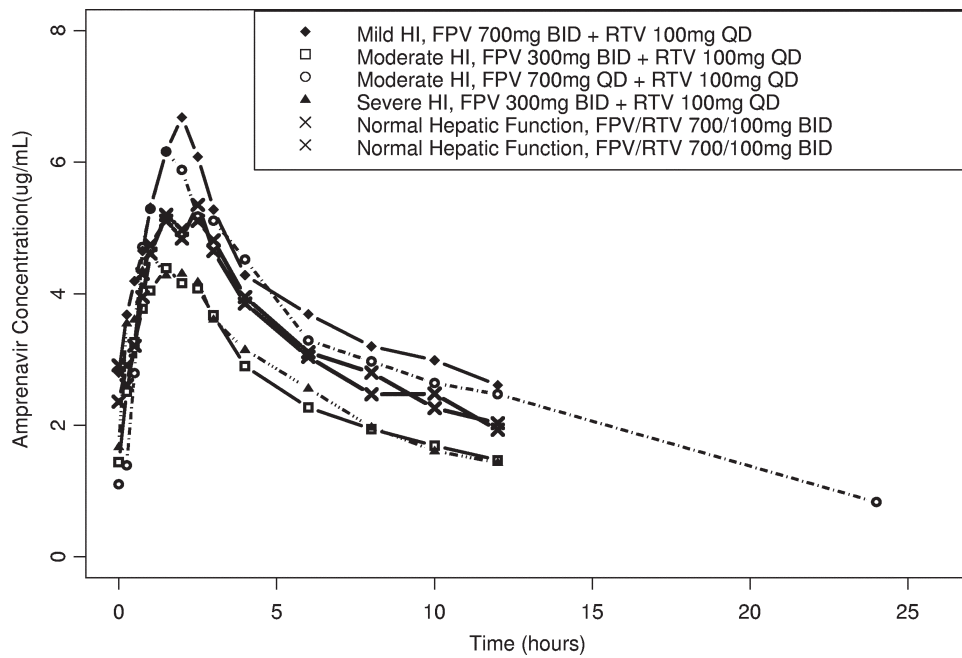


FIG. 1. Mean amprenavir concentration-time profiles. HI, hepatic impairment; FPV, fosamprenavir; RTV, ritonavir; BID, twice daily; QD, once daily.

hepatic impairment to allow dosing recommendations for each level of hepatic impairment. In addition, unbound amprenavir concentrations were measured in order to better guide dosing recommendations.

For subjects with mild hepatic impairment, the studied regimen of fosamprenavir administered at 700 mg twice daily plus ritonavir administered at a reduced frequency of 100 mg once

daily delivered acceptable amprenavir and ritonavir exposures and did not lead to any increased safety concerns. Therefore, fosamprenavir administered at 700 mg twice daily plus ritonavir administered at 100 mg once daily is an acceptable regimen for this population.

The lower amprenavir $AUC_{(0-24)}$, amprenavir C_{7-} , and unbound C_{7-} values observed for subjects with moderate hepatic

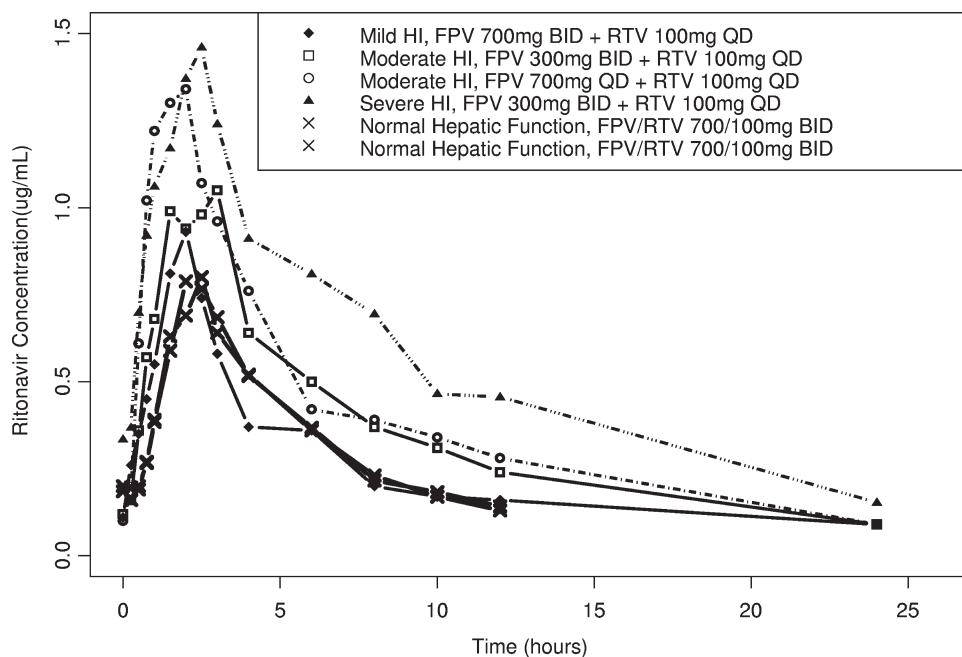


FIG. 2. Mean ritonavir concentration-time profiles. HI, hepatic impairment; FPV, fosamprenavir; RTV, ritonavir; BID, twice daily; QD, once daily.

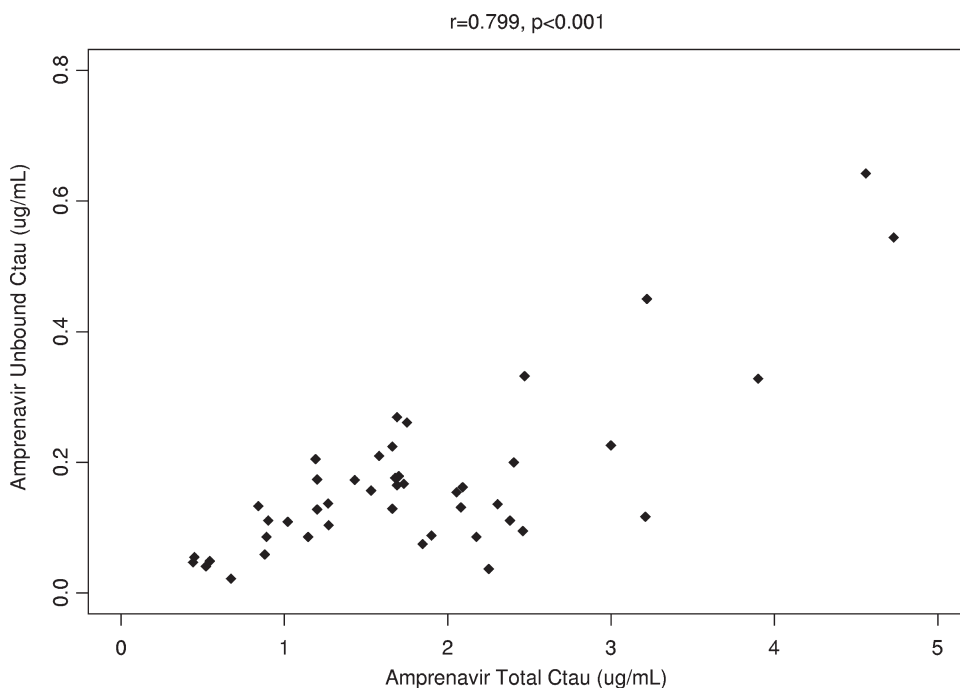


FIG. 3. Unbound amprenavir C_{τ} versus total C_{τ} .

impairment receiving fosamprenavir at 700 mg once daily plus ritonavir at 100 mg once daily suggest that the regimen consisting solely of once-daily drug administration is not a good option for this population. For subjects with moderate hepatic impairment, the studied regimen of a reduced dose of fosamprenavir administered at 300 mg twice daily plus ritonavir administered at a reduced frequency of 100 mg once daily delivered average values of 27% lower plasma amprenavir C_{\max} , 27% lower amprenavir $AUC_{(0-\tau)}$, 57% lower amprenavir C_{τ} , and 21% higher unbound amprenavir C_{τ} , while the results of daily exposure to ritonavir were similar to those seen with subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily. A regimen of fosamprenavir at 450 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily is predicted to deliver plasma amprenavir $AUC_{(0-\tau)}$ values similar to those observed for subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily. Although total amprenavir C_{τ} values are predicted to be 35% lower, unbound amprenavir C_{τ} values are predicted to be 87% higher. Considering the higher PK variability observed for subjects with hepatic impairment, the regimen consisting of administration of fosamprenavir at 450 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily would allow a higher proportion of subjects with moderate hepatic impairment to achieve unbound amprenavir C_{τ} values in the range of those observed for subjects with normal hepatic function receiving the standard dosage regimen of fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily.

For subjects with severe hepatic impairment, the studied regimen of reduced doses of fosamprenavir administered at 300 mg twice daily plus ritonavir administered at a reduced frequency of 100 mg once daily delivered on average 19%

lower plasma amprenavir C_{\max} , 23% lower amprenavir $AUC_{(0-\tau)}$, 38% lower amprenavir C_{τ} , and similar plasma unbound amprenavir C_{τ} values. These amprenavir results were consistent with those seen with the moderate hepatic impairment group receiving the same fosamprenavir-plus-ritonavir regimen. However, subjects with severe hepatic impairment had an average 40% higher daily exposure to ritonavir compared to subjects with normal hepatic function receiving fosamprenavir at 700 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg twice daily, whereas ritonavir $AUC_{(0-24)}$ values for the moderate hepatic impairment group and for subjects with normal hepatic function were similar. The studied dosage regimen of fosamprenavir at 300 mg twice daily plus ritonavir at 100 mg once daily is acceptable for the patient population with severe hepatic impairment, although close monitoring of clinical status is warranted for this difficult-to-treat population.

The correlation between total and unbound plasma amprenavir C_{τ} values was expected and supports the use of total plasma amprenavir concentrations for therapeutic drug monitoring in patients with hepatic impairment. The relationship between plasma amprenavir DN- $AUC_{(0-\tau)}$ values and Child-Pugh scores is consistent with findings from previous studies of amprenavir (8) and fosamprenavir/ritonavir (6). We also found correlations between amprenavir DN- $AUC_{(0-\tau)}$ values and other markers of hepatic function such as cholinesterase and albumin concentrations. Plasma ritonavir $AUC_{(0-\tau)}$ values also correlated with Child-Pugh scores and other markers of hepatic function. The present study did not evaluate the impact of hepatitis coinfection in the absence of cirrhosis, though others have shown a minimal impact of chronic hepatitis in the absence of cirrhosis (6).

This study had several limitations. Most importantly, the duration of therapy in this short-term PK study precludes definitive

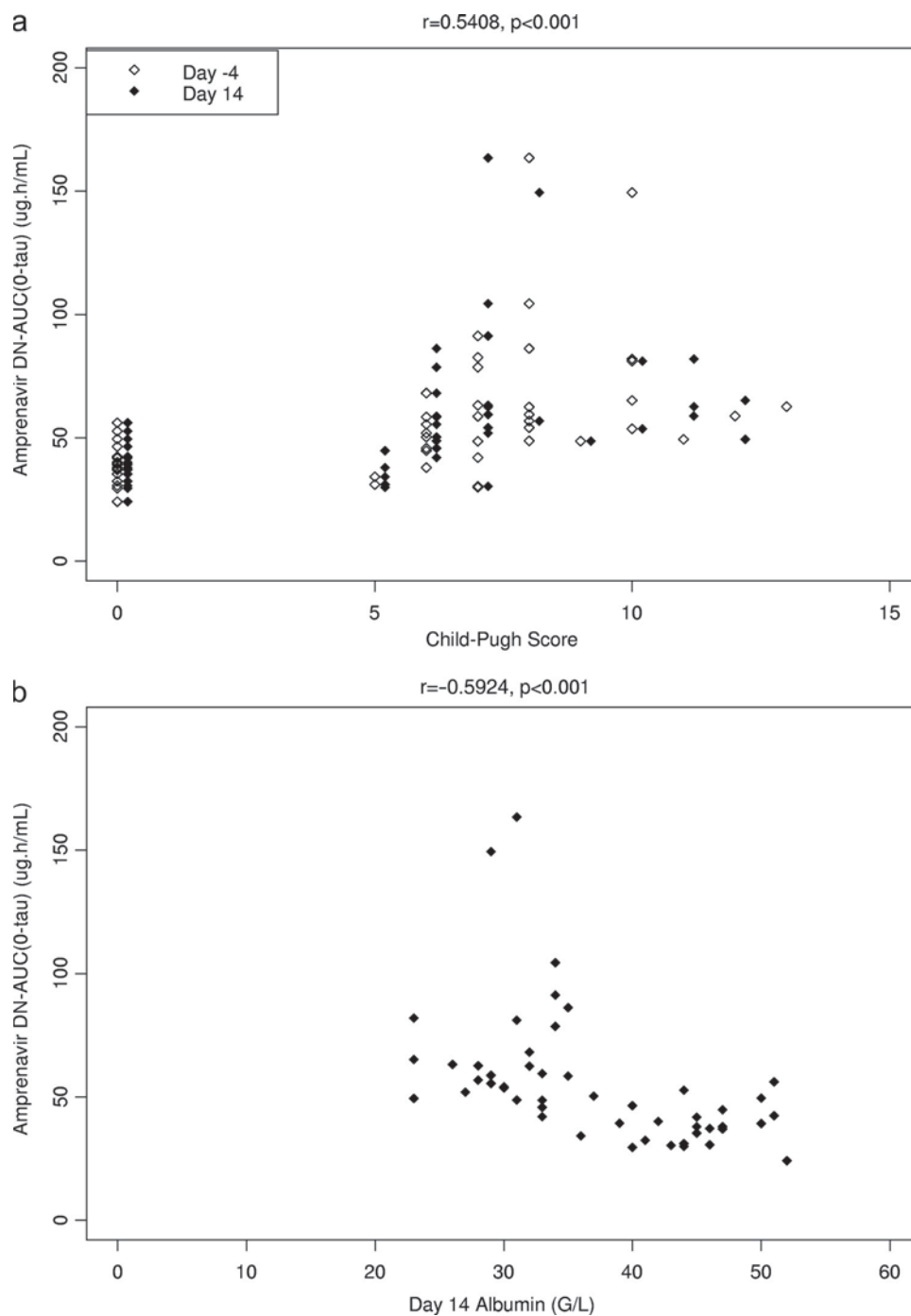


FIG. 4. (a) Amprenavir (DN to fosamprenavir at 700 mg) $AUC_{(0-\tau)}$ versus Child-Pugh score. Subjects with normal hepatic function were assigned a Child-Pugh score of 0. (b) Amprenavir (DN to fosamprenavir at 700 mg) $AUC_{(0-\tau)}$ versus albumin concentration.

conclusions regarding the long-term safety of the recommended fosamprenavir/ritonavir regimen. In addition, most of the subjects were white men; whether these findings may be extrapolated to women and other races is unknown.

In conclusion, this study forms the basis of recommendations for the use of reduced fosamprenavir/ritonavir doses or dosing frequencies for patients with mild, moderate, or severe hepatic impairment and thus provides a new option for the

treatment of this important patient group. The modified fosamprenavir/ritonavir dosage regimens were generally well tolerated in this short-term study; observed adverse events were generally attributable to the underlying hepatic impairment of the subject. Plasma amprenavir and ritonavir exposures were more variable in subjects with hepatic impairment, however; these patients should thus be closely monitored for safety and virologic responses.

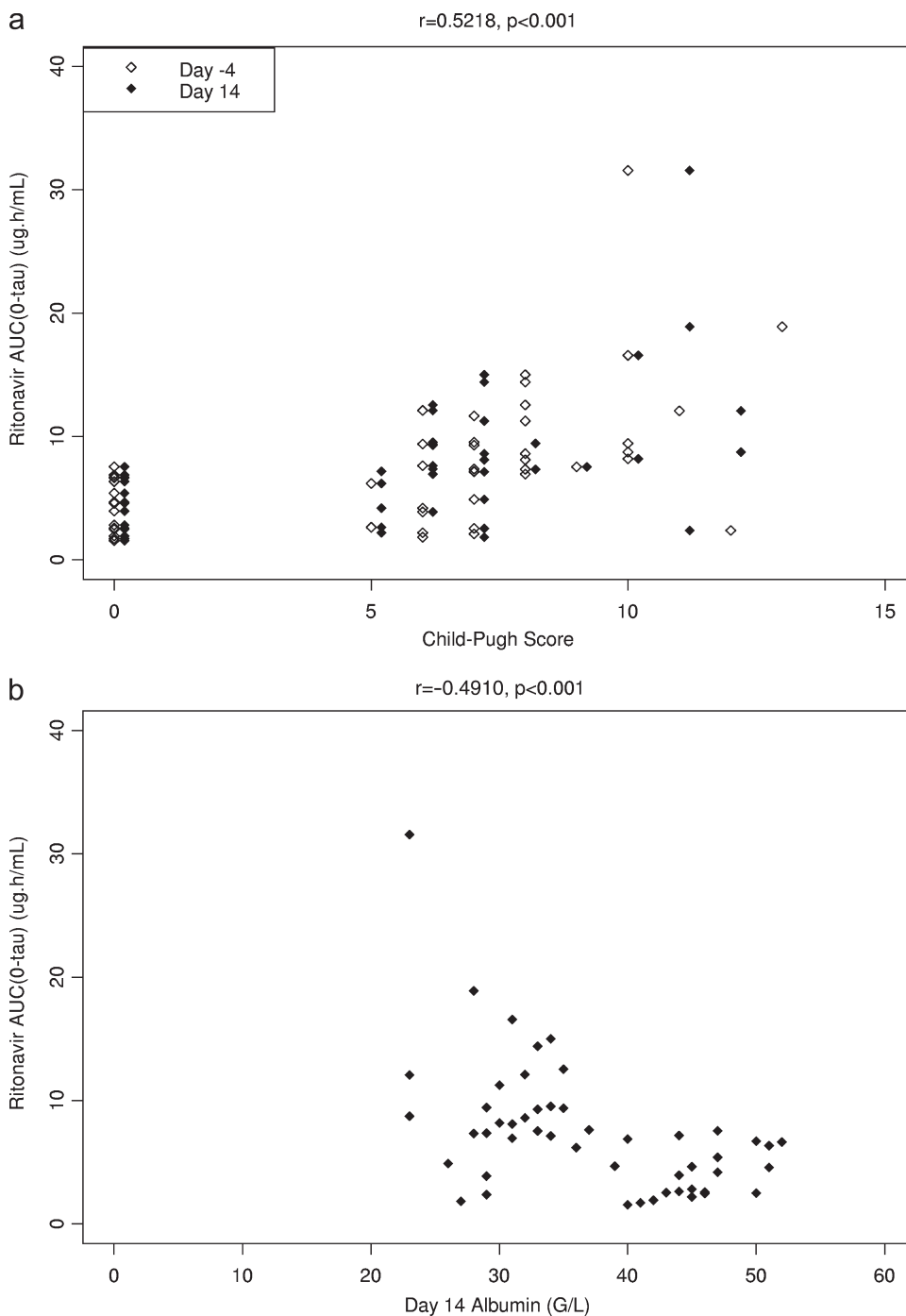


FIG. 5. (a) Ritonavir AUC_(0-τ) versus Child-Pugh score. Subjects with normal hepatic function were assigned a Child-Pugh score of 0. (b) Ritonavir AUC_(0-τ) versus albumin concentration.

ACKNOWLEDGMENTS

We gratefully acknowledge Jose-Ramón Arribas, Rafael Rubio, Federico Pulido, Vicente Estrada, Juan Berenguer, Miguel Muniain, Arturo Prieto, Edwin DeJesus, Anthony Mills, Anthony La Marca, and Miguel Pascual-Bernaldez for assistance in the conduct of the study. We gratefully acknowledge Rashida Rana for manuscript preparation and all subjects who participated in the study.

The study was supported by GlaxoSmithKline.

REFERENCES

- Alter, M. 2006. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J. Hepatol.* **44**(Suppl. 1):S6-S9.
- Crum, N. F., R. Riffenburgh, S. Wegner, B. K. Agan, S. Tasker, K. M. Spooner, A. W. Armstrong, S. Fraser, and M. Wallace on behalf of the Triservice AIDS Clinical Consortium. 2006. Comparisons of causes of death and mortality rates among HIV-infected persons: analysis of the pre-, early, and late HAART (highly active antiretroviral therapy) eras. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **41**:194-200.

3. Peng, J. Z., F. Pulido, S. J. Kemmis Causemaker, J. Li, A. Lorenzo, C. Cepeda, J. A. Garcia Cabanillas, B. DaSilva, S. C. Brun, and J. Arribas. 2006. Pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir in HIV/hepatitis C virus coinfecting subjects with hepatic impairment. *J. Clin. Pharmacol.* **46**:265–274.
4. Pugh, R. N. H., I. M. Murray-Lyon, J. L. Dawson, M. C. Pietroni, and R. Williams. 1973. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br. J. Surg.* **60**:646–649.
5. Rockstroh, J., D. Konopnicki, V. Soriano, O. Kirk, F. Antunes, B. Knysz, C. Tural, S. D. Wit, A. Mocroft, J. Lundgren, and the EuroSIDA study group. 2004. Hepatitis B hepatitis C in the EuroSIDA cohort: prevalence and effect on mortality, AIDS progression and response to HAART, abstr. 799. Abstr. 11th Conf. Retrovir. Opportunistic Infect., San Francisco, CA.
6. Seminari, E., A. De Bona, G. Gentilini, L. Galli, G. Schira, N. Gianotti, C. Eberti-Foppa, A. Soldarini, F. Dorigatti, A. Lazzarin, and A. Castagna. 2007. Amprenavir and ritonavir plasma concentrations in HIV-infected patients treated with fosamprenavir/ritonavir with various degrees of liver impairment. *J. Antimicrob. Chemother.* **60**:831–836.
7. Soriano, V., M. Puoti, M. Sulkowski, S. Mauss, P. Cacoub, A. Cargnel, D. Dieterich, A. Hatzakis, and J. Rockstroh. 2004. Care of patients with hepatitis C and HIV co-infection. *AIDS* **18**:1–12.
8. Veronese, L., J. Rautureau, B. M. Sadler, C. Gillotin, J. Petite, B. Pillegand, M. Delvaux, C. Masliah, S. Fosse, Y. Lou, and D. Stein. 2000. Single-dose pharmacokinetics of amprenavir, a human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor, in subjects with normal or impaired hepatic function. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**:821–826.
9. Wire, M. B., K. L. Baker, L. S. Jones, M. J. Shelton, Y. Lou, G. Thomas, and M. Berrey. 2006. Ritonavir increases plasma amprenavir (APV) exposure to a similar extent when coadministered with either fosamprenavir or APV. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**:1578–1580.

5. DISCUSIÓN

1. Marcadores no invasivos de fibrosis hepática en pacientes infectados por el VIH y VHC.

Artículo 1: *Noninvasive Diagnosis of Hepatic Fibrosis in HIV/HCV-Coinfected Patients.* JAIDS. 2007; 46:304-311.

En el momento actual, la evaluación de la fibrosis hepática se considera importante para el pronóstico, el seguimiento y el tratamiento de la hepatopatía crónica por VHC.

La biopsia hepática es una técnica invasiva, con coste elevado por requerir ingreso hospitalario y tiene complicaciones inherentes al procedimiento. Además con la biopsia hepática se obtiene una muestra que puede no ser representativa de la totalidad del hígado porque, la fibrosis hepática es un proceso muy heterogéneo. Aunque aún es un tema muy debatido, el uso sistemático de la biopsia hepática esta cambiando en los últimos años y ha pasado a no ser una prueba estrictamente necesaria antes del tratamiento farmacológico del VHC.

Este trabajo se centró en la identificación de un modelo matemático eficaz para evaluar el grado de lesión hepática mediante marcadores no invasivos de fibrosis hepática. Estos marcadores realizados en nuestro estudio son reflejo del proceso patológico que se produce en la fibrosis hepática, promoviendo la acumulación progresiva de MEC. Este proceso esta activado y amplificado por el efecto inflamatorio citotóxico que producen ambos virus. Se sabe que la mayor progresión que presentan los pacientes infectados por VHC y VIH, podría deberse a que este último virus, actúa sobre las células estrelladas hepáticas promoviendo la formación de colagenasas (109).

Los mejores marcadores que mejor identificaron el grado de fibrosis hepática en nuestro estudio de pacientes coinfectados por VHC y VIH fueron el HA (variable categorizada por encima de 95 mg/dL) y TIMP-1 (ng/ml), con una ABC de 0.84, con una sensibilidad del 72.9% y una especificidad del 83,1%. Nuestro modelo matemático fue significativamente mejor cuando se comparó con otros modelos matemáticos con marcadores indirectos de fibrosis hepática, como son el estudio de Forn et al. (66) y el test de APRI (65), pero también discriminó mejor la fibrosis hepática que el índice de SHASTA (69) que se realizó con marcadores directos de fibrosis.

Una de las limitaciones que tiene nuestro estudio es que no está validado por una cohorte externa.

Posteriormente a nuestro trabajo se han ido sucediendo diversos estudios realizados con marcadores indirectos y directos de fibrosis. Entre estos, destaca un estudio reciente, con más de 500 pacientes mono infectados por el VHC, en el que se utilizaron precisamente los niveles de TIMP-1 y HA junto con el recuento de plaquetas para identificar el grado de fibrosis hepática, con buena discriminación con un ABC de 0.81 (110).

Otra de las limitaciones de los trabajos realizados con marcadores no invasivos es la determinación de los grados intermedios de la fibrosis hepática. Estos modelos matemáticos predicen de modo fiable grados incipientes y grados avanzados de fibrosis hepática, sin embargo los grados intermedios tienen menos fiabilidad en el diagnóstico. Posiblemente a estos pacientes se les debería aconsejar una biopsia hepática, si se requiere o se considera adecuado para el seguimiento.

Cabe remarcar que autores que promueven la obtención del grado de fibrosis hepática mediante marcadores no invasivos, postulan que las discrepancias o errores

que se producen entre los marcadores no invasivos de fibrosis y la biopsia hepática son debidos a problemas con la biopsia hepática, fundamentalmente a un tamaño inadecuado de la muestra(111).

Los marcadores no invasivos que determinan la fibrosis hepática se han utilizado en diferentes patologías y también para evaluar los cambios relacionados con supresión de las conductas aditivas (fundamentalmente relacionadas con el alcohol) y también para monitorizar los cambios producidos por el tratamiento del VHC (112). Recientemente se ha comunicado que los marcadores no invasivos podrían utilizarse como factor pronóstico de mortalidad en pacientes con hepatopatía alcohólica (113).

En los últimos años, se ha introducido en la práctica clínica la realización de la elastografía para obtener de forma no invasiva el grado de fibrosis hepática. Diversos autores han descrito que la combinación de los datos obtenidos mediante elastografía junto con diferentes modelos matemáticos de marcadores serológicos no invasivos, consiguen una mejor predicción de la fibrosis hepática, aunque estos datos son principalmente extraídos de estudios realizados en pacientes monoinfectados por el VHC (114).

En conclusión, en un futuro no muy lejano se va imponer el diagnóstico de la fibrosis hepática mediante técnicas no invasivas combinadas. Posiblemente mediante algoritmos diagnósticos se conseguirá reducir al máximo la realización de la biopsia hepática, monitorizar determinados tratamientos o cambios de hábitos. También se podrán utilizar estos marcadores como factores pronósticos de descompensación clínica o de mortalidad, aunque por el momento estos estudios se han realizado en pacientes con hepatopatía alcohólica (113, 115).

Estos marcadores no invasivos podrán ser evaluados de forma rutinaria, sin tener que utilizar una técnica invasiva para determinar el grado de fibrosis hepática, y

podrán ser de gran utilidad en los pacientes coinfectados por presentar una progresión acelerada de la fibrosis hepática. Esto supondrá que se podrán identificar de forma sencilla e incruenta a aquellos pacientes con mayor riesgo de desarrollar complicaciones o de presentar una fibrosis rápidamente progresiva, y proceder a la monitorización periódica de estos marcadores.

2. Estudio que compara dos estrategias diferentes para tratar el VHC en pacientes infectados por el VIH : INF- PEG +RBV versus INF estándar +RBV.

Artículo 2: *Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients.* AIDS. 2004 Sep 3; 18(13):27-36.

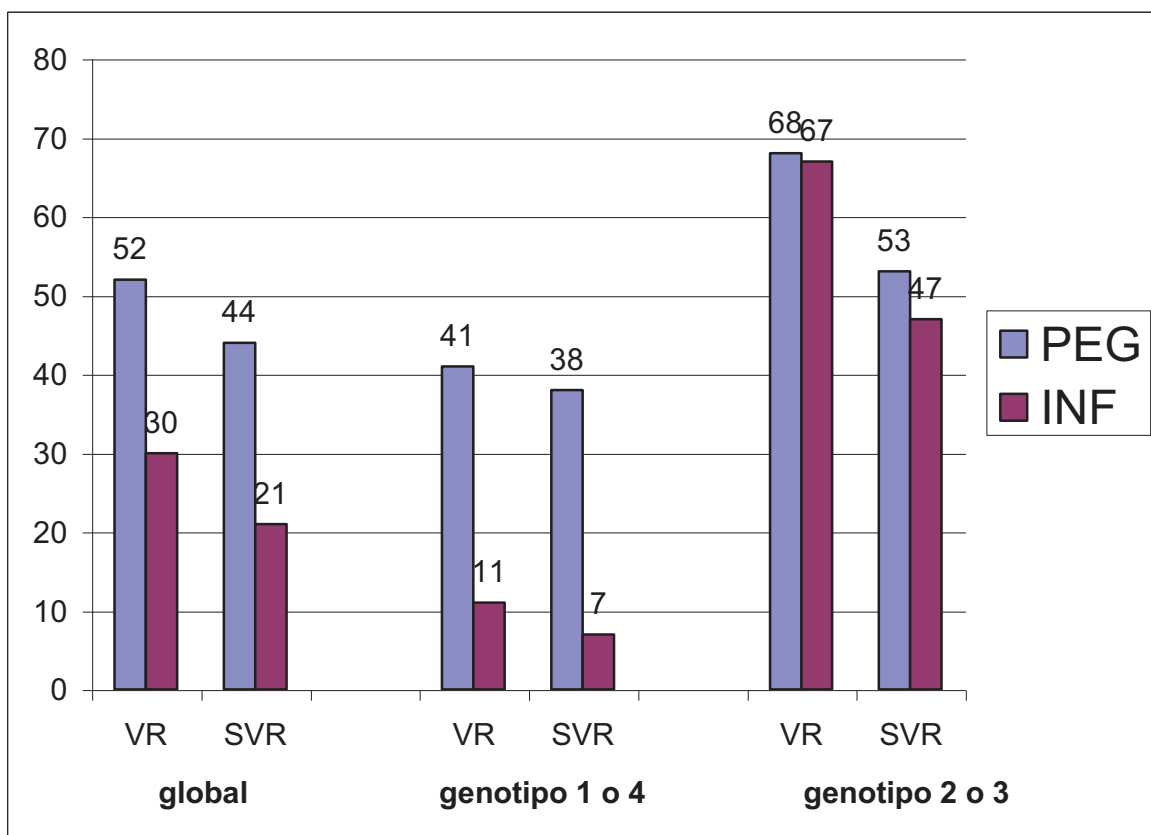
Actualmente, en base a este estudio y a otros que se publicaron en el mismo año, el tratamiento de elección para la hepatitis crónica por VHC es el INF-PEG y ribavirina.

Los resultados principales de nuestro estudio fue que el INF-PEG 2b asociado a ribavirina resultó ser considerablemente más eficaz que la pauta clásica presentando una tasa de RVS del 44%, comparada con un 21% de respuesta para la pauta de INF ($p=0.017$). En concordancia con los datos publicados en la literatura (116,117) el índice de respuesta virológica sostenida fue más bajo que el obtenido en los pacientes mono infectados para el VHC y tratados con PEG-INF más RBV (118,119).

Sin embargo, la tasa de RVS global alcanzada en nuestro estudio ha sido mejor que las descritas en ensayos anteriores, y similar a los resultados finales del estudio APRICOT (120), el estudio más amplio comunicado hasta la fecha. En los pacientes con genotipos 1 ó 4, la RVS fue del 38% versus el 7% ($P = 0,007$) y del 53% versus el 47% para los genotipos 2 ó 3, sin diferencias entre los genotipos 2 ó 3 ($P = 0,730$). De

modo que la ventaja de la terapia con PEG-INF+RBV respecto el tratamiento clásico con INF+RBV fue más evidente para los pacientes con genotipo 1, que es el subgrupo más común en nuestro medio pero también más difícil de tratar.

Figura 8: Porcentaje de respuesta a la terapia en función del genotipo y tipo de Interferón utilizado. (RV: respuesta virológica final del tratamiento, RVS: respuesta virológica sostenida).



La tasa de recidiva tras haber negativizado el ARN-VHC al final del tratamiento fue muy baja en ambos grupos del tratamiento (8% PEG-INF, 9% INF). Es

importante destacar que tres pacientes que recayeron eran genotipos 2 ó 3 con un ARN-VHC basal < 800000 copias/mL y asignados a un régimen de seis meses.

Cómo ya hemos descrito, varios son los factores que se han asociado con una buena respuesta al tratamiento en diferentes trabajos. Con tal de identificar estos factores en nuestra serie se realizó un análisis univariado que mostró una clara asociación de los genotipos 2 ó 3, el ARN-VHC basal < 800.000 IU/mL y el tratamiento con PEG-INF a una mayor tasa de RVS. Además el sexo femenino y la modificación de la dosis de los fármacos asignados alcanzaron una asociación importante por lo que todas estas variables fueron introducidas en el análisis multivariado. Solamente el genotipo 2 ó 3, la terapia basada en PEG-INF y la modificación de la dosis de drogas asignadas se mantuvieron como predictores independientes de RVS. Resulta curioso observar que la reducción de la dosis de los fármacos asignados no empeoró la tasa de respuesta y esto posiblemente se pueda relacionar con una menor tasa de abandonos a la terapia. Aunque algunos autores han relacionado los valores de ARN-VHC basal con la tasa de RVS, esta variable no fue seleccionada como factor independiente de respuesta en nuestro estudio probablemente debido al número relativamente pequeño de pacientes incluidos en el ensayo y al hecho de que tres pacientes con niveles basales bajos de ARN-VHC y genotipos 2 ó 3 recayeron después de 6 meses de terapia. Asimismo, algunos estudios han encontrado una relación entre el grado de fibrosis con el índice de SVR (121); en nuestra serie se observa una tendencia a presentar peor respuesta a la terapia los grados más elevados de fibrosis, pero la diferencia obtenida no resultó ser estadísticamente significativa.

En los estudios en pacientes mono infectados por el VHC existe una clara correlación entre la RVS y la normalización de las transaminasas (122). En nuestra

serie, sin embargo, el 20% de pacientes con RVS permanecían con valores del ALT sobre el límite normal que podría ser debido a un efecto tóxico sobre el hígado de algunos fármacos antirretrovirales o a la presencia de otros tóxicos. Por esta razón, la respuesta bioquímica en los pacientes coinfectados no es un buen marcador de la respuesta virológica.

En los últimos años se han publicado cuatro estudios que han incluido un amplio número de pacientes, donde se evalúa la terapia combinada de INF-PEG y Ribavirina en pacientes coinfectados versus el tratamiento con IFN convencional y Ribavirina (120-124). En la Tabla 6 quedan recogidos los resultados más destacables de estos 5 ensayos clínicos. Aunque existen diferencias en el diseño y en la población incluida en cada uno de ellos, todos coinciden en que la respuesta fue significativamente mayor para los pacientes tratados con interferón PEG-INF + RBV (RVS: 27-44%) que en aquellos tratados con terapia clásica de INF+ RBV (RVS: 12-21%) y que la respuesta en pacientes con genotipo 2 ó 3 fue el doble que en pacientes con genotipo 1. A pesar de ello, las tasas de respuesta fueron inferiores a las observadas en los pacientes sin infección por el VIH-1, probablemente en relación con una peor tolerancia, menor adherencia y posibles interacciones farmacológicas.

Tabla VII. Resultados del tratamiento con interferón pegilado+ ribavirina en comparación con la combinación estándar de interferón +y ribavirina en el paciente VIH-1.

Autor, año, cta	Tratamiento	Duración (sem.)	Num. de casos	Respuesta virológica sostenida (%)		
				Global	Genotipos 1-4	Genotipos 2-3
Carrat et al, 2004	-IFN α -2b (3MU, 3 xsem) + Ribavirina (0.8 g/d)	48	207	20	6	43
Estudio RIBAVIC (122)	-IFN α -2b PEG 12 Kd (1,5mcg/kg/sem) + Ribavirina (0.8 g/d)	48	205	27	17	44
Laguno et al, 2004	-IFN α -2b (3MU, 3 xsem) + Ribavirina (0.8-1,2g/d)	24* o 48	43	21	7	47
	-IFN α -2b PEG 12 Kd (100-150mcg/sem) + Ribavirina (0.8 –1.2 g/d)	24* o 48	52	44	38	53
Chung et al. 2004 ACTG A5071 (121)	-IFN α -2a (6MIU 3 xsem, 12sem y 3MIU 3 xsem, 36sem) + Ribavirina (1 –1.2 g/d)	48	67	12	6	33
	-IFN α -2a PEG 40 Kd (180mcg/sem) +Ribavirina (0.6-1 g/d)	48	66	27	14	73
Torriani et al. 2004 Estudio APRICOT (120)	IFN α -2a (3MU, 3 xsem) + Ribavirina (0.8 g/d)	48	289	12	7	20
	IFN α -2a PEG 40 Kd (180mcg/sem) Ribavirina (0.8 g/d)	48	290	40	29	62
	IFN α -2a PEG 40 Kd (180mcg/sem) Placebo	48	289	20	14	36
Crespo et al. 2007 (123)	IFN α -2b (3MU, 3 xsem) + Ribavirina (0.8 g/d)	24* o 48	61	26	18	43
	-IFN α -2b PEG 12 Kd (1,5mcg/kg/sem)+ Ribavirina (0.8 g/d)	24* o 48	60	55	46	71

*24sem de tratamiento si: genotipo 2 o 3 y RNA-VHC basal <800000IU/ml

En la actualidad, la duración del tratamiento anti-VHC es motivo de estudio y discusión. Hay diversos trabajos realizados en pacientes mono infectados por el VHC que recomiendan realizar tratamiento individualizado en función del genotipo viral (124). Sin embargo, los pacientes coinfectados por el VIH-1 tienen un aclaramiento del VHC más lento, con una cinética a viral enlentecida cuando se les administra interferon. (93), y tienen una RVS claramente menor en comparación con el paciente. También otros autores destacan la existencia de una mayor tasa de recidiva del VHC en los pacientes con genotipo 2 y 3, tras haber respondido al final de 24 semanas de tratamiento (117), similar a lo ocurrido en nuestra serie. A tenor de estos datos, las guías clínicas consideran que la recomendación general del tratamiento del VHC en pacientes coinfectados es de 48 semanas, independientemente del genotipo viral.

3. Valor predictivo de la RVP en pacientes coinfectados por VIH y VHC tratados con un régimen basado en interferon y ribavirina.

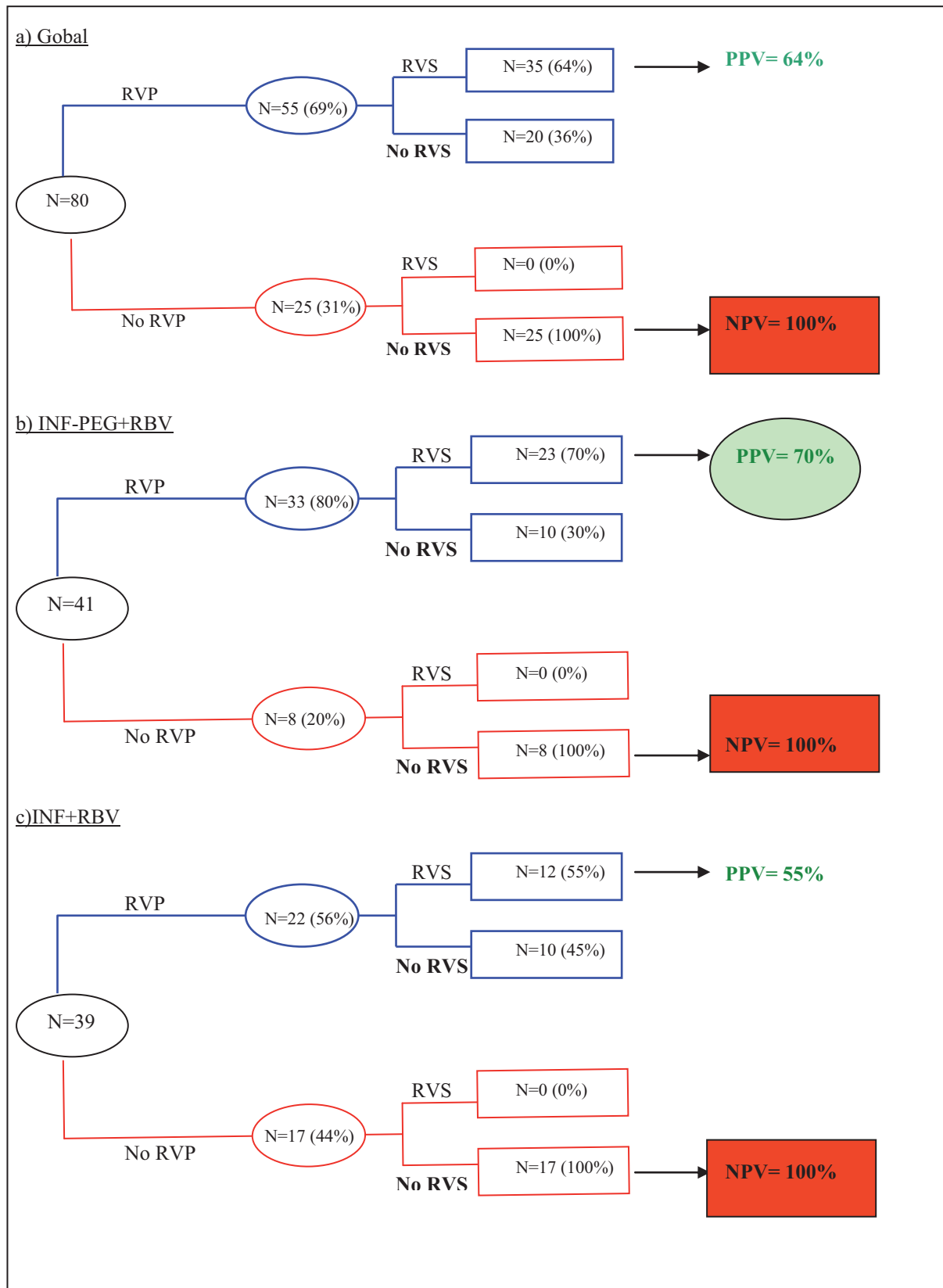
Artículo 3: *Predictive Value of Early Virologic Response in HIV/Hepatitis C Virus–Coinfected Patients Treated With an Interferon-Based Regimen Plus Ribavirin. JAIDS. 2007;44:174-178.*

La elevada morbilidad, la tasa moderada de RVS y el alto coste al tratamiento del VHC con INF y RBV han impulsado que la investigación se dirija a identificar de forma precoz el resultado final del tratamiento antiviral de la VHC.

En nuestra serie se consiguió una RVP en 69% de los 80 pacientes que completaron las 12 semanas de tratamiento, alcanzando el 44% de ellos la RVS y el VPP fue del 64%. Como es de suponer, existieron diferencias claras en la cinética viral en función del tipo de INF utilizado. Los pacientes tratados con INF-PEG obtuvieron una

mayor RVS (56%), con una RVP (80%). Por el contrario los pacientes tratados con INF estándar obtuvieron una RVS del 31%, con una RVP (56%).

Figura 9. Diagrama de flujo que expone la respuesta viral precoz (RVP) en pacientes tratados con INF-PEG versus INF junto con RBV, ajustada al peso del paciente en ambos grupos.



Estas diferencias estadísticamente significativas, podrían ser en parte debidas a la diferente cinética viral que tienen ambos INF, sobre todo en la segunda fase de la fase de inducción. El VPP de los pacientes que recibieron INF-PEG es mucho más alto (de un 70%) que los que recibieron tratamiento con INF de un 55%. Aunque es un alto VPP, es menor en comparación con los estudios realizados en mono infectados, posiblemente debido al mayor número de recidivas que se producen en los pacientes coinfectados.

También la intensidad del descenso del ARN del VHC en la semana 12 de tratamiento es importante como se describe en un subanálisis del estudio APRICOT (125). Los pacientes analizados pertenecían al genotipo viral 1 del VHC y fueron tratados con INF-PEG y RBV sin ajustar por peso. En esta serie, los pacientes que tenían un RNA indetectable en la semana 12 tenían 86% de probabilidades de éxito, los que descendían más de 3 logaritmos alcanzaban una RVS del 57%, frente a los que conseguían un descenso de 2 logaritmos que fue 36%.

Uno de los resultados más importantes de nuestro estudio es el alto VPN que obtuvimos con nuestros pacientes coinfectados. Porque, al igual que en estudios de mono infectados, y algunos datos disponibles en población coinfectada (126), no se observó ningún paciente que consiguiera una RVS en ausencia de una RVP. Es decir, a la vista de los frecuentes efectos secundarios y de los costes del tratamiento, al alto VPN del 100%, nos permite interrumpir el tratamiento en la semana 12, puesto que no vamos a conseguir una respuesta virológica. Estos resultados son concordantes con el estudio APRICOT (120) y RIVABIC (122) en el que el VPN para la RVP era de prácticamente del 100%. En base a estos datos, las guías de consenso europeas han introducido la recomendación de interrumpir el tratamiento en aquellos pacientes que no alcancen la RVP en pacientes coinfectados.

Otro resultado obtenido en este estudio fue el alto VPP que tiene la RVR. En nuestro estudio solo 19 de 95 pacientes alcanzaron la exigente RVR. El VPP alcanzado con esta RVR fue del 89% en total, con un VPN del 70%. Sin embargo, si nos fijamos en los resultados que se obtienen con el tratamiento de elección actualmente, el INF-PEG con Ribavirina (ajustada al peso), el VPP de la RVR fue del 100%, respecto a la rama de INF que fue del 67%. Este dato es muy importante para el paciente y para el clínico pues supone que si el paciente que obtiene una respuesta viral rápida y consigue finalizar el tratamiento, se curará.

Con la idea de identificar precozmente los pacientes no respondedores se han analizado los datos de la carga viral del RNA del VHC obtenidos en la semana 2, 4 y 8. En estudios en mono infectados se está intentado crear un algoritmo diagnóstico para adecuar el tiempo de tratamiento antiviral en función de la cinética viral del paciente. Acortar el tratamiento a aquellos pacientes con genotipo 2 o 3 que han obtenido una RVR en mono infectados (127,128). En este sentido en coinfectados, Crespo et al. analizaron los pacientes con genotipo 2 o 3, que obtuvieron RVR. Solo 1 paciente recidivó al tratase con 24 semanas de tratamiento, en contraste con el 46% de recidivas en aquellos que no alcanzaron la RVR (129).

Por el contrario, se ha propuesto alargar el tratamiento a los pacientes con mayor dificultad para el aclaramiento del virus, los pacientes con genotipo viral 1 o 4, que no llegan a conseguir una RVR o con RVP incompleta. Se realizó un estudio donde se proponía alargar el tratamiento para la VHC a 72 semanas, sin embargo resultados obtenidos para demostrar este concepto no son valorables por el gran número de abandonos en la rama de tratamiento prolongado (130).

Por el momento y en base a los resultados actuales la recomendación general es tratar a los pacientes coinfectados 48 semanas de tratamiento, con el requisito indispensable de alcanzar la RVP y un RNA indetectable en la semana 24 (12).

4.- Estudio clínico randomizado que compara dos estrategias de tratamiento con interferón pegilado alfa 2a versus interferon pegilado alfa 2b junto con Ribavirina en ambos grupos, en pacientes coinfectados por el VIH y VHC.

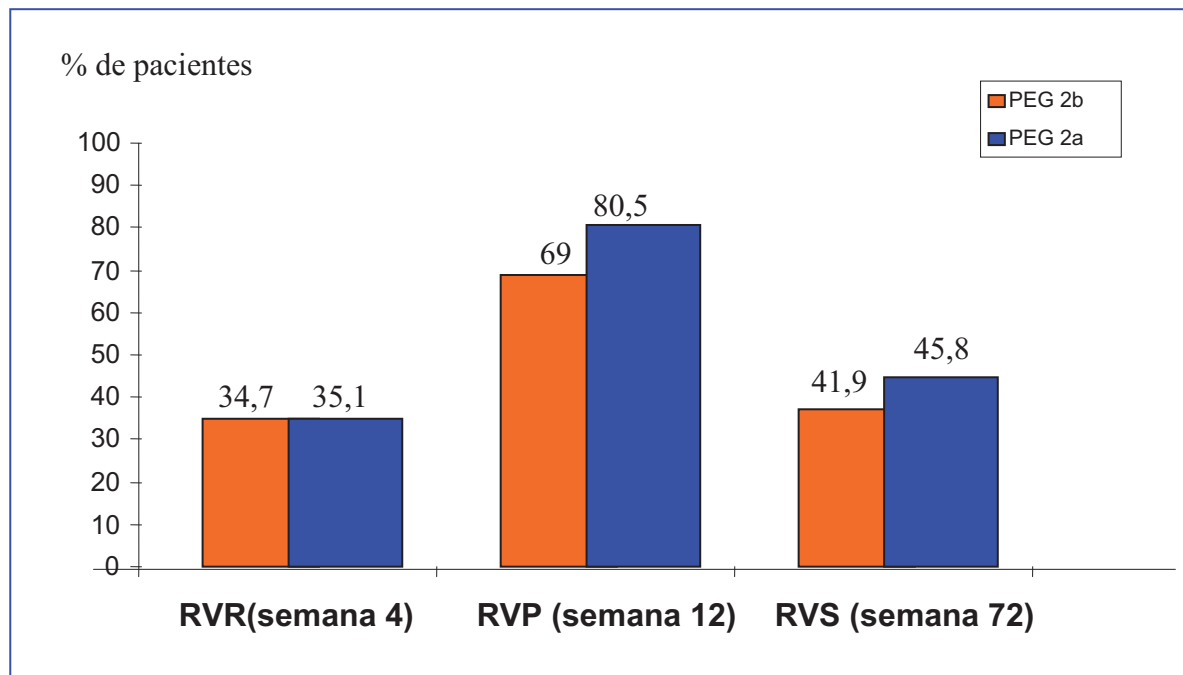
Artículo 4: Randomized trial comparing pegylated interferon alpha-2b versus pegylated interferon alpha-2a, both plus ribavirin, to treat chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus patients. Hepatology. 2009;49:22-31.

Hasta el momento de la publicación, no existía ningún ensayo clínico que comparara directamente los dos INF-PEG comercializados, con la misma dosis de RBV, en pacientes coinfectados por el VIH- VHC.

La conclusión principal de este estudio fue que no se evidenciaron diferencias en relación a la eficacia de los dos INF-PEG. Las tasas de RVS analizadas por intención de tratar se alcanzaron en el 46 % de los pacientes randomizados a INF-PEG 2a y en el 42% de los pacientes tratados con INF-PEG 2b.

La RVS global fue del 44%, y la RVS en función de los genotipos fue del 30% en los genotipos 1 y 4, y del 66% en los genotipos 2 y 3, sin obtener diferencias entre los dos INF-PEG en función del genotipo. Estos resultados de RVS son aceptables y superponibles a los resultados obtenidos en los últimos estudios publicados en pacientes coinfectados (131).

Figura 10. Comparativa de las respuestas virales durante el tratamiento con INF- PEG 2a versus INF-PEG 2b ambos brazos con ribavirina ajustada al peso del paciente. (RVR: Respuesta viral rápida en la semana 4, RVP: respuesta viral precoz en la semana 12, RVS: respuesta viral sostenida en la semana 72).



En cuanto a los estudios que comparan los dos interferones, los resultados recientes del estudio IDEAL realizado en más de 3.000 pacientes mono infectados con genotipo 1, tampoco detectó diferencias en la eficacia de ambos interferones. El estudio IDEAL (132), es un ensayo clínico inicialmente diseñado para comparar dos dosis de INF-PEG 2b (1mg/Kg versus 1,5mg/kg) al que se añadió una tercera rama a posteriori con INF-PEG 2a. Aunque las dosis de RBV no fueron equitativas en ambos brazos (solo la mitad de los pacientes recibieron la misma dosis de RBV), los resultados publicados exponen que existe diferencias significativas en la respuesta al final del tratamiento siendo mejor la rama de INF-PEG 2a con 65% frente al INF-PEG 2b con 53%. Sin embargo, una mayor tasa de recidiva en el grupo tratado con INF-

PEG 2a, motivó que la respuesta final fuera prácticamente la misma (RVS del 40% con INF PEG 2a del versus INF PEG 2b 1,5mg/kg del 41%).

Sin embargo, otro estudio randomizado realizado en 431 pacientes mono infectados por el VHC con los diferentes genotipos, el estudio MIST (133), unicéntrico que comparaba los dos interferones con dosis diferentes de Ribavirina en función del genotipo, pero también del INF utilizado. No se detectaron diferencias en tolerabilidad, pero si en eficacia siendo mejor el grupo de pacientes tratados con INF-PEG 2a con RVS del 66% respecto a los pacientes tratados con INF-PEG 2b con RVS 54% ($p=0,02$).

En otro estudio recientemente publicado, una cohorte de coinfectados de GESIDA que se trataron con INF-PEG y ribavirina, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ni en la eficacia y en la seguridad entre ambos productos (134).

Esta particularidad de tener mejor respuesta al final del tratamiento y mayor RVP en los pacientes tratados con INF-PEG 2a en comparación con INF-PEG 2b, podría estar en relación con las diferencias farmacocinéticas de estos dos productos (95). Aunque como se ha comentado previamente, sin que esto afecte al resultado final que es la RVS por una mayor tasa de recaídas.

La RVP en nuestro estudio también fue más mejor en el grupo de pacientes que recibieron INF-PEG 2a del 80% de los pacientes, respecto al grupo de INF-PEG 2b que fue de menor del 70%, aunque sin significación estadística ($p=0.13$). El VPP en la respuesta viral precoz en global de los pacientes fue del 64%, con un VPN del 100% en la RVP, para alcanzar la RVS.

Los factores predictores de RVS en nuestro estudio fueron el ser varón, menor de 40 años y tener un genotipo 2 o 3. El tipo de INF no se relacionó con una mejor

respuesta al tratamiento. A excepción del hecho de ser varón, las otras dos variables han sido descritas previamente como factores predictores de RVS.

En cuanto a la toxicidad del tratamiento, los pacientes presentaron muchos efectos secundarios como era de esperar. El 96% de los pacientes presentaron algún efecto secundario y el 10% discontinuaron el tratamiento por motivos de toxicidad, aunque sin diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de INF, un 8% en los pacientes tratados con INF-PEG 2b versus un 13% en los pacientes tratados con INF-PEG 2a. Sin embargo, los efectos adversos grado 3-4 fueron más frecuentes, de forma significativa, en los pacientes que fueron tratados con INF-PEG 2a. Un sesenta y dos por ciento de los pacientes tratados con INF-PEG 2a presentaron efectos adversos, frente al 44% de los pacientes tratados con INF-PEG 2b. También la toxicidad hematológica fue más frecuente en el grupo que fue tratado con INF-PEG 2a.

El 42% de los pacientes del estudio desarrollaron leucopenia que se definió como menos de 2.500 leucocitos/ml, y el 38% de los pacientes presentaron trombocitopenia que se determinó por un descenso de plaquetas de menos de 125.000 plaquetas/ml. La leucopenia fue más frecuente en la rama INF-PEG 2a (52%) versus el grupo tratado con INF-PEG 2b (30%) y también la trombocitopenia fue significativamente más frecuente en la rama de INF-PEG 2a con un 48% versus 27% en la rama de INF-PEG 2b. Se desconoce la posible implicación que tienen estas diferencias entre los dos INF-PEG y si realmente tiene trascendencia clínica. Estas alteraciones hematológicas también se describen en otros estudios. En el estudio IDEAL también el grupo de pacientes tratados con INF-PEG 2a tuvieron más interrupciones (12% frente al 9% en los brazos de INF-PEG 2b), sin diferencias en la toxicidad.

En conclusión, este estudio es el primer ensayo clínico randomizado que compara los dos INF-PEG en pacientes coinfectados por el VIH- VHC. En este trabajo no se obtuvieron diferencias en la eficacia ni la tolerancia entre ambas ramas a excepción de la toxicidad hematológica que fue mayor en la rama de INF-PEG 2a.

5. Estudio de farmacocinética de fase I con fosamprenavir y ritonavir en pacientes infectados por el VIH con disfunción hepática.

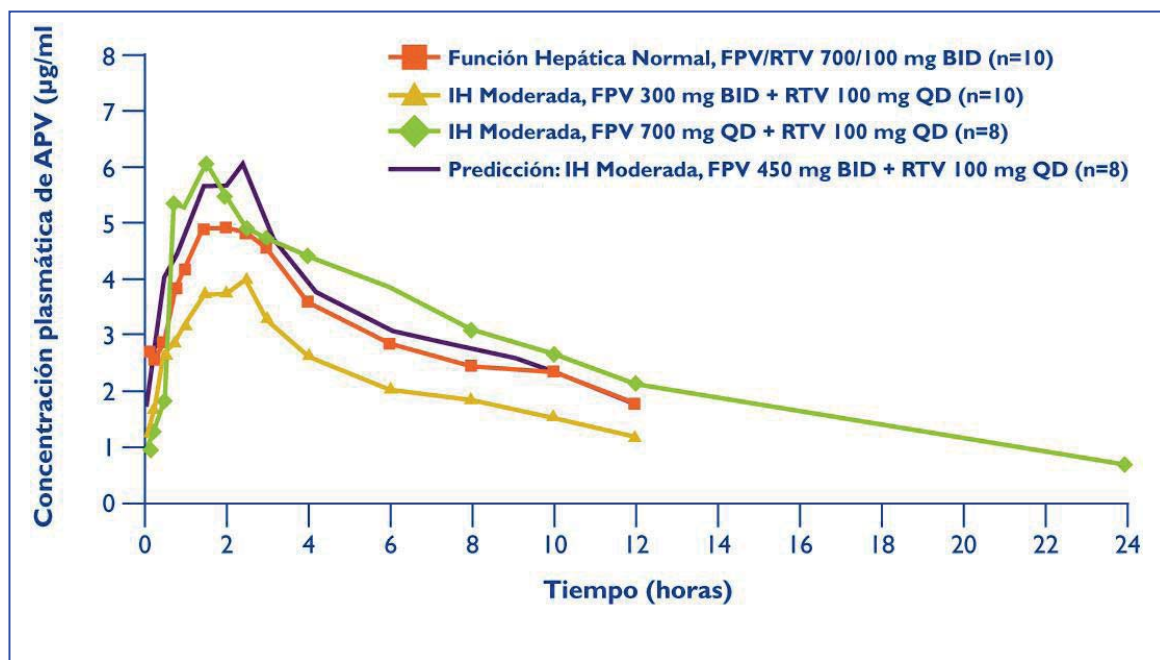
Artículo 5: *Pharmacokinetics of Fosamprenavir plus Ritonavir in HIV-1-infected Adult Subjects with Hepatic Impairment.* Antimicrob. Agents Chemother. 2009; 53: 5185-5196.

Los resultados de este estudio confirman que los pacientes con insuficiencia hepática necesitan un ajuste de dosis de fosamprenavir /ritonavir en función del grado de insuficiencia hepática. Este fármaco en estos momentos, es el único antirretroviral que ha recibido por parte de la Agencia Europea del Medicamento (EMA) la autorización para incluir en ficha técnica recomendaciones sobre las dosis que se deberían utilizar en pacientes con cualquier grado de insuficiencia hepática. Estas pautas están basadas exclusivamente en los resultados de este estudio.

En el grupo de insuficiencia hepatocelular leve, con 5-6 puntos de la clasificación de Child Pugh, el ABC, así como la concentración valle de amprenavir fue similar a la del grupo control, mientras que el valle de amprenavir no unido a proteínas fue superior en este grupo que en el de pacientes sin hepatopatía. Estos pacientes recibieron dosis ajustada a FOS 700 mg/12h con Ritonavir 100 mg solo una vez al día, y esta posología fue la elegida para el paciente con insuficiencia hepática leve.

En cambio, en los pacientes con insuficiencia hepática moderada, el grado de insuficiencia influyó significativamente en la farmacocinética plasmática de APV en presencia de RIT con valores $ABC_{(0-\tau)}$ normalizada según la dosis (ND) de un 51-70% mayores respecto al grupo control. Sin embargo, las pautas estudiadas en estos pacientes produjeron menores exposiciones plasmáticas totales en comparación con el grupo control. Así, el grupo B (tratado con FPV 300mg BID + RIT 100mg QD) y el grupo C (tratados con FPV 700mg QD + RIT 100mg QD) tuvieron unas concentraciones valles de APV significativamente inferiores a las del grupo control.












Figura 11. Área bajo la curva de amprenavir en pacientes con insuficiencia hepática moderada, comparadas con los pacientes con función hepática normal y el ABC obtenida con simulación farmacocinética. (IH: Insuficiencia hepática, FPV:fosamprenavir, RTV: ritonavir; APV: amprenavir, BID: dos veces al día, QD: una vez al día).



La dosis óptima en pacientes con insuficiencia hepatocelular moderada fue FOS 450mg/12h con RIT 100mg/24h, según una estimación realizada por simulación farmacocinética a partir de los resultados con las dosis ensayadas.

En el grupo de pacientes con insuficiencia hepática severa, definidos con una puntuación de Child- Pugh entre 10 -15, la dosis estudiada fue FOS 300mg/12h y RIT 100mg/24h, que a pesar que tenía unas concentraciones ligeramente inferiores en el ABC y también en la concentración máxima, las concentraciones de AMP no unido a proteínas fueron similares a las concentraciones que presentaron los controles. En la tabla siguiente se esquematizan estas dosis según la ficha técnica de Telzir.

Figura 12. Dosis de fosamprenavir /ritonavir aprobadas por la EMEA en pacientes con insuficiencia hepática.

Ajuste de dosis de  telzir® en pacientes con insuficiencia hepática:!		
		
Función hepática normal	 700 mg FPV + 100 mg RTV	 700 mg FPV + 100 mg RTV
Insuficiencia hepática leve Child Pugh A Puntuación 5-6	 700 mg FPV + 100 mg RTV	 700 mg FPV
Insuficiencia hepática moderada Child Pugh B Puntuación 7-9	 450 mg FPV + 100 mg RTV	 450 mg FPV
Insuficiencia hepática severa Child Pugh C Puntuación 10-15	 300 mg FPV + 100 mg RTV	 300 mg FPV

Referencias: 1. telzir®. Summary of Product Characteristics. Available at www.emea.europa.eu Accessed April 2009; GlaxoSmithKline. 2. Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL, et al. Transsection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Brit J Surg* 1973; 60 (8): 646-649. 3. Trey C, Barris DG, Saunders SJ. Treatment of hepatic coma by exchange blood transfusion. *New Engl J Med* 1966; 274: 473-481.

Muchos pacientes con hepatitis crónica por VHC o VHB, infectados por el VIH, incluso con el diagnóstico de cirrosis hepática, no tienen disfunción hepática, por lo que las guías aconsejan mantener las dosis habituales de los fármacos antirretrovirales. Se han realizados diversos estudios comparativos en pacientes con el diagnóstico de cirrosis, habitualmente realizados con métodos no invasivos, en el que no se han evidenciado cambios en la farmacocinética de estos fármacos comparados con los sujetos sin cirrosis (140).

Sin embargo, los pacientes que tienen una insuficiencia hepática precisarían reducir la dosis habitual de los fármacos antirretrovirales en función del grado de

insuficiencia hepática para: disminuir los efectos secundarios, mejorar la tolerabilidad y por tanto mejorar la adherencia y la eficacia al tratamiento. Sin embargo, no hay demasiados estudios orientados a determinar que dosis concreta requieren estos pacientes. Uno de los pocos estudios realizados es el estudio de Peng et al., estudiaron el efecto de la insuficiencia hepática en la farmacocinética de Lopinavir /Rito (400/100 mg/ cada 12h) en 24 pacientes VIH+, doce de ellos coinfectados por VHC con insuficiencia hepática leve o moderada. En los pacientes coinfectados con insuficiencia hepática, se observó un aumento del ABC del Lopinavir total del 20-30%, y de la fracción libre de Lopinavir del 68%, respecto a los controles. Además, el ABC del RIT aumentó un 39% en los pacientes con insuficiencia leve y un 181% en pacientes con insuficiencia moderada (139).

En ninguno de los estudios citados anteriormente hay datos sobre pacientes con insuficiencia hepática severa.

En conclusión, FOS/RIT es el único fármaco antirretroviral que tiene indicación para insuficiencia hepática severa y que evalúa las dosis que se deberían administrar en función del grado de insuficiencia hepática, como se ha descrito anteriormente. Actualmente esta en desarrollo un estudio de farmacocinética más amplio en pacientes con hepatopatía crónica con insuficiencia hepática evaluando las dosis establecidas en este artículo y en la ficha técnica del producto.

CONCLUSIONES DE LA TESIS.

1. Los marcadores no invasivos de fibrosis hepática se correlacionan bien con el grado de lesión histológica determinado por biopsia hepática en pacientes coinfectados por el VIH-VHC.

2. Nuestro modelo matemático basado en los niveles serológicos de TIMP-1 y de HA es un buen modelo para predecir de forma no invasiva, el grado fibrosis hepática detectado por biopsia hepática en pacientes coinfectados.

3. La pauta combinada de interferón pegilado y ribavirina es la terapia de elección en la actualidad para el tratamiento de la hepatitis crónica por VHC en el paciente coinfectado por el VIH. En nuestra experiencia, con ella se consigue una tasa de respuesta virológica sostenida global del 44%. En función del genotipo la RVS es del 38% en el genotipo 1 ó 4 del VHC y del 53% en los casos de genotipo 2 ó 3 del VHC.

4. Los factores relacionados con una mayor RVS resultantes en nuestro estudio han sido: el uso de pautas de tratamiento basadas en el interferón pegilado, el genotipo 2 y 3 del VHC y el ajuste de dosis de los fármacos asignados.

5. La utilización de la respuesta viral precoz en los pacientes coinfectados, definida como el descenso de al menos 2 logaritmos de carga viral del VHC, respecto a la carga viral basal, en la semana 12 de tratamiento. La RVP tiene un VPN del 100%, suficiente para recomendar la interrupción del tratamiento en este punto.

6. Se ha conseguido un alto VPP del 70% en la respuesta viral precoz de los pacientes tratados con INF- PEG 2b y Ribavirina ajustada por peso. También se ha conseguido un alto VPP del 89 %, en la respuesta viral rápida, definida como carga viral

indetectable en la semana 4 de tratamiento, siendo el VPP del 100% en los pacientes que alcanzaron la RVR con el tratamiento INF- PEG y Ribavirina.

7. No hemos detectado diferencias estadísticamente significativas en la eficacia del tratamiento con INF-PEG 2a con RVS del 46% versus una RVS del 42% en la rama de INF-PEG 2b, ambos tratamientos combinados con Ribavirina ajustada por peso.

8. En este estudio los pacientes tratados con INF-PEG 2a combinado con Ribavirina han tenido mayor toxicidad hematológica, que los que fueron tratados con INF-PEG 2b con Ribavirina.

9. La dosis ajustada de fosamprenavir 700mg/12h junto con ritonavir 100mg/24h debería ser la posología de elección en los pacientes con insuficiencia hepática leve. Los resultados de este trabajo han hecho modificar la ficha técnica de fosamprenavir /ritonavir.

10. La dosis ajustada de fosamprenavir 450mg/12h junto con ritonavir 100mg/24h debería ser la posología de elección en los pacientes con insuficiencia hepática moderada.

11. La dosis ajustada de fosamprenavir 300mg/12h junto con ritonavir 100mg/24h debería ser la posología de elección en los pacientes con insuficiencia hepática severa, tal como recomienda la ficha técnica del fármaco.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining mortality and morbidity among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1998; 338: 853-860.
2. Martinez E, Milinkovic A, Buirra E, de Lazzari E, León A, Larrousse M, et al. Incidence and causes of death in HIV-infected persons receiving highly active antiretroviral therapy compared with estimates for the general population of similar age and from the same geographical area. *HIV Medicine.* 2007; 8: 251-258.
3. Weber R, Sabin CA, Friis-Møller N, Reiss P, El-Sadr WM, Kirk O, et al. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. *Arch Intern Med.* 2006 Aug 14-28;166(15):1632-41.
4. Sulkowski M, Thomas D. Hepatitis C in the HIV-infected person. *Ann Intern Med.* 2003, 138:197–207.
5. Spradling PR, Richardson JT, Buchacz K, Moorman AC, Finelli L, Bell BP, et al. Trends in Hepatitis C Virus Infection Among Patients in the HIV Outpatient Study, 1996-2007 *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009 Sep 4.
6. Thomas DL, Vlahov D, Solomon L, Cohn S, Taylor E, Garfein R, Nelson KE. Correlates of hepatitis C virus infections among injection drug users. *Medicine (Baltimore).* 1995 Jul;74(4):212-20.
7. Garfein RS, Vlahov D, Galai N, Doherty MC, Nelson KE. Viral infections in short-term injection drug users: the prevalence of the hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T-lymphotropic viruses. *Am J Public Health.* 1996 May;86(5):655-61.

8. Freeman AJ, Dore GJ, Law MG, Thorpe M, Von Overbeck J, Lloyd AR, et al. Estimating progression to cirrhosis in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. 2001;34(4 Pt 1):809-16.

9. Monga HK, Rodríguez-Barradas MC, Breaux K, Khattak K, Troisi CL, Vélez M, et al. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*. 2001; 33:240-7.

10. Thomas DL. The challenger of hepatitis C in the HIV-infected person. *Annu Rev Med*. 2008;59:473-485.

11. Chen TY, Ding EL, Seage III GR, Kim AY. Meta-analysis: increased mortality associated with hepatitis C in HIV-infected persons is unrelated to HIV disease progression. *Clin infect dis*. 2009;49(10):1605-15.

12. Rockstroh JK, Bhagani S, Benhamou Y, Bruno R, Mauss S, Peters L, et al. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults. *HIV medicine*. 2008 Feb;9(2):82-8.

13. Seeff LB. Natural History of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26 (Suppl 1):21-28.

14. Grebely J, Raffa JD, Lai C, Kraiden M, Conway B, Tyndall MW. Factors associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus among illicit drug users. *Can J Gastroenterol*. 2007;21(7):447-51.

15. Micallef JM, Kaldor JM, Dore GJ. Spontaneous viral clearance following acute hepatitis C infection: a systematic review of longitudinal studies. *J Viral Hepat*. 2006 Jan;13(1):34-41.

16. Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD Natural history of hepatitis C virus infection in HIV-infected individuals and the impact of HIV in the era of highly active antiretroviral therapy: a meta-analysis. *AIDS*. 2008;22(15):1979-91.
17. Fattovich G, Giustina G, Degos F, Tremolada F, Diodati G, Almasio P, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology*. 1997;112:463-72.
18. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC groups. *Lancet*. 1997; 349:825–32.
19. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Goodman Z, McHutchison J, Albrecht J. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2001 May;34 (5):730-9.
20. Hézode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, Grenard P, Julien B, Zafrani ES, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C . *Hepatology*. 2005 Jul;42(1):63-71.
21. Patel K, Norris S, Lebeck L, Feng A, Clare M, Pianko S, et al. HLA class I allelic diversity and progression of fibrosis in patients with chronic hepatitis C *Hepatology*. 2006 Feb;43(2):241-9.
22. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C .*Hepatology*. 2002 ;36(5 Suppl 1):S47-56 .
23. Lanthier N, Horsmans Y, Leclercq IA. The metabolic syndrome: how it may influence hepatic stellate cell activation and hepatic fibrosis.*Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2009;12(4): 404-11.

24. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, Charlotte F, Azria F, Coutellier A, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology*. 1999;30:1054-8.

25. Soto B, Sánchez-Quijano A, Rodrigo L, Del Olmo JA, García-Bengoechea M, Hernández-Quero J, et al. Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol*. 1997;26:1-5.

26. Rullier A, Trimoulet P, Neau D, Bernard PH, Foucher J, Lacoste D, et al. Fibrosis is worse in HIV-HCV patients with low-level immunodepression referred for HCV treatment than in HCV-matched patients. *Hum Pathol*. 2004 Sep;35(9):1088-94.

27. Martín-Carbonero L, Benhamou Y, Puoti M, Berenguer J, Mallolas J, Quereda C, et al. Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Clin Infect Dis*. 2004 1;38(1):128-33.

28. Daar ES, Lynn H, Donfield S, Gomperts E, Hilgartner MW, Hoots WK, et al. Hemophilia Growth and Development Study. Relation between HIV-1 and hepatitis C viral load in patients with hemophilia. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001 Apr 15;26(5):466-72.

29. Dutoit V, Ciuffreda D, Comte D, Gonvers JJ, Pantaleo G. Differences in HCV-specific T cell responses between chronic HCV infection and HIV/HCV co-infection. *Eur J Immunol*. 2005 Dec; 35(12):3493-504.

30. Kuntzen T, Tural C, Li B, Feldmann G, Kupfer B, Nischalke HD, Clotet B, et al. Intrahepatic mRNA expression in hepatitis C virus and HIV/hepatitis C virus co-infection: infiltrating cells, cytokines, and influence of HAART. *AIDS*. 2008 11;22(2):203-10.

31. Reiberger T, Ferlitsch A, Sieghart W, Kreil A, Breitenecker F, Rieger A, et al. HIV-HCV co-infected patients with low CD4+ cell nadirs are at risk for faster fibrosis progression and portal hypertension. *J Viral hepatitis*. 2009;

32. Greub G, Ledergerber B, Battegay M, Grob P, Perrin L, Furrer H, et al. Clinical progression, survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus coinfection: the Swiss HIV Cohort Study. *Lancet*. 2000;356:1800-1805.

33. Sulkowski MS, Thomas DL, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in adults infected with human immunodeficiency virus and the role of hepatitis C or B virus infection. *JAMA*. 2000;283:74-80.

34. Martínez E, Blanco JL, Arnáiz JA, Pérez-Cuevas JB, Mocroft A, Cruceta A, et al. Hepatotoxicity in HIV-1-infected patients receiving nevirapine-containing antiretroviral therapy. *AIDS*. 2001;15:1261-8.

35. Saves M, Vandentorren S, Daucourt V, Marimoutou C, Dupon M, Couzigou P et al. Severe hepatic cytolysis: incidence and risk factors in patients treated by antiretroviral combinations. Aquitaine Cohort, France, 1996-1998. Groupe d'Epidemiologie Clinique de Sida en Aquitaine (GECSA). *AIDS*. 1999; 13:F115-F121.

36. den Brinker M, Wit FW, Wertheim-van Dillen PM, Jurriaans S, Weel J, van Leeuwen R et al. Hepatitis B and C virus co-infection and the risk for hepatotoxicity of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infection. *AIDS*. 2000; 14(18):2895-2902.

37. De Luca A, Bugarini R, Cozzi Lepri A, Puoti M, Girardi E, Antinori A, et al. Coinfection with hepatitis viruses and outcome of initial antiretroviral regimens in previously naïve HIV-infected subjects. *Arch Intern Med.* 2002;162:2125-32.

38. Pineda JA, García-García JA, Aguilar-Guisado M, Ríos-Villegas MJ, Ruiz-Morales J, Rivero A, et al. Clinical progression of hepatitis C virus-related chronic liver disease in human immunodeficiency virus-infected patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Hepatology.* 2007 Sep;46(3):622-30.

39. Pineda JA, Romero-Gómez M, Díaz-García F, Girón-González JA, Montero JL, Torre-Cisneros J, et al. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology.* 2005;41(4):779-89.

40. Benhamou Y, Di Martino V, Bochet M, Colombet G, Thibault V, Liou A, et al. Factors affecting liver fibrosis in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus-coinfected patients: impact of protease inhibitor therapy. *Hepatology.* 2001 Aug;34(2):283-7.

41. Macías J, Castellano V, Merchante N, Palacios RB, Mira JA, Sáez C, et al. Effect of antiretroviral drugs on liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis C: harmful impact of nevirapine. *AIDS.* 2004;18:767-774.

42. Berenguer J, Bellón JM, Miralles P, Alvarez E, Castillo I, Cosín J, et al. Association between exposure to nevirapine and reduced liver fibrosis progression in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. *Clin Infect Dis.* 2008 Jan 1;46(1):137-43.

43. Maida I, Núñez M, Ríos MJ, Martín-Carbonero L, Sotgiu G, Toro C, et al. Severe liver disease associated with prolonged exposure to antiretroviral drugs. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006 Jun;42(2):177-82.

44. Bonacini M, Louie S, Bzowej N; Wohl AR. Survival in patients with HIV infection and viral hepatitis B or C: a cohort study. *AIDS*. 2004. 18(15):2039-2045.
45. Arribas, JR; González-García, JJ; Lorenzo, A; Montero, D; de Guevara, C Ladrón et al. Single (B or C), dual (BC or BD) and triple (BCD) viral hepatitis in HIV-infected patients in Madrid, Spain .*AIDS*. 2005;19(13):1361-1365.
46. Albers I, Hartmann H, Bircher J, Creutzfeldt W. J .Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function tests for assessing prognosis of liver cirrhosis. *Gastroenterol*. 1989 Apr;24(3):269-76.
47. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, et al. A model to predict survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*. 2000;31:464.
48. Pineda JA, García-García JA, Aguilar-Guisado M, Ríos-Villegas MJ, Ruiz-Morales J, Rivero A, et al. Clinical progression of hepatitis C virus-related chronic liver disease in human immunodeficiency virus-infected patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Hepatology*. 2007 Sep;46(3):622-30.
49. Puoti, M, Bruno R, Soriano V, Donato F, Gaeta GB, Quinzan GP et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome. *AIDS*. 2004;18(17):2285-2293.
50. Salmon-Ceron D, Rosenthal E, Lewden C, Bouteloup V, May T, Burty C, et. al. Mortalité Study Group and Mortavic. Emerging role of hepatocellular carcinoma among liver-related causes of deaths in HIV-infected patients: The French national Mortalité 2005 study.*J Hepatol*. 2009 Apr;50(4):736-45.
51. Murillas J, Del Río M, Riera M, Vaquer P, Salas A, Leyes M, et al. Increased incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) in HIV-1 infected patients.*Eur J Intern Med*. 2005 Apr;16(2):113-115.

52. Clifford GM, Rickenbach M, Polesel J, Dal Maso L, Steffen I, Ledergerber B, et al. Influence of HIV-related immunodeficiency on the risk of hepatocellular carcinoma AIDS. 2008;18;22(16):2135-41.

53. Murillas J, Rimola A, Laguno M, de Lazzari E, Rascón J, Agüero F, et al. The model for end-stage liver disease score is the best prognostic factor in human immunodeficiency virus 1-infected patients with end-stage liver disease:a prospective cohort study. Liver Transpl. 2009 ;15(9):1133-41.

54. Miro JM, Montejo M, Castells L, Meneu J, Rafecas, Blanes M et al. 5-Year Survival of HCV/HIV co-infected Liver Transplant Recipients:A case/control study. Abstract 833. 16th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections 2009, Montreal.

55. Reisler RB, Han C, Burman WJ, Tedaldi EH, Neaton JD. Grade 4 events are as important as AIDS events in the era of HAART .JAIDS. 2003;34:379-386.

56. Veronese L, Rautureau J, Sadler BM, Gillotin C, Petite JP, Pillegand B, et al. Single-dose pharmacokinetics of amprenavir, a human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor, in subjects with normal or impaired hepatic function. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44(4):821-6.

57. Peng JZ, Pulido F, Causemaker SJ, Li J, Lorenzo A, Cepeda C, et al. Pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir in HIV/hepatitis C virus-coinfected subjects with hepatic impairment. J Clin Pharmacol. 2006 Mar;46(3):265-74.

58. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection . N Engl J Med. 2001 Jul 5;345(1):41-52.

59. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. J Hepatol. 1991; 13:372-374.

- 60.** Saadeh S, Cammell G, Carey WD, Younossi Z, Barnes D, Easley K. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2001; 33:33;196-200.
- 61.** Cadranel JF, Rufat P, Degos F. Practices of liver biopsy in France: results of a prospective nationwide survey. For the Group of Epidemiology of the French Association for the Study of the Liver (AFEFL). *Hepatology*. 2000 Sep;32(3):477-81.
- 62.** Bedossa P, Dargère D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003 Dec;38(6):1449-1457.
- 63.** Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol*. 2002 Oct;97(10):2614-8.
- 64.** Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poinard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*. 2001; 357:1069–75.
- 65.** Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:518-26
- 66.** Forns X, Ampurdanes S, Llovet JM, Aponte J, Quintó L, Martínez-Bauer E et al. Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model. *Hepatology*. 2002;36:986-92.
- 67.** Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, Becka M, Burt A, Schuppan D et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study.; European Liver Fibrosis Group. *Gastroenterology*. 2004 ;127:1704-13.
- 68.** Myers, R, Benhamou Y, Imbert-Bismut F, Thibault V, Bochet M, Charlotte F, et al. Serum biochemical markers accurately predict liver fibrosis in HIV and hepatitis C virus co-infected patients. *AIDS*. 2003;17: 721-25.

69. Kelleher TB, Mehta SH, Bhaskar R, Sulkowski M, Astemborski J, Thomas DL, et al. Prediction of hepatic fibrosis in HVI/HVC coinfecting patients using serum fibrosis markers: the SHASTA index. *J Hepatology*. 2005;43:78-84.

70. Poynard T, Bedossa P. Age and platelet count: a simple index for predicting the presence of histological lesions in patients with antibodies to hepatitis C virus. METAVIR and CLINIVIR Cooperative Study Groups. *J Viral Hepat*. 1997 ;4(3):199-208.

71. Lok AS, Ghany MG, Goodman ZD, Wright EC, Everson GT, Sterling RK, et al. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: results of the HALT-C cohort. *Hepatology*. 2005;42(2):282-92.

72. Calès P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konaté A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology*. 2005;42(6):1373-81.

73. Adams LA, Bulsara M, Rossi E, DeBoer B, Speers D, George J, et al. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection. *Clin Chem*. 2005 Oct;51(10):1867-73.

74. Christensen D, Bruden S, Livingston H, Deubner C, Homan K, Smith E et al. Diagnostic accuracy of a fibrosis serum panel (FIBROSpect II) compared with Knodell and Ishak liver biopsy scores in chronic hepatitis C patients. *J viral hepat*. 2006 Oct;13(10):652-8.

75. Koda M, Matunaga Y, Kawakami M, Kishimoto Y, Suou T, Murawaki Y. FibroIndex, a practical index for predicting significant fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2007 Feb;45(2):297-306

76. Sterling K, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006 Jun;43(6):1317-25.

77. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A, Christidis C, Mal F, Kazemi F, et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005;41:48-54

78. Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005;128:343-50.

79. Lim AK, Taylor-Robinson SD, Patel N, Eckersley RJ, Goldin RD, Hamilton G, et al. Hepatic vein transit times using a microbubble agent can predict disease severity non-invasively in patients with hepatitis C. *Gut*. 2005;54(1):128-33.

80. Lim AK, Patel N, Hamilton G, Hajnal JV, Goldin RD, Taylor-Robinson SD. The relationship of in vivo ³¹P MR spectroscopy to histology in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;37(4):788-94.

81. Yin M, Talwalkar JA, Glaser KJ, Manduca A, Grimm RC, Rossman PJ, et al. Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 Oct;5(10):1207-1213.

82. Huwart L, Peeters F, Sinkus R, Annet L, Salameh N, ter Beek LC, Horsmans Y, et al. Liver fibrosis: non-invasive assessment with MR elastography. *NMR Biomed*. 2006 Apr;19(2):173-9.

83. Berenguer J, Alvarez-Pellicer J, Martín PM, López-Aldeguer J, Von-Wichmann MA, Quereda C et al. Sustained virological response to interferon plus ribavirin reduces liver-related complications and mortality in patients coinfecting with

human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *Hepatology*. 2009 Aug;50(2):407-13.

84. Scherzer TM, Reddy KR, Wrba F et al. Hepatocellular carcinoma in long-term sustained virological responders following antiviral combination therapy for chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2008;15:659-665.

85. Nasta P, Gatti F, Puoti M, Cologni G, Bergamaschi V, Borghi F, et al. Insulin resistance impairs rapid virologic response in HIV/hepatitis C virus coinfecting patients on peginterferon-alfa-2^a. *AIDS*. 2008; 22(7):857-861.

86. Opravil M, Sasadeusz J, Cooper DA, Rockstroh JK, Clumeck N, Clotet B, Effect of baseline CD4 cell count on the efficacy and safety of peginterferon Alfa-2a (40KD) plus ribavirin in patients with HIV/hepatitis C virus coinfection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008 Jan 1;47(1):36-49.

87. Drusano GL, Preston SL. A 48-week duration of therapy with pegylated interferon alpha 2b plus ribavirin may be too short to maximize long-term response among patients infected with genotype-1 hepatitis C virus. *J infect Dis*. 2004;189:964-70.

88. Zeuzem S, Herrmann E, Lee JH, Fricke J, Neumann AU, Modi M, et al. Viral kinetics in patients with chronic hepatitis C treated with standard or peginterferon alpha 2a. *Gastroenterology*. 2001;120(6):1438-47.

89. Layden-Almer JA, Cotler SJ, Layden TJ. Viral kinetics in the treatment of chronic hepatitis C *J Viral Hepat*. 2006;13:499-504.

90. Fried MW, Shiffman ML, Reddy RK, et al. Peginterferon alpha-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002;347:975–982.

91. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, et al. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2003;38:645–652.
92. Ferenci P. Predicting the therapeutic response in patients with chronic hepatitis C: the role of viral kinetic studies. *J Antimicrob Chemother*. 2004;53:15–18.
93. Sherman KE, Shire NJ, Rouster SD, Peters MG, James Koziel M, Chung RT et al. Viral kinetics in hepatitis C or hepatitis C/human immunodeficiency virus-infected patients. *Gastroenterology*. 2005;128:313–327.
94. Keeffe EB, Hollinger FB. Therapy of hepatitis C: consensus interferon trials. Consensus Interferon Study Group. *Hepatology*. 1997;26(3 Suppl 1):101S-107S.
95. Foster GR. Review article: pegylated interferons: chemical and clinical differences. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;20:825-30.
96. B. Ramos, M. Núñez, Rendón A, Berdún M.A, Losada E., Santos I, et al. Critical role of ribavirin for the achievement of early virological response to HCV therapy in HCV/HIV-coinfected patients. *Journal of Viral Hepatitis*. 2007, 14, 387–391.
97. Soriano V, García-Samaniego J, Bravo R, González J, Castro A, Castilla J, et al. Interferon alfa for the treatment of chronic hepatitis C patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 1996; 23: 585-591.
98. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998, 339:1485–1492.

- 99.** Sauleda S, Juarez A, Esteban JI, Altisent C, Ruiz I, Puig L, et al. Interferon and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C in human immunodeficiency virus-infected patients with congenital coagulation disorders. *Hepatology*. 2001; 34:1035–1040.
- 100.** Glue P, Sabo R, Rouzier-Panis R, Gupta SK, Jacobs S, Ingravallo P, et al. A dose-ranging study of PEG-Intron and ribavirin in chronic hepatitis C. Safety, efficacy, and virologic rationale. *Hepatology*. 1999; 30: 303A.
- 101.** Fried MW. Side effects of therapy of hepatitis C and their management. *Hepatology*. 2002;36:S237-S44.
- 102.** Laguno M, Blanch J, Murillas J, Blanco JL, León A, Lonca M, et al. Depressive symptoms after initiation of interferon therapy in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C. *Antivir Ther*. 2004 Dec;9(6):905-9.
- 103.** De Franceschi L, Fattovich G, Turrini F, Ayi K, Brugnara C, Manzato F, et al. Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection: role of membrane oxidative damage. *Hepatology*. 2000 Apr;31(4):997-1004.
- 104.** Afdhal NH, Dieterich DT, Pockros PJ, Schiff ER, Shiffman ML, Sulkowski MS, et al. Proactive Study Group. Epoetin alfa maintains ribavirin dose in HCV-infected patients: a prospective, double-blind, randomized controlled study. *Gastroenterology*. 2004 May;126(5):1302-11.
- 105.** Alvarez D, Dieterich DT, Brau N, Moorehead L, Ball L, Sulkowski MS. Zidovudine use but not weight-based ribavirin dosing impacts anaemia during HCV treatment in HIV-infected persons. *J Viral Hepat*. 2006;13(10):683-9.

- 106.** Salmon-Céron D, Chauvelot-Moachon L, Abad S, Silbermann B, Sogni P. Mitochondrial toxic effects and ribavirin. *Lancet*. 2001;357:1803-4.
- 107.** Laguno M, Milinkovic A, de Lazzari E, Murillas J, Martínez E, Blanco JL, et al. Incidence and risk factors for mitochondrial toxicity in treated HIV/HCV-coinfected patients. *J. Antivir Ther*. 2005;10(3):423-9.
- 108.** Alvarez D, Dieterich DT, Brau N, Moorehead L, Ball L, Sulkowski MS. Zidovudine use but not weight-based ribavirin dosing impacts anaemia during HCV treatment in HIV-infected persons. *J Viral Hepat*. 2006 Oct;13(10):683-9.
- 109.** Tuyama A, Hong F, Mosoian A et al. Entry and replication in stellate cells promotes cellular activación and fibrogenesis:implication for hepatic fibrosis HIV/VHC co-infection. CROI 2008. Boston , MA. Abstract 57.
- 110.** Fontana RJ, Goodman ZD, Dienstag JL, Bonkovsky HL, Naishadham D, Sterling RK, et al. Relationship of serum fibrosis markers with liver fibrosis stage and collagen content in patients with advanced chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2008 Mar;47(3):789-98.
- 111.** Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Thabut D, Le Calvez S, et al. Prospective Analysis of Discordant Results between Biochemical Markers and Biopsy in Patients with Chronic Hepatitis C. *Clinical Chemistry*. 2004; 50:8:1344–1355.
- 112.** Fontana RJ, Bonkovsky HL, Naishadham D, Dienstag JL, Sterling RK, Lok AS, et al. Serum fibrosis marker levels decrease after successful antiviral treatment in chronic hepatitis C patients with advanced fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009 Feb;7(2):219-26.

- 113.** Naveau S, Gaudé G, Asnacios A, Agostini H, Abella A, Barri-Ova N, et al. Diagnostic and prognostic values of noninvasive biomarkers of fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2009 Jan;49(1):97-105.
- 114.** Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005 ;128(2):343-50.
- 115.** Nguyen-Khac E, Chatelain D, Tramier B, Decrombecque C, Robert B, Joly JP, et al. Assessment of asymptomatic liver fibrosis in alcoholic patients using fibroscan: prospective comparison with seven non-invasive laboratory tests. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;28(10):1188-98.
- 116.** Perez-Olmeda M, Nunez M, Romero M, Gonzalez J, Castro A, Arribas JR, et al. Pegylated IFN-alpha2b plus ribavirin as therapy for chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS*. 2003 May 2;17(7):1023-8.
- 117.** Moreno L, Quereda C, Moreno A, Perez-Elias MJ, Antela A, Casado J, et al. Pegylated interferon alpha 2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *AIDS*. 2004, 18(1):67-73.
- 118.** Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL Jr, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002 Sep 26;347(13):975-82.
- 119.** Manss MP, McHutchinson JG, Gordon SC, Rutgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. and the international Hepatitis interventional Therapy Group. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358: 958-965.

- 120.** Torriani FJ, Rodríguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, González-García J, Lazzarin A, et al. APRICOT Study Group. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2004;351:438-50.
- 121.** Chung RT, Andersen J, Volberding P, Robbins GK, Liu T, Sherman KE, et al. AIDS Clinical Trials Group A5071 Study Team. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med.* 2004;351:451-9.
- 122.** Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, Rosenthal E, Lunel-Fabiani F, Benzekri A, et al. ANRS HCO2 RIBAVIC Study Team. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2004;292(23):2839-48.
- 123.** Crespo M, Sauleda S, Esteban JI, Juarez A, Ribera E, Andreu AL, et al. Peginterferon alpha-2b plus ribavirin vs interferon alpha-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients. *J Viral Hepat.* 2007;14(4):228-38.
- 124.** Dienstag JL, McHutchison JG. American Gastroenterological Association technical review on the management of hepatitis C. *Gastroenterology.* 2006;130:231-264.
- 125.** Rodríguez-Torres M, Rockstroh J, Depamphilis J. Predictor of SVR in HVC genotype 1 patients co-infected with HIV base virological responses at week 4 and 12 of treatment with peginterferon alfa 2a and ribavirin: retrospective analysis of APRICOT . AASLD 2008, San Francisco, 2008: abstract 1855.
- 126.** Torriani F, Ribeiro R, Gilbert T, et al. HCV and HIV dynamics during HCV treatment in HCV/HIV coinfection. *J Infect Dis.* 2003;188:1498–1507.

- 127.** Mangia A, Santoro R, Minerva N, Ricci GL, Carretta V, Persico M, et al, Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med.* 2005;352(25):2609-17.
- 128.** Shiffman ML, Suter F, Bacon BR, Nelson D, Harley H, Solá R, et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *Engl J Med.* 2007;357(2):124-34.
- 129.** Crespo M, Esteban JI, Ribera E, Falco V, Sauleda S, Buti M, et al. Utility of week-4 viral response to tailor treatment duration in hepatitis C virus genotype 3/HIV co-infected patients. *AIDS.* 2007 Feb 19;21(4):477-81.
- 130.** Chung R, Umbleja T, Butt A, and SLAM-C (ACTG A5178): Role of early virologic response in extended therapy with PEG-interferon and weight-based ribavirin IN HCH/HIV co-infection. 16th Conference on retroviruses and opportunistic Infections (CROI 2009). Montreal, Canada, February 8-11, 2009. Abstrack 103LB.
- 131.** Soriano V, Miralles C, Berdú MA, Losada E, Aguirrebengoa K, Ocampo A, et al. Premature treatment discontinuation in HIV/HCV-coinfected patients receiving pegylated interferon plus weight-based ribavirin. *Antivir Ther.* 2007;12:469-476.
- 132.** McHutchison JM, Lawitz E.J., Shiffman M.L., Muir AJ, Galler G.W, McCone J et al. Peginterferon Alfa-2b or Alfa-2a with Ribavirin for Treatment of Hepatitis C Infection. *N Engl J Med.* 2009; 361:580-93.
- 133.** Rumi M, Aghemo A, Prati GM, D'Ambrosio R, Donato MF, Soffredini R, et al. M. Randomized Study of Peginterferon-alpha2a Plus Ribavirin vs Peginterferon-alpha2b Plus Ribavirin in Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology.* 2009 Sep 18.

134. Berenguer J, González-García J, López-Aldeguer J, Von-Wichmann MA, Quereda C, Hernando A, et al. GESIDA HIV/HCV cohort. Pegylated interferon {alpha}2a plus ribavirin versus pegylated interferon {alpha}2b plus ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother.* 2009 Jun;63(6):1256-63.

135. Moltó J, Llibre JM, Ribera E, Mínguez C, del Río JS, Pedrol E et al. Saquinavir exposure in HIV-infected patients with chronic viral hepatitis *J Antimicrob Chemother.* 2009, 63(5):992-7.

8. APÉNDICE

Artículos originales relacionados con la tesis, no incluidos en ella:

Laguno M, **Larrousse M**, Blanco JL, León A, Milinkovic A, Martínez –Rebollar M, Loncá M, Martínez E, Sanchez –Tapias JM, Lazzari E, Gatell JM^a; Costa J, Mallolas J. Prevalence and Clinical Relevance of Occult Hepatitis B in the Fibrosis Progression and Antiviral Response to INF Therapy in HIV–HCV Coinfected Patients .AIDS Research and humana retroviruses. 2008; 4: 547-553. 2008.

Laguno M, Milinkovic A, de Lazzari E, Murillas J, Martinez E, Blanco JL, Lonca M, Biglia A, Leon A, Garcia M, **Larrousse M**, Garcia F, Miro JM, Gatell JM, Mallolas J. Incidence and risk factors for mitochondrial toxicity in treated HIV-HCV co-infected patients. Antiviral Therapy. 2005; 10:423-9.

Laguno M, Blanch J, Murillas J, Blanco JL, Leon A, Lonca M, **Larrousse M**, Biglia A, Martinez E, García F, Miró JM, de Pablo J, Gatell JM, Mallolas J. Depressive symptoms after initiation of interferon therapy in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C. Antiviral Therapy. 2004; 9:905–909.

