

Universidad de Huelva

Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública



Análisis de las características basales y cinéticas virolipídicas durante las primeras semanas de terapia antiviral dual en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1 : diseño de un modelo predictivo costo-eficiente para la detección muy precoz de pacientes que no van a responder a la biterapia antiviral

**Memoria para optar al grado de doctor
presentada por:**

Fernando Manuel Jiménez Macías

Fecha de lectura: 16 de octubre de 2014

Bajo la dirección de los doctores:

Carlos Ruiz Frutos
Emilio Pujol de la Llave

Huelva, 2014



Universidad de Huelva

Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública



Análisis de las características basales y cinéticas viro-lipídicas durante las primeras semanas de terapia antiviral dual en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1: diseño de un modelo predictivo costo-eficiente para la detección muy precoz de pacientes que no van a responder a la biterapia antiviral

Memoria para optar al grado de doctor
presentada por:

Fernando Manuel Jiménez Macías

Fecha de lectura: de Junio de 2014

Bajo la dirección de los doctores:

Carlos Ruíz Frutos
Emilio Pujol de la Llave

Huelva, 2014

ISBN:

D.L.:

Tesis Doctoral

Análisis de las características basales y cinéticas viro-lipídicas durante las primeras semanas de terapia antiviral dual en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1: diseño de un modelo predictivo costo-eficiente para la detección muy precoz de pacientes que no van a responder a la biterapia antiviral

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
AMBIENTAL Y SALUD PÚBLICA**

Fernando Manuel Jiménez Macías

2014

Universidad de Huelva



**FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA AMBIENTAL
Y SALUD PÚBLICA**

UNIVERSIDAD DE HUELVA

TESIS DOCTORAL

Análisis de las características basales y cinéticas viro-lipídicas durante las primeras semanas de terapia antiviral dual en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1: diseño de un modelo predictivo costo-eficiente para la detección muy precoz de pacientes que no van a responder a la biterapia antiviral

Fernando Manuel Jiménez Macías

Junio 2014

TESIS DOCTORAL

Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento de Biología Ambiental

Y Salud Pública

ANÁLISIS DE LAS CARACTERÍSTICAS BASALES Y CINÉTICAS VIRO-LIPÍDICAS DURANTE LAS PRIMERAS SEMANAS DE TERAPIA ANTIVIRAL DUAL EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA C GENOTIPO 1: DISEÑO DE UN MODELO PREDICTIVO COSTO-EFICIENTE PARA LA DETECCIÓN MUY PRECOZ DE PACIENTES QUE NO VAN A RESPONDER A LA BITERAPIA ANTIVIRAL

Universidad de Huelva

Autor: **Fernando Manuel Jiménez Macías**

Directores:

- **Carlos Ruíz Frutos.**

Profesor y Director del Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública.

Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Huelva.

- **Emilio Pujol de la Llave.**

Jefe de Servicio de Medicina Interna.

Área Hospitalaria Juan Ramón Jiménez. Huelva

Junio 2014

Agradadecimientos

A mis directores, Carlos y Emilio, por todo lo que me enseñaron, gracias a su asesoramiento incondicional, que llevaré siempre conmigo.

A Manuel Ramos, como compañero y amigo, con el que compartí el día a día de este proyecto de investigación.

A Luís y Fátima, que de forma desinteresada coordinaron la logística de laboratorio, haciendo una realidad este proyecto.

A mis compañeros, a los médicos de familia de los centros de salud participantes, por su apoyo y colaboración.

Al personal de Fabis por fomentar y hacer más cercana una investigación de calidad a clínicos como yo.

Al personal de enfermería y auxiliar, con el que he compartido momentos que no olvidaré.

Especial agradecimiento a mi mujer Isabel María, a mis hijos Fernando e Isabel, por su incondicional apoyo, comprensión y espera a un padre y marido que ha dedicado tantas horas frente a un ordenador para hacer realidad este proyecto, prometiéndoles recompensarles en un futuro.

A mis padres, por su cariño infinito y estar siempre a mi lado cuando les necesité.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I: RESUMEN.....	15
1.1 . <i>RESUMEN</i>	16
1.2 . <i>SUMMARY</i>	23
CAPÍTULO II: GLOSARIO.....	30
CAPÍTULO III: INTRODUCCIÓN.....	35
3.1. <i>HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR EL VHC</i>	37
3.2. <i>VIROLOGÍA EN LA HEPATITIS C</i>	38
3.3. <i>DIAGNÓSTICO DE HEPATITIS C</i>	43
3.4. <i>EPIDEMIOLOGÍA Y VÍAS DE TRANSMISIÓN DE LA HEPATITIS C</i>	53
3.5. <i>TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA POR EL VIRUS C</i>	55
3.6. <i>FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA</i>	72
3.7. <i>ALGORITMOS TERAPEÚTICOS EN HEPATITIS CRÓNICA C</i>	93
3.8. <i>TERAPIAS ANTIVIRALES</i>	98
3.8.1. <i>INTERFERÓN PEGILADO + RIBAVIRINA (BITERAPIA)</i>	98
3.8.2. <i>TRIPLE TERAPIA DE PRIMERA GENERACIÓN</i>	101
3.8.2.1. <i>BITERAPIA + BOCEPREVIR</i>	101
3.8.2.2. <i>BITERAPIA + TELAPREVIR</i>	106
3.8.3. <i>TRIPLE TERAPIA DE SEGUNDA GENERACIÓN</i>	110
3.8.3.1. <i>BITERAPIA + SIMEPREVIR</i>	110
3.8.3.2. <i>BITERAPIA + SOFOSBUVIR</i>	112
3.8.3.3. <i>BITERAPIA + FALDAPREVIR</i>	114
3.9. <i>CINÉTICA VIRAL DURANTE LAS PRIMERAS SEMANAS</i>	114

3.10. METABOLISMO LIPÍDICO RELACIONADO CON HEPATITIS C.....	121
3.11. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE RIBAVIRINA.....	122
3.12. IMPACTO ECONÓMICO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS C.....	128
3.13. MODELOS PREDICTIVOS DISEÑADOS EN HEPATITIS C.....	129
CAPÍTULO IV: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	135
4.1. HIPÓTESIS.....	136
4.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	139
CAPÍTULO V: METODOLOGÍA.....	141
5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.....	142
5.2. TAMAÑO MUESTRAL.....	145
5.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	146
5.4. PACIENTES Y EVALUACIÓN CLÍNICA-ANALÍTICA.....	148
5.5. VARIABLES DEL ESTUDIO.....	151
5.6. NIVELES DE EXIGENCIA FIBRO-VIROLÓGICA.....	160
5.7. NIVELES DE EXIGENCIA LIPÍDICA.....	164
5.8. ECOGRAFÍA DE ABDOMEN.....	166
5.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	166
5.10. CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	169
5.11. SUBVENCIONES.....	170
5.12. CONFLICTO DE INTERESES.....	171

CAPÍTULO VI: RESULTADOS	172
6.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS BASALES	173
6.2. PERIODO DE SEGUIMIENTO	177
6.3. VARIABLE RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA Y RÁPIDA	178
6.4. VARIABLE RESPUESTA VIROLÓGICA DE LA PRIMERA SEMANA	185
6.5. NIVELES DE EXIGENCIA FIBRO-VIROLÓGICA	193
6.6. NIVELES DE EXIGENCIA LIPÍDICA	199
6.7. METABOLISMO LIPÍDICO FAVORABLE	205
6.8. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE RIBAVIRINA	209
6.9. CONCENTRACIÓN DE RIBAVIRINA, VCM Y PH URINARIO	217
6.10. ANÁLISIS MULTIVARIANTE: CURVA COR Y AUROC	225
6.11. DISEÑO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA	231
6.11.1. SELECCIÓN DE VARIABLES Y PUNTOS DE CORTE.....	233
6.11.2. ASIGNACIÓN DE PUNTUACIONES.....	266
6.11.3. OBTENCIÓN PUNTUACIONES SEGÚN TIPO RESPUESTA.....	269
6.11.4. PODER PREDICTIVO DEL MODELO.....	270
6.11.5. PRIMERA REGLA DE PARADA.....	273
6.11.6. SEGUNDA REGLA DE PARADA.....	273
6.11.7. PROPUESTA DE ALGORITMO TERAPEÚTICO.....	275
6.11.8. CALCULADORA EXCEL PARA TOMA DE DECISIONES.....	280
6.11.9. SOLICITUD DE PATENTE.....	282

6.12. COSTES DIRECTOS GENERADOS POR LA TERAPIA.....	282
6.13. COSTES DE VARIABLES EMPLEADAS EN LA HERRAMIENTA.....	283
6.14. CÁLCULO DEL AHORRO POTENCIAL QUE GENERARÍA.....	284
CAPÍTULO VII: DISCUSIÓN.....	285
7.1. APORTACIONES RELEVANTES DEL ESTUDIO.....	286
7.1.1. CINÉTICA VIRAL DE LA PRIMERA SEMANA DE TERAPIA.....	288
7.1.2. CINÉTICA LIPÍDICA DURANTE EL 1º MES DE TERAPIA.....	292
7.1.3. CORTISOL PLASMÁTICO BASAL: PREDICTOR DE RVS.....	299
7.1.4. AJUSTE DOSIS RIBAVIRINA POR ACLARAMIENTO RENAL.....	300
7.1.5. REGLAS DE PARADA DEL MODELO PREDICTIVO.....	304
7.1.6. BENEFICIO DE BITERAPIA REDUCIDA.....	307
7.1.7. MONITORIZACIÓN DEL VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO.....	308
7.3. VALIDEZ INTERNA Y EXTERNA.....	310
7.4. UTILIDAD CLÍNICA.....	311
7.5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	313
CAPÍTULO VIII: CONCLUSIONES.....	315
CAPÍTULO IX: ANEXOS.....	319

9.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	320
9.2. ÍNDICE DE TABLAS.....	321
9.3. ÍNDICE DE FIGURAS.....	322
CAPÍTULO X: BIBLIOGRAFÍA.....	326

CAPÍTULO I

RESUMEN

CAPÍTULO I: RESUMEN

1.1. RESUMEN

Hasta el 2011 la única terapia disponible para genotipo 1 era la biterapia (interferón pegilado + Ribavirina), momento en que fueron aprobados los primeros antivirales de acción directa (AAD): Boceprevir o Telaprevir en combinación con la biterapia estándar. Éstos han incrementando las tasas de respuesta virológica sostenida y rápida (RVS y RVR): (triple terapia de 1ª generación). Además, durante el 2014 es previsible que sean aprobados otros AAD (triple terapia de 2ª generación): Simeprevir, Sofosbuvir y Faldaprevir, que han conseguido incrementar aún más las tasas de RVS, empleando regímenes más cortos.

La reducción virémica alcanzada tras la administración del interferón es dosis-dependiente y refleja el grado de sensibilidad viral al fármaco, el cual podría ser mejor evaluado, empleando una 1ª dosis de inducción de interferón pegilado. Por otro lado, el metabolismo lipídico juega también un papel relevante, asociándose cifras elevadas de LDL-colesterol basal a mayores tasas de curación. Actualmente la dosis diaria de Ribavirina se establece según el peso. Sin embargo, Lindahl et al remarcó la importancia de realizar el ajuste diario de la dosis de este fármaco en función del aclaramiento de creatinina.

HIPÓTESIS

La asociación de predictores independientes basales de respuesta asociados a factores cinéticos virológicos y lipídicos podrían ser de utilidad en el diseño de escalas predictivas en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1, así como la obtención de reglas de paradas, que podrían ayudar a la toma de decisiones personalizada y costo-eficiente.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Objetivo General

Diseñar una nueva herramienta diagnóstica de ayuda para la toma de decisiones terapéuticas en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1, en base a las puntuaciones obtenidas de aplicar 3 escalas predictivas dotadas de alto valor predictivo positivo y negativo (Escala Basal, Escala Viroológica y Escala Lipídica), que clasificara a nuestros pacientes en bajo, medio y alto riesgo de fracaso terapéutico a la biterapia, en función de las puntuaciones obtenidas, y el diseño de las reglas de paradas en fases muy precoces.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio prospectivo, randomizado, con enmascaramiento a doble

ciego, en el que se analizaron 99 pacientes HCC-1, aleatorizando una 1ª dosis enmascarada de inducción de interferón pegilado alfa-2a (40 KD) de 360 microgramos subcutáneos (Pegasys; Roche, Basel, Suiza) frente a una 1ª dosis estándar de interferón pegilado (180 mcg/sc) subcutánea (sc) + Ribavirina 1000 mg/día (si peso corporal < 75 kg) o Ribavirina 1200 mg/día (si peso \geq 75 kg), seguido a partir de la 2ª semana de biterapia (interferón pegilado 180 mcg/sc/semana + Ribavirina según peso) durante 47 semanas. El objetivo era discriminar mejor aquellos sujetos más sensibles al interferón.

Los pacientes fueron asignados a uno de los 5 Niveles de Exigencia Fibro-virológica (NEF) que diseñamos, según el grado de fibrosis y carga viral basal que tuvieran y seleccionamos el punto de corte para la variable RV1 que mejor predecía la RVS en cada NEF, empleando para ello la curva COR resultante. Si la reducción virémica máxima alcanzada durante la 1ª semana de biterapia (valor RV1) era al menos igual o superior al establecido para dicho NEF, estableceríamos que había sido alcanzada la Respuesta Virológica de la Primera Semana (RVPS), asignándole una puntuación positiva en la Escala Virológica, mientras que si no la había alcanzado obtendría una puntuación negativa.

Se diseñaron también 5 Niveles de Exigencia Lipídicos (NEL), dependiendo del grado de fibrosis, CVB y la variable ratio de infectividad, a los cuales eran asignados. Aquellos sujetos que conseguían mantener una mLDLc al menos igual o superior al punto de corte establecido en dicho NEL, se consideraron habían presentado un Metabolismo Lipídico Favorable (MLF), asignándole una puntuación positiva en la Escala Lipídica, mientras que si no lo conseguía se le puntuaría negativamente.

La comparación entre grupos (presencia de RVS) y (ausencia de RVS) se realizó empleando la t de Student o la U de Mann-Whitney para variables continuas y la χ^2 (Chi-cuadrado) o Test exacto de Fisher para variables categóricas. Se consideraron estadísticamente significativas aquellas variables con valor de p menor de 0.05. Para el cálculo de la odds ratio y su intervalo de confianza (IC) al 95% se empleó un análisis de regresión logística univariante. Posteriormente se realizó un análisis de regresión logística multivariante, para ver qué variables estaban relacionadas estadísticamente con la variable RVS con un nivel de significación < 0.05 . Para la selección de los puntos de corte de las variables basales estadísticamente significativas se empleó la curva COR.

RESULTADOS

Presentaron mayores tasas de curación aquellos que alcanzaron la

respuesta virológica de la 1ª semana y un metabolismo lipídico favorable. La 1ª regla de parada (suma de puntuaciones de Escalas Basal y Cinética) detectó los pacientes más difíciles de curar (candidatos a terapias más potentes), mientras que la 2ª discriminaba si podían curarse sólo con biterapia (suma de las 3 escalas), generando un potencial ahorro económico de 498724 €.

El valor de RV1 (máxima reducción virémica respecto a la carga viral basal, bien al 3º o 7º día de biterapia) fue significativamente mayor en los pacientes que alcanzaron la curación, independientemente que hubiéramos empleado la dosis de inducción: $(-2,06 \pm 0,98 \log_{10} \text{ UI/ml})$ frente $(-0,87 \pm 0,71 \log_{10})$: odds ratio (OR) 5,9; intervalo de confianza 95% (2,9-12,4); $p < 0,0001$.

La Respuesta Virológica de la Primera Semana estuvo presente en el 94,2 % de los respondedores y ausente en el 82,9% de los no-respondedores: OR 79,6; IC 95% (19,7-320,3); $p < 0,0001$, presentando un alto valor predictivo negativo, superior al de la respuesta virológica rápida y/o genotipo de la Interleucina 28b. Alcanzaron mayores tasas de curación aquellos pacientes con fibrosis F3-F4 que presentaron mayores concentraciones basales de LDL- colesterol, así como aquellos que

consiguieron mantener durante el 1º mes de biterapia un ratio de infectividad menor de 3,2 y mayores concentraciones medias de LDL-colesterol: “curados” 100 ± 23 mg/dl versus “no curados”: 89 ± 28 mg/dl; OR 1,1; IC 95% (1,0-1,2); $p < 0,05$, siendo más significativas estas diferencias en los genotipos IL-28B-CC ($p = 0,013$). Aquellos que alcanzaron la RVS presentaron mayores tasas de Metabolismo Lipídico Favorable.

En los pacientes con genotipo CT/TT de la Interleucina-28b, menor grado de fibrosis e inflamación histológica, ausencia de resistencia insulínica, mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de biterapia se asociaron a mayores tasas de curación.

En el análisis multivariante, un pH urinario mayor de 6 al 1º mes y un incremento del volumen corpuscular medio eritrocitario (volumen corpuscular medio mayor de 6 fentolitros) se asociaron de forma estadísticamente significativa a mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina.

CONCLUSIONES

Desarrollamos una herramienta diagnostica costo-eficiente para la toma de decisiones en hepatitis C. La respuesta virológica de la Primera Semana constituye un biomarcador de la sensibilidad viral al interferón,

como predictor independiente de respuesta a la biterapia con elevado valor predictivo negativo.

No todos los pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1 van a presentar durante el 1º mes de terapia una cinética lipídica favorable, siendo necesario para curarse y/o alcanzar un metabolismo lipídico favorable mantener durante este periodo unas concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol mayores. Aquellos con ausencia de un metabolismo lipídico favorable podrían beneficiarse del uso de estatinas.

Los ajustes de la dosis de Ribavirina antes y durante el tratamiento antiviral deberían basarse en la monitorización del volumen corpuscular medio eritrocitario, pH urinario y fórmula de Lindahl.

1.2. SUMMARY

ANALYSIS OF BASELINE CHARACTERISTICS AND VIRO-LIPIDICAL KINETICS DURING THE FIRST WEEKS OF ANTIVIRAL DUAL THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C GENOTYPE 1: DESIGN OF A COST-EFFICIENT PREDICTIVE MODEL TO DETECT VERY EARLY OF PATIENTS WITHOUT SUSTAINED VIROLOGICAL RESPONSE WITH DUAL THERAPY

Until 2011 the only therapeutic regimen for genotype 1 was dual therapy (pegylated interferón + Ribavirin), being approved the use of the first direct antiviral agents (DAA): Boceprevir or Telaprevir combined with dual therapy, increasing the rate of sustained and rapid virological responses (SVR and RVR): (first generation triple therapy). Thus, during 2014 it is possible that other DAA could be approved (Second generation triple therapy): Simeprevir, Sofosbuvir and Faldaprevir, which could increase the rate of SVR, using shorter therapies.

The reduction of viremia obtained after administration of interferon is dose-dependent and show the degree of sensitivity to this drug, which could be evaluated, using a first induction-dose of pegylated interferón in order to observe if the reduction of viremia is higher with a higher dose.

The lipid Metabolism plays an important role, having associated higher levels of LDL-cholesterol with higher rates of SVR. In the other hand, actually the daily dose of Ribavirin is dosage depend on body weight. However, Lindahl informed about the importance of making a daily adjustment of Ribavirin dosage according with Creatinine clearance.

HYPOTHESIS

Use of a combination of independent predictors of SVR associated with viral and lipid kinetics could be useful to design prognostic scales based on scores obtained from patients with chronic hepatitis C genotype 1, allowing to develop futility rules, which could help us in making-decision process in early moments of therapy (personalized and cost-efficient therapy).

AIMS

General Objective

To design a novel diagnostic tool as help for therapeutic making-decision in patients with chronic hepatitis C genotype 1, depending on scores obtained from 3 prognostic scales with high positive and negative predictive value (Baseline Scale, Virologic Scale and Lipid Scale), which would classify to our patients before beginning new antiviral regimens in

patients in subjects with low, medium and high risk of treatment failure to dual therapy (Primary Endpoint).

MATERIAL & METHODS

A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study that included 99 patients CHC genotype 1, who were randomized to receive a first induction-dose (FID) of pegylated interferon alfa-2a (40 KD) (360 micrograms/subcutaneous) (Pegasys; Roche, Basel, Switzerland) against a first standard dose of pegylated interferon (180 micrograms/subcutaneous) plus ribavirin (1000 mg/day, if body weight < 75 kg, or ribavirin 1200 mg/day if body weight \geq 75 kg), followed, after the second week, by standard bitherapy (pegylated Interferon 180 mcg/sc/week + ribavirin (weight-based), during 47 weeks more.

We considered that in order for them to achieve SVR they would need a higher maximum reduction of viral load within the first week of bitherapy (VR1 value), whether at the third or seventh day, than individuals with a lower degree of fibrosis (METAVIR F0–F3) and/or lower BVL. Once patients were assigned their LFVR, we would determine that First

Week Virological Response (FWVR) was achieved if the level of maximum reduction of viral load achieved during the first week of bitherapy (VR1 value) was equal or higher than the previously assigned LFVR.

We designed 5 Levels of Lipid Exigency, depending on the degree of liver fibrosis, baseline viremia and the value of infectivity ratio, being our patients assigned to them. We selected different cutoff points for mLDLc variable in each Level of Lipid Exigency, using the COR curve, establishing that those subjects who achieve at least the value of mLDLc variable established in that level, had a favorable lipid metabolism, and obtaining a positive score in Lipid Scale, being negative if this value was not achieved. The comparison between the groups (presence of SVR) and (absence of SVR) was performed using the Student T test, or U Mann-Whitney test for continuous variables; χ^2 (Chi square), or Fisher's exact test was used for categorical variables. Those variables with a p value < 0.05 were considered statistically significant. Odds ratio and 95% Confidence Interval (CI) were calculated by univariate logistic regression analysis. Box-plox and scatter diagram were used. Later, a

multivariate logistic regression analysis was performed in order to determine which variables were statistically related to "FWVR" variable, with a significance level < 0.05 .

RESULTS

Subjects who reached the First Week Virological Response and a Favorable Lipid Metabolism achieved higher rates of SVR. The first futility rule (total score obtained in Baseline Scale + Virologic Scale) allowed us to detect those patients with lower possibilities of achieving SVR (candidates to therapies with higher efficacy). The second futility rule defined if a patient could be cured only with dual therapy (total score of three scales), generating a potential saving cost of 498724 €.

The value of VR1 was statistically higher in patients with SVR, without taking in consideration whether a FID was given or not: ($-2.06 \pm 0.98 \log_{10}$ UI/ml) versus ($-0.87 \pm 0.71 \log_{10}$ UI/ml): odds ratio (OR) 5.9; 95% confidence interval (IC) (2.9–12.4); $p < 0.0001$. First Week Virological Response was achieved in 94.2% of patients with SVR, not being observed in 82.9% of patients with absence of SVR: OR 79.6; 95% CI (19.7–320.3); $p < 0.0001$; it showed a higher negative predictive value than the RVR or IL-28B ones.

Patients with liver fibrosis F3-F4 who had higher baseline levels of LDL-cholesterol achieved higher rates of SVR. Those patients who had a lower value of infectivity ratio and median levels of LDL-cholesterol during the first month of bitherapy achieved higher rates of SVR too: “SVR group” 100 ± 23 mg/dl against “absent of SVR”: 89 ± 28 mg/dl; OR 1.1; CI 95% (1.0-1.2); $p < 0.05$, being these differences more significant in genotype IL-28B-CC ($p = 0.013$). Patients with SVR had higher rates of FLM.

In subjects with CT/TT IL-28B genotype, lower degree of liver fibrosis and histologic inflammation, absent of insulin resistance, higher plasma concentration of Ribavirin at the first month of dual therapy were associated with higher rates of SVR. In multivariate analysis, urinary pH higher than 6 at the first month and an increasement of erythrocyte median corpuscular volume higher than 6 fentolitres were found associated statistically with higher plasma concentration of Ribavirina.

CONCLUSIONS

We developed a cost-efficient diagnostic tool for making-decision in chronic hepatitis C. First Week Virological Response is a biomarker of interferón-sensitivity as an independent predictor of response to dual

therapy with a high negative predictive value.

All patients did not have the same lipid kinetics during the first month of dual therapy, being necessary to achieve a favorable lipid Metabolism and/or achieve SVR to keep higher plasma median concentration of LDL-cholesterol during this period. Those subjects with absent of favorable lipid metabolism could benefit from use of statins.

The adjustment of the daily dose of Ribavirin before and during antiviral therapy should be monitoring the erythrocyte median corpuscular volume, urinary pH and Lindahl's formula.

CAPÍTULO II

GLOSARIO

CAPÍTULO II: GLOSARIO

AAD	Antivirales de acción directa
ABC	Área bajo la curva
Acla. Riba	Aclaramiento de Ribavirina
ACr	Aclaramiento de Creatinina
ADN	Ácido desoxinucleico
ADNc	Ácido desoxinucleico complementario
AFP	Alfafetoproteína
ALT	Alanino transferasa
AMA	Anticuerpo antimitocondrial
ANA	Anticuerpos antinuclear
Anti-LKM	Anticuerpo anti-hepático y anti-riñón
Anti-SMA	Anticuerpo anti-músculo liso
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Adenosin trifosfato
AST	Aspartato transferasa
AVE	Aclaramiento viral espontáneo
AUROC	Área bajo la curva
BOJA	Boletín Oficial de la Junta de Andalucía
Bt	Bilirrubina total
BVL	Baseline viral load
CEA	Antígeno carcinoembrionario
CI	Confidence interval
CLDN-1	Co-receptor Claudina 1
Cm	Centímetro
CrCl	Aclaramiento de Creatinina
IL-28B-CC	Genotipo favorable de la Interleucina 28B
Cr	Creatinina
CT/TT-IL-28B	Genotipo desfavorable de la Interleucina 28B
CVB	Carga viral basal
C _{valle}	Concentración valle

dl	Decilitro
DAA	Direct antiviral agent
DE	Desviación estándar
DODR	Dosis óptima diaria de Ribavirina
DPPI	Derivación percutánea intrahepática portosistémica
ECG	Electrocardiograma
EDTA	Ácido Etilendiaminotetracético
EIA	Enzimoimmunoensayo
EMA	Agencia Europea del Medicamento
eRVR	Respuesta virológica rápida extendida
€	Euro
FDA	Food and Drug Administration
FL	Fórmula de Lindahl
fl	Fentolitro
FS	FibroScan
FWVR	First Week Virological Response
g/dl	Gramo/decilitro
GGT	Gammaglutamil transpeptidasa
GWAS	Estudios de asociación genómica
h	Hora
Hb	Hemoglobina
HCC	Hepatitis crónica C
HCC-1	Hepatitis crónica C genotipo 1
HCG	Hormona coriagonadotropínica
HDL-c	Lipoproteínas de colesterol de alta densidad
Hg	Mercurio
HOMA-IR	Homeostasis model of assesment of insulin resistance
HPLC	High-performance liquid chromatography
HVR1	Región hipervariable 1
HVR2	Región hipervariable 2
Hz	Herzio
IC	Intervalo de confianza
IDL	Lipoproteína de densidad intermedia

Ig	Inmunoglobulina
IL-28B	Polimorfismo genético de la Interleucina-28b
IMC	Índice de masa corporal
IP	Inhibidores de la proteasa
ISDR	Interferon sensitive determining región
ISGF3	Factor 3 de estimulación de los genes del interferón
ISRE	Elementos de respuesta a la estimulación por el interferón
KD	Kilodalton
Kg	Kilogramo
KPa	Kilopascales
LDL-c	Lipoproteínas de colesterol de baja densidad
LDLr	Receptor de la lipoproteína de baja densidad
Ln	Logaritmo neperiano
LPL	Lipoprotein lipasa
log ₁₀	Logaritmo decimal
m	Metro
mcg	Microgramos
m ²	Metro cuadrado
MELD	Model for End-stage Liver Disease
mg/dl	Miligramo/decilitro
MHz	Megaherzio
mL	Mililitro
mLDLc	Concentración plasmática media de LDL durante 1º mes
mm	Milímetro
MLF	Metabolismo Lipídico Favorable
MxA	Proteína de resistencia a Myxovirus
NEF	Nivel de Exigencia Fibro-virológica
NEL	Nivel de Exigencia Lipídica
NNT	Número necesario a tratar
NS	Non-structural
OAS	2',5'-oligoadenilato sintetasa
OCLN-1	Occuldina
OMS	Organización Mundial de la Salud

OR	Odds Ratio
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDI	Primera dosis de inducción
PD-1.3	Programmed cell-1.3
PegIFN	Interferón pegilado
Pg	Picogramo
RBV	Ribavirina
RNA	Ácido ribonucleico
RI	Ratio de infectividad
RIBA	Recombinant Immunoblot Assay
rpm	Revoluciones por minuto
RVFT	Respuesta virológica de final de tratamiento
RVL	Respondedor virológico lento
RVP	Respuesta virológica precoz
RVPc	Respuesta virológica precoz completa
RVPS	Respuesta Viroológica de la 1ª semana
RVR	Respuesta virológica rápida
RVS	Respuesta Viroológica Sostenida
RV1	Máxima reducción virémica al 3º o 7º día de biterapia antiviral
Rx	Radiografía
sc	Subcutáneo
SOD	Superóxido dismutasa
SR-BI	Receptor Scavenger B1
SVR	Sustained virological response
TGF-beta	Factor transformador de crecimiento beta
TNF	Factor de necrosis tumoral
TSH	Hormona estimulante del tiroides
UI	Unidades Internacionales
VCM	Volumen corpuscular medio
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
VHB	Virus de la hepatitis B
VHC	Virus de hepatitis C
VLDL	Very low density lipoprotein o de muy baja densidad
VPN	Valor predictivo negativo
VPP	Valor predictivo positivo

CAPÍTULO III

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO III: INTRODUCCIÓN

La infección por el virus de la hepatitis C es un problema sanitario de primera magnitud con una prevalencia en nuestro país en torno al 3%. Actualmente se encuentran infectados por este patógeno aproximadamente 170 millones de personas en todo el mundo, siendo responsable de complicaciones como la cirrosis hepática y sus descompensaciones (hemorragia digestiva variceal, ascitis, peritonitis bacteriana espontánea y encefalopatía hepática), así como del desarrollo de hepatocarcinoma, siendo además la causa más frecuente de indicación de trasplante hepático ¹.

Se estima que más de un millón de estos pacientes que se encuentran infectados por el VHC morirán como consecuencia de complicaciones relacionadas directamente con la hepatitis crónica viral, principalmente como consecuencia del desarrollo de hepatocarcinoma, con especial incidencia en África, Oriente Medio y Asia. Por lo tanto, el impacto socio-económico que generarán las complicaciones relacionadas con las hepatitis crónicas virales va a suponer un aspecto crucial a tener en cuenta en la planificación futura de los servicios sanitarios. La morbilidad y mortalidad de estos pacientes se ha demostrado que se reduce con la erradicación viral

².

3.1. HISTORIA NATURAL DE LA INFECCIÓN POR EL VHC

Una vez que el VHC ha infectado a un individuo, el virus se replicará preferentemente en el hepatocito, aunque su infectividad se va a extender a otras células extrahepáticas como son linfocitos, monocitos, células dendríticas y granulocitos ³. El VHC generalmente produce una progresión lenta de enfermedad hepática y se estima que en torno al 20-30% de los individuos infectados desarrollarán una cirrosis hepática en un periodo de 20-30 años, muchos de los cuales desarrollarán un fallo hepático o un hepatocarcinoma ^{4,5}. Actualmente se sabe que existe un 33% de enfermos que desarrollarán cirrosis en menos de 20 años (actividad fibrótica alta), mientras que otro 31% de los enfermos necesitarán 50 años o más en desarrollar la misma lesión (actividad fibrótica lenta).

Cuando un paciente sufre una hepatitis aguda por VHC, sólo un 10-15% presentarán síntomas clínicos como ictericia, epigatralgia o náusea. La mayoría se encontrarán asintomáticos y la infección pasará desapercibida. Entre un 15-50% de los pacientes con una infección aguda por el VHC presentarán un aclaramiento viral espontáneo en los 6 meses siguientes ⁶. El resto de los pacientes desarrollarán una infección crónica

por el VHC, la cual se suele presentar de forma asintomática y se detecta por elevación intermitente de enzimas hepáticas. La mayoría de los pacientes no desarrollan síntomas hasta que presentan las complicaciones de la cirrosis o un hepatocarcinoma.

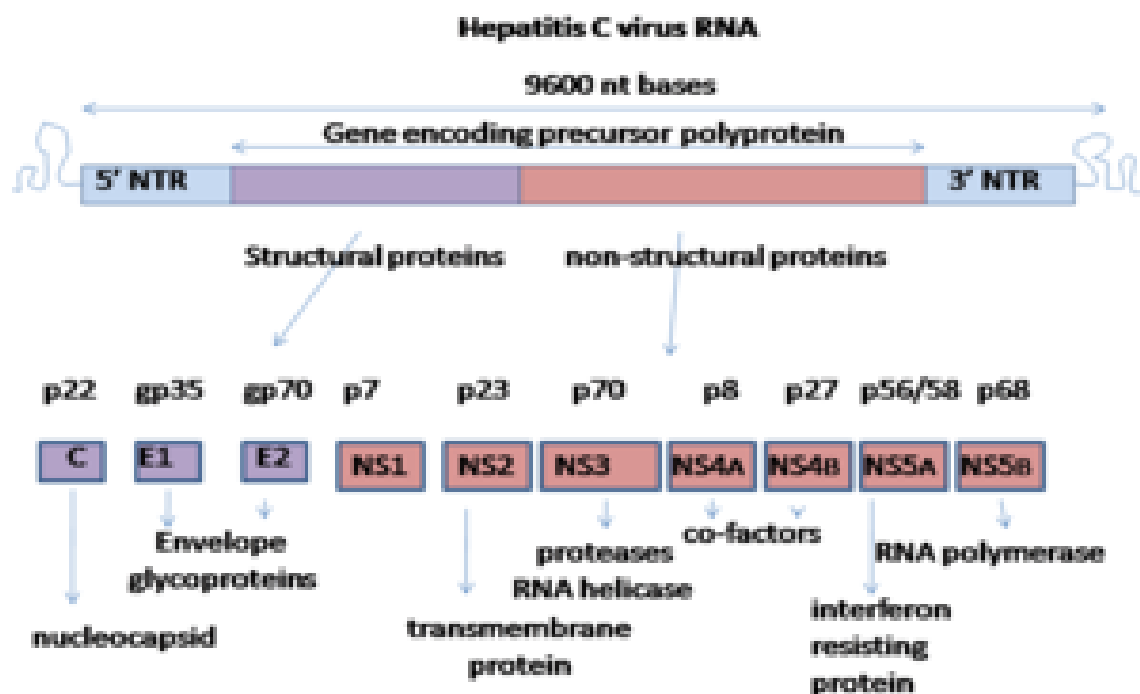
Síntomas como náusea, astenia, artralgias, mialgias, parestesias y prurito son síntomas que en ocasiones se presentan en estados avanzados de enfermedad hepática. Otras manifestaciones de debut clínico de la infección son la crioglobulinemia mixta esencial⁷, la porfiria cutánea tarda, una glomerulonefritis membranosa, síndrome de Sicca o tiroiditis^{8,9}.

3.2. VIROLOGÍA EN LA HEPATITIS C

A partir del 1970 se comenzó a sospechar la presencia de un nuevo virus distinto al de la hepatitis A o B, que se asociaba a casos de hepatitis asociado a transfusiones¹⁰. No fue hasta el año 1989 cuando tuvo lugar el descubrimiento del virus no-A, no-B por Choo, quien le dio el nombre de virus de la hepatitis C¹¹. Posteriormente fue clasificado dentro de la familia Flaviviridae. El VHC es un patógeno con un diámetro de 50 nm¹². Éste se asocia a las lipoproteínas de colesterol de baja densidad (LDL-c)¹³, las cuales facilitan la entrada viral al hepatocito mediante endocitosis.

El VHC es un virus ARN constituido por una cadena lineal de sentido positivo que tiene una longitud aproximada de 9500 nucleótidos, que se replica en su totalidad en el citoplasma celular. Su precursor es una poliproteína de aproximadamente 3000 aminoácidos, que son procesados en al menos 10 polipépticos diferentes (figura 1).

Figura 1. Estructura del genoma del virus de la hepatitis C.



NS (non-estructural); ARN (ácido ribonucleico); nt (nucleótidos); gp (glicoproteínas); gene encoding precursor polyprotein (genes codificantes precursores de poliproteínas); nucleocapsid (nucleocápside); envelope glycoproteins (glicoproteínas de la envuelta); transmembrane protein (proteína transmembrana).

Fuente: http://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C_virus

El VHC entra en el hepatocito interactuando con 4 co-receptores

celulares: CD81, receptor Scavenger B1 (SR-B1), claudina 1 (CLDN-1) y Occuldina (OCLN-1), precisando además la interacción con el receptor de Lipoproteínas del colesterol de baja densidad (LDL-c) y glucosaminoglicanos.

La entrada viral inicialmente tiene lugar gracias a la formación de un complejo lipoviropartículas-SRB1-CD81, con la participación de CLDN-1 y OCLN, que permite la endocitosis y fusión pH-dependiente de la partícula viral. El procesamiento de esta poliproteína está mediada por una enzima peptidasa del huésped y dos serina-proteasas virales, codificadas por las regiones NS2-3 y NS3-4A. Las proteínas del core (C, 16-21 KD) y de la envoltura (E1, 31-37 KD; E2, 61-72 KD) representan las proteínas estructurales.

Las regiones llamadas hipervariables (HVR1 y HVR2) están contenidas en E2, siendo las responsables de la variedad genómica del VHC. De las regiones no estructurales (NS), la NS3 es la más conocida, contiene una serina-proteasa y da origen a una ARN-helicasa, ambas fundamentales para la replicación viral. Las restantes son denominadas NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B¹⁴. La proteína no estructural 2 (NS2) cataliza la unión a nivel de unión NS2-3. NS3 y NS4 constituyen

una proteasa que escinde el resto de proteínas no estructurales procedente del complejo poliproteico.

NS3 también posee una actividad helicasa trifosfato nucleósido esencial para la replicación viral. NS4B es una proteína altamente hidrofóbica que induce la proliferación de un Retículo endoplasmático facilitador de la replicación viral. NS5A es una proteína multifuncional unida al ARN, ejerciendo un papel modulador de la producción viral.

La NS5B es una ARN polimerasa viral RNA-dependiente, que cataliza la acumulación de cadenas de ARN positivas a partir de cadenas negativas intermediarias. Las proteínas E2 y NS5A parecen modular la respuesta al interferón¹⁵⁻¹⁸. La proteína E2 interactúa con la proteína E1, dando lugar al complejo proteico de la envoltura viral.

La secuencia aminoacídica 1-27 de la región N-terminal de la proteína E2 es extremadamente variable y se conoce como región hipervariable 1 (HVR1). La heterogeneidad de esta región depende de la presión inmunológica selectiva inducida por el sistema inmune del huésped. La región hipervariable 2 (HVR2) es menos conocida. La proteína NS5A juega un papel muy importante en la replicación viral mediada por una ARN polimerasa- ARN dependiente. Las mutaciones en

esta región puede incrementar la respuesta al interferón ^{19,20}. Esta región se ha denominado IFN sensitive determining región (ISDR). La proteína NS5A se asociado a resistencia a los efectos del interferón al inhibir la proteína kinasa inducida por el interferón ²¹.

El ensamblaje de los viriones infectivos tiene lugar en forma de vesículas lipídicas (lipid droplets), permitiendo su acúmulo hepatocitario, así como su secreción en forma de lipovirionpartículas (lipoproteínas de muy baja densidad, VLDL), las cuales para su ensamblamiento precisan de las proteínas p7, NS2, NS3 y NS5A.

La interacción existente entre las proteínas E2 y/o NS5A es empleadas por el VHC para evitar los efectos antivirales del interferón. Otro mecanismo de resistencia frente al interferón lo constituye la NS3/4A serán-proteasa, siendo responsable del bloqueo de la fosforilación y acción del factor 3 regulador del interferón, elemento clave en la regulación del sistema de señalización antiviral celular ²².

Existen 6 genotipos. Los genotipos 1a y 1b predominan en Europa y América, seguidos por los genotipos 2b y 3a ²³. El genotipo 1 también predomina en Japón y en algunas regiones asiáticas, mientras que el genotipo viral 4 predomina en Egipto y África Central ²⁴, el genotipo 5 en Sudáfrica.

El genotipo 6 fundamentalmente en el Sureste Asiático. Dentro de cada genotipo viral existen variantes genéticas llamadas cuasiespecies, que permiten al virus evadir mejor el sistema inmunológico humoral y celular del huésped.

3.3. DIAGNÓSTICO DE HEPATITIS C

El diagnóstico tanto de la infección aguda como crónica por el VHC se basa en la detección de anticuerpos frente al VHC, así como la detección del ARN del VHC mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Para el diagnóstico de la enfermedad hepática que produce el VHC se debe iniciar la historia clínica con una anamnesis y exploración física cuidadosas.

Se investigarán: a) los factores de riesgo del paciente; b) los factores que pueden agravar la enfermedad hepática por el VHC, como el síndrome metabólico, la diabetes, el alcoholismo, la medicación hepatotóxica y la inmunodeficiencia; c) signos y síntomas de la enfermedad hepática y de manifestaciones extrahepáticas que puedan estar asociados a la infección por el VHC; d) signos y síntomas de otras enfermedades hepáticas que

podría estar asociadas (hemocromatosis, porfiria cutánea tarda, enfermedades autoinmunes...) y enfermedades que puedan contraindicar el tratamiento antiviral de la hepatitis C, como las psiquiátricas.

El test anti-VHC se emplea como test de screening mediante métodos de enzimoimmunoensayo (EIA), basado en la detección de anticuerpos frente a diferentes epítomos virales recombinantes. En áreas poblacionales con baja prevalencia de la infección por VHC este test normalmente es confirmado con otras técnicas complementarias. Los anticuerpos anti-VHC suelen detectarse a las 6-12 semanas de la infección inicial, coincidiendo con la elevación de las enzimas hepáticas en más del 80% de los casos.

En cuanto a sus diferentes especificidades, los primeros en detectarse son los anticuerpos frente a la proteína NS3 (en torno a las 6 semanas), seguidos, en primer lugar, de los anticuerpos frente al antígeno del *core* (a las 10 semanas); posteriormente se detectan anticuerpos frente a la proteína NS4 y, finalmente, los anticuerpos anti-NS5 (a las 12 semanas).

El ARN circulante puede detectarse en las dos semanas posteriores a la exposición, alcanzando un nivel máximo antes de que aparezcan los signos biológicos de hepatitis aguda. En algunos casos, el ARN del VHC

puede ser indetectable durante la fase aguda, reapareciendo posteriormente y estableciendo una infección persistente.

Durante la hepatitis crónica, las cifras de ARN del VHC son muy estables. El antígeno del *core* del VHC se puede detectar de uno a dos días después de la detección del ARN del VHC.

El test de confirmación más frecuentemente usado es el ensayo de inmunoblot recombinante (RIBA del inglés Recombinant Immunoblot Assay, Chiron Corporation, Emeryville, CA). El test RIBA contiene los mismos antígenos del VHC que el test EIA, dispuestos separadamente sobre una tira junto con superóxido dismutasa (SOD) para detectar anticuerpos no específicos frente a proteínas de levadura (los antígenos recombinantes del VHC se obtienen típicamente usando levadura como vector).

Para definir si se trata de una infección resuelta o se trata de una infección crónica por el VHC se emplea un test de PCR para la detección cualitativa del RNA-VHC. La detección del ARN del virus se realiza mediante pruebas de amplificación genómica (RT-PCR u otras)²⁵⁻²⁷ y ofrece una medida de la viremia activa. Su positividad indica presencia de virus circulante y confirma infección en curso, aguda o crónica. Su

negatividad en una muestra puntual no descarta la infección crónica, ya que la viremia es, en ocasiones, intermitente.

Su determinación puede ser cualitativa o cuantitativa. Se han desarrollado algunos sistemas que permiten realizar una cuantificación aproximada de la viremia (carga vírica) y existe un estándar internacional de ARN del VHC, cuantificado en Unidades Internacionales (UI/ml), que actualmente ha unificado los criterios de exposición de resultados entre los diferentes sistemas ²⁸.

Los ensayos actuales de cuantificación del ARN del VHC se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real o la amplificación mediada por transcripción. La disponibilidad de estos ensayos difiere en todo el mundo. Estos ensayos cuantitativos puede detectar el ARN del VHC con un límite inferior de detección de 10 UI/ml y superior de hasta 10^7 UI/ml, lo que garantiza resultados fiables para casi todas las situaciones clínicas encontradas en la práctica común.

La detección del ARN del VHC requiere el uso de técnicas moleculares para su amplificación. Estas técnicas consisten en la síntesis de numerosas copias (amplicones) de un fragmento del genoma viral (habitualmente de la región 5NC) mediante una reacción enzimática cíclica

que puede ser de dos tipos: la amplificación por PCR tras la retrotranscripción del ARN a ADN, generando amplicones de ADN de doble cadena, y la “amplificación isotérmica mediada por transcripción” (TMA), en la que las copias del genoma son moléculas de ARN de cadena simple.

En ambos casos, la identificación del producto amplificado se basa en su hibridación con oligonucleótidos sintéticos fijados a una fase sólida, seguida de la detección de los híbridos mediante una reacción enzimática sobre un sustrato colorimétrico o luminiscente. La determinación de ARN viral circulante puede ser cualitativa o cuantitativa (número de copias virales expresado en unidades internacionales).

Recientemente, se han desarrollado técnicas de PCR “en tiempo real” basadas en la detección de los amplicones al inicio de la fase exponencial de la reacción de PCR en lugar de al final de la misma ²⁹. Para ello, se emplean sondas marcadas con fluorocromos que emiten una señal fluorescente al degradarse la sonda por la acción exonucleasa de la propia ADN polimerasa termoestable utilizada para la reacción de PCR. De esta manera, puede detectarse el inicio de la fase exponencial.

Estas técnicas son mucho más sensibles, ya que presentan un rango

dinámico de cuantificación (rango de cifras de ARN en el que la cuantificación es fiable) mucho más amplio, que las hace especialmente útiles para la monitorización del tratamiento antiviral.

Los resultados de estos métodos se expresan actualmente en unidades internacionales por mililitro (UI/ml), de acuerdo con un patrón establecido por la OMS. Los límites inferiores de detección de las diversas técnicas oscilan entre 20 UI/ml (técnicas de PCR a tiempo real como *COBAS Ampliprep/COBAS Taqman* de Roche y *Abbott Real-time HCV Assay*) y 600 UI/ml (técnicas basadas en la amplificación de señal tras hibridación, como *bDNA-Versant HCV RNA 3.0* de Siemens). Los límites superiores de detección oscilan entre 10^7 UI/ml (*Versant HCV RNA*) y 108 (técnicas de PCR a tiempo real)³⁰.

Se consideran sensibles aquellas capaces de detectar 50 UI/ml o más. La especificidad de las técnicas es del 98%-99% y es generalmente independiente del genotipo. En cualquier caso, variaciones inferiores a 0,5 logaritmos no deben tenerse en cuenta, ya que pueden corresponder a la variabilidad intrínseca del método. La cuantificación de ARN puede hacerse tanto en suero como en plasma, siempre que éste no contenga

heparina. Las recomendaciones de los consensos internacionales indican que deben utilizarse técnicas que permitan la detección de cifras por encima de 50 UI/ml. A pesar de utilizarse estándares primarios de la OMS para la calibración, se observan diferencias significativas al procesar la misma muestra por diferentes ensayos, por lo que es recomendable la utilización de la misma técnica para valorar el ARN del VHC durante la monitorización del tratamiento.

En la práctica clínica, el genotipo puede determinarse mediante métodos comerciales basados en la secuenciación de la región 5NC (*Trugene 5' NC HCV Genotyping Kit, Siemens*) o en la hibridación inversa del producto amplificado de la misma región con sondas genotipo-específicas, fijadas a un soporte de nitrocelulosa (*Inno-LiPA HCV II, de Immunogenetics*)³¹.

Ambos métodos permiten detectar correctamente los 6 genotipos principales, aunque no siempre logran identificar todos los subtipos, lo que carece de relevancia práctica en la decisión terapéutica. El genotipo también puede identificarse mediante enzimo-inmunoanálisis competitivo basado en la detección de anticuerpos genotipo-específicos frente a

epítomos de la región NS4 o *core*. Constituyen pruebas que pueden llegar a permitir la discriminación entre los diferentes subtipos ^{32,33}.

La ecografía abdominal es un procedimiento de uso habitual en el estudio de estos pacientes, pues permite identificar signos de cirrosis (contornos abollonados hepáticos, dilatación de la vena porta, esplenomegalia, ascitis, en el contexto de hipertensión portal, presencia de colaterales en el contexto de hipertensión portal, presencia de colaterales intraabdominales, así como la presencia de lesiones ocupantes de espacio, destacando la detección de hepatocarcinoma.

La biopsia hepática ha sido considerada el método de referencia para evaluar la gravedad de la lesión hepática, puesto que permite detectar y cuantificar el estadio de fibrosis hepática y establecer el grado de actividad necro-inflamatoria acompañante ³⁴. Además, las lesiones histológicas orientan sobre otras causas coincidentes de lesión hepática. Sin embargo, la biopsia hepática es una prueba cruenta, con posibles complicaciones, y tiene limitaciones diagnósticas, como el error de muestra su reducido tamaño y la variabilidad en la interpretación de dicha muestra, ya que la valoración anatomopatológica es subjetiva.

El diagnóstico de cirrosis hace que se deba establecerse un programa de cribado de carcinoma hepatocelular con ecografía de abdomen cada 6 meses y de varices esofagogástricas con endoscopia oral cada 2-3 años, especialmente en estadio B y C de Child-Pugh, así como una vigilancia del desarrollo de descompensación hepática. Los sistemas de puntuación de los hallazgos anatomopatológicos en la biopsia hepática más importantes son el índice de Knodell, índice de Ishak y el sistema METAVIR, siendo este último el que empleamos para nuestro estudio y cuyas características se exponen a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Escala de fibrosis Metavir: asignación de puntuaciones en función de la histología.

Necrosis en sacabocado	+ Necrosis lobulillar	= Índice de actividad histológica
0 (ninguna)	0 (ninguna o leve)	0 (ninguna o leve)
0	1 (moderado)	1 (leve)
0	2 (intenso)	2 (moderado)
1 (leve)	0,1	1
1	2	2
2 (moderado)	0,1	2
2	2	3 (intenso)
3 (intenso)	0, 1, 2	3
Fibrosis		
Grado		
0	Sin fibrosis	
1	Ensanchamiento portal con aspecto estelar sin formación de septos	
2	Ensanchamiento portal con aspecto estelar con formación ocasionales de septos	
3	Numerosos septos sin cirrosis	
4	Cirrosis	

Fuente: Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group Hepatology. 1996; 24(2): 289-93.

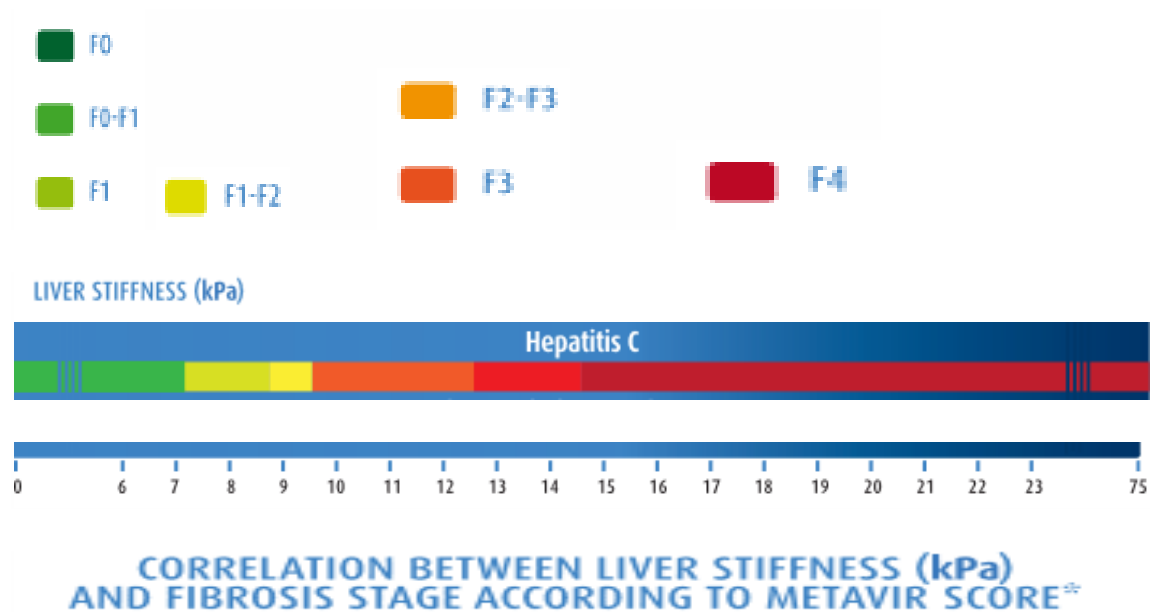
Entre los nuevos métodos de evaluación no cruenta de la fibrosis hepática, la técnica de Elastografía unidimensional y, más concretamente, la tecnología FibroScan (FS) (Echosens, París, Francia) se ha revelado como un método sencillo, inocuo, rápido y objetivo para la cuantificación de la fibrosis. El sistema está compuesto por un transductor de ultrasonidos acoplado sobre el eje de un vibrador, un sistema electrónico de análisis diseñado específicamente para esa aplicación y una unidad de control instalada en un orden personal.

El elemento vibrador genera una vibración (típicamente 50 Hz) de baja frecuencia y amplitud que provoca una onda elástica de propagación a través de los tejidos. Las señales de ultrasonido (5 MHz), permiten determinar la propagación y velocidad de la onda elástica relacionándola directamente con la elasticidad tisular: a mayor velocidad de propagación, menor elasticidad del tejido.

Todas las mediciones del FibroScan se realizan sobre el lóbulo hepático derecho a través del espacio intercostal, mientras que el paciente permanece en decúbito supino con el brazo derecho en posición de abducción máxima. Las mediciones abarcan una porción hepática de al menos 6 cm de grosor sin grandes estructuras vasculares y mide la

elasticidad hepática de un cilindro de aproximadamente 1 cm de diámetro por 2 cm de longitud, que es 100 veces mayor que la muestra obtenida habitualmente por punción-biopsia y, por tanto, más representativa de la totalidad del parénquima hepático ³⁴. Los mejores resultados del FibroScan se han obtenido para discriminar los grados avanzados de fibrosis (F3-F4) frente a estadios iniciales (F0-F1): ver figura 2.

Figura 2. Estadaje de la fibrosis mediante Fibroscan.



F0 (ausencia de fibrosis); F0-F1 (fibrosis mínima); F2 (estadio F2); F3 (fibrosis significativa en puentes); F4 (fibrosis avanzada o cirrosis hepática).

Fuente: <http://www.echosens.com/es/Products/fibroscanr-402.html>

3.4. EPIDEMIOLOGÍA Y VÍAS DE TRANSMISIÓN DE LA HEPATITIS C

Aproximadamente un 3% de la población mundial está infectada con el virus de la hepatitis C (VHC) estimando un número total de 170 millones de personas. Para todos estos tipos de virus, la mayor prevalencia se da en la población de Asia, África, Sur América y el Este, Centro y Sur de Europa. En Estados Unidos, la enfermedad hepática crónica y la cirrosis son la 12^a causa más importante de muerte entre los adultos y las muertes por cirrosis se prevé que incrementen un 360% para el 2028 debido a los casos desarrollados a partir de infección crónica por hepatitis C ¹.

La incidencia de carcinoma hepatocelular o cáncer se ha doblado en los últimos 20 años y se espera que incremente otro 68% a lo largo de la próxima década a partir de cánceres desarrollados en individuos infectados por hepatitis C. Se estima que 3,9 millones de estadounidenses han sido infectados por el VHC y que 2,7 millones de personas tienen infección crónica. Existe una amplia variación geográfica en la prevalencia de esta infección. En el norte de Europa, se estima que la prevalencia es del 0,3 % y en el sur de Europa y América del Norte entre el 1-1,5 %, mientras que en África del norte y el centro de más de un 10% ³⁵.

Las transfusiones de sangre y el uso de drogas por vía intravenosa

han sido los modos predominantes para la transmisión de infecciones por VHC en el mundo occidental. Después de 1990, cuando apareció la primera generación de pruebas de detección viral, fue introducida la detección obligatoria de los donantes de sangre. En la actualidad, el uso de drogas por vía intravenosa es la vía principal para transmisión del VHC en el mundo occidental.

La transmisión nosocomial también se ha documentado. El riesgo de transmisión perinatal del VHC de la madre infectada al recién nacido se estima que es inferior al 5 %, y el riesgo de transmisión sexual aún más bajo. La acupuntura y los tatuajes son potenciales vías de transmisión del virus.

3.5. TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS CRÓNICA POR EL VIRUS C

El objetivo del tratamiento antiviral en la hepatitis crónica por VHC es detener la progresión hacia estadios avanzados de la enfermedad hepática, erradicando el virus y así, disminuir el riesgo de hepatocarcinoma. Los primeros ensayos terapéuticos se basaron en el

empleo de interferón estándar administrado por vía subcutánea (sc) a una dosis de 3 MU tres veces por semana en combinación con Ribavirina por vía oral a una dosis de 1000 -1200 mg/día, dependiendo del peso corporal del paciente ³⁶⁻³⁸. La duración del tratamiento fue de 24 semanas para pacientes infectados con el genotipo no-1 (genotipo 2 o 3) y para el genotipo 1 una viremia basal menor de 1.2×10^6 UI / mL, mientras que la duración fue de 48 semanas en pacientes infectados con genotipo 1 y una viremia basal mayor a ese punto de corte ^{37,38}.

El interferón alfa es una glicoproteína con actividad antiviral, antiproliferativa e inmunomoduladora. La actividad antiviral se debe a la inducción de enzimas celulares que interfieren en la síntesis de proteínas virales. La mayoría de los interferones inhibe la transcripción y translocación del ARN viral, potenciando la acción del sistema inmune celular. Después de unirse a los receptores específicos tipo I, el interferón alfa activa diferentes rutas metabólicas de traducción de señal.

La acción antiviral está mediada a través de proteínas cinasas dependientes de ARN de doble cadena. La proteína cinasa activada es responsable de la fosforilación del factor de iniciación para la síntesis proteica IF2, cuya función principal es la de transportar el complejo formil

metionina al ARN mensajero (ARNm-Met) a la subunidad 40S de los ribosomas para iniciar la translación. La fosforilación del IF2 además inhibe la translación. El interferón alfa al unirse a su receptor celular formado por 2 subunidades (IFNAR1 e IFNAR2), lo que conduce a la dimerización de IFNAR1 e IFNAR2 y la activación (fosforilación) de las tirosinas cinasas asociadas al receptor del interferón alfa, que son las JAK1 y Tyk2.

Una vez activadas, JAK1 y TyK2 fosforilan IFNAR1 e IFNAR2, lo que permite la unión de señales de transducción y activación de factores de transcripción como STAT1 y STAT2 al receptor del interferón alfa y posterior fosforilación por JAK1 o TyK2. STAT1 y STAT2 activados son liberados al citosol, donde forman heterodímeros y se unen al factor regulador del interferón 9 (IFN9), para formar un factor de transcripción conocido como factor 3 de estimulación de los genes del interferón (ISGF3)³⁹.

Este complejo es trasladado al núcleo, donde se une a los elementos de respuesta a la estimulación por el interferón (ISRE), que inician la transcripción de los genes estimulados por el interferón (ISGs) Además la

proteína cinasa modula la transcripción, activando el factor nuclear kB mediante la fosforilación del factor de inhibición I kB.

Algunas de las proteínas con actividad antiviral derivadas de la transcripción de los ISGs son la proteína cinasa dependiente del ARN (PKR), la proteína de resistencia a Myxovirus (MxA) y la 2',5'-oligoadenilato sintetasa (OAS). Además estimula la degradación del RNA ribosómico, lo que permite la inhibición de proteínas virales. El interferón también afecta el metabolismo de las proteínas Mx, que interfieren en la transcripción viral y posiblemente también sobre la actividad de la polimerasa viral.

También inhibe el crecimiento celular, al inducir una apoptosis mediada por el factor de necrosis tumoral alfa. Los efectos inmunomoduladores del interferón alfa radican en el incremento de la expresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase I, que favorece la detección de los antígenos virales por las células T.

Todos los interferones activan una variedad de células de nuestro sistema inmune: natural killers, macrófagos y células B. El interferón alfa estándar no modificado tiene una vida media de 4-10 horas, alcanzando su

pico de concentración máxima a las 3-8 horas de haberse administrado subcutáneamente. A las 24 horas de haberse administrado ya no se detecta interferón alfa en el suero. Mayores concentraciones de interferón alfa se han obtenido con la administración del mismo 3 veces a la semana. Posteriormente, el interferón pegilado sustituyó al interferón estándar, al haberse conseguido asociar a éste una molécula de polietilenglicol, lo que ha disminuido el aclaramiento del interferón, incrementando su vida media.

Actualmente existen dos moléculas distintas de interferón pegilado:

a) el interferón pegilado alfa-2a (Pegasys ®), que tiene una molécula de polietilenglicol ramificado de 40 por kilo Dalton (kD) unida al interferón y, b) el interferón pegilado alfa-2b (PegIntron ®), en el que la molécula de Polietilenglicol empleada es lineal y de 12 kD. Después de la administración de una sola dosis s.c., la concentración sérica máxima se suele alcanzar después de 6-8 horas, y los niveles de interferón se mantienen detectables en suero durante 20-24 horas.

Las concentraciones séricas máximas difieren dependiendo del tipo de interferón pegilado empleado, alcanzándose a las 72-96 horas en el caso del interferón pegilado alfa-2a, mientras que para el interferón pegilado alfa

2b suelen alcanzarse antes, en torno a las 15 a 44 horas de haber administrado el fármaco. La semivida plasmática de cada uno es respectivamente de 75 y 31 horas ³⁹. El tratamiento con interferón pegilado alfa-2b (1.0 mcg / kg q.w.) durante 48 semanas dobló las tasas de curación o respuesta virológica sostenida (RVS) comparado con el régimen estándar de 3 MU de interferón alfa 3 veces a la semana durante el mismo tiempo (24% versus 12%) ⁴⁰.

El interferón alfa-2a (180 mcg/sc/semana) en monoterapia alcanzaba una respuesta virológica de final de tratamiento en la semana 48 del 69% y una tasa de RVS del 39% comparada con el interferón alfa estándar administrado 3 veces en semana 6 MU durante 12 semanas seguido de 3 MU durante las siguientes 36 semanas con tasas del 28% y 19%, respectivamente ⁴¹.

Un patrón bifásico muestra la cinética viral durante el tratamiento antiviral con interferón alfa estándar: una primera fase de caída pronunciada, la cual comienza a partir de las 8 horas de haberse administrado, seguida de una caída más lenta que comienza a partir de las 24-48 horas de haberse administrado.

La Ribavirina es un nucleósido de las purinas sintético que entra en las células eucarióticas rápidamente y ejerce un efecto antiviral virustático frente a una gran variedad de virus DNA y RNA después de haber sido sometida a una fosforilación intracelular. La Ribavirina trifosfato interfiere de forma precoz con la transcripción viral, en el desarrollo y elongación del ARN mensajero, e inhibe la síntesis de las ribonucleoproteínas.

La Ribavirina inhibe la actividad de la deshidrogenasa inosina monofosfato y timidin quinasa, al reducir los reservorios intracelulares de guanosina trifosfato, elementos que resultan imprescindibles para la replicación y transcripción viral. La depleción de los reservorios intracelulares de guanosina trifosfato pueden potenciar la mutagénesis viral a través de la polimerasa viral. La Ribavirina también ejerce efectos inmunomoduladores, al producir una inhibición dosis-dependiente de la concentración citocinas-ARN mensajero (Interleucina 2 y 4, así como el factor de necrosis tumoral alfa).

Además incrementa la respuesta de los linfocitos T Helper, que somete al virus a una mayor presión inmunológica. Además reduce los efectos citopatogénicos virales *in vitro*.

La Ribavirina también interacciona a nivel de la vía de señalización del interferón, favoreciendo la unión de STAT1 al ADN e induciendo la expresión de los ISGs. La Ribavirina podría alterar el balance T_H1/T_H2 , favoreciendo la respuesta T_H1 y, por tanto, el aclaramiento del virus. Alcanza su concentración plasmática máxima después de 1,7 horas y 3 horas después de haber recibido una dosis dos veces al día de 600 mg, respectivamente.

La concentración plasmática en estado estacionario (the steady-state plasma concentration) tras la administración oral de Ribavirina a dosis de 600 mg dos veces al día suele alcanzarse a partir de las 4 semanas de tratamiento ⁴². Tras la administración de una dosis única de Ribavirina, el perfil de las concentraciones plasmáticas de Ribavirina se puede dividir en 3 fases correspondientes a una primera fase rápida de absorción seguida de una rápida fase de distribución y una fase prolongada de eliminación.

No se une a proteínas plasmáticas y tiene un volumen aparente de distribución muy elevado debido a su extensiva acumulación en glóbulos rojos (cociente sangre total: plasma = 60:1). La Ribavirina se distribuye lentamente a líquido cefalorraquídeo, donde alcanza unas concentraciones

que son el 70% de las plasmáticas. En cuanto a su eliminación, la Ribavirina se elimina por vía metabólica y renal ⁴³. Se conocen 2 vías de metabolismo de la Ribavirina: una de fosforilación reversible a sus formas mono- di- y tri- fosfato y una vía degradativa de desribosilación e hidrólisis de la amida para dar lugar al metabolito ácido Triazol Carboxílico. Tanto la Ribavirina como su metabolito se eliminan por vía renal.

La Ribavirina tiene un tiempo de semivida de eliminación muy largo, lo que podría reflejar su extensiva acumulación en compartimentos no plasmáticos como los glóbulos rojos y su lento aclaramiento de los mismos. Por esta razón, el estado de equilibrio estacionario de la Ribavirina no se alcanza hasta la semana 4 de tratamiento.

La farmacocinética de la Ribavirina está influida por alimentos: alimentos ricos en grasas incrementan las concentración máxima (C_{max}) y el área bajo la curva (ABC) hasta un 70% por retraso del vaciado gastrointestinal y mejora de la disolución de la forma farmacéutica. La variabilidad interindividual de las concentraciones de Ribavirina está condicionada por variables como el peso corporal, el sexo, la edad y la creatinina sérica (aclaramiento de creatinina).

El volumen de distribución de la Ribavirina depende principalmente del peso corporal. En cambio, el aclaramiento depende del peso corporal y del aclaramiento de Creatinina, encontrándose una correlación negativa entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina y la filtración glomerular.

La función renal es un factor importante en la farmacocinética de la Ribavirina, especialmente cuando el aclaramiento de Creatinina está alterado ($ACr < 43$ ml/hora). La Ribavirina produce anemia hemolítica por acumulación de las formas trifosfato de la Ribavirina en el interior de los glóbulos rojos (la fosforilación de la Ribavirina en los glóbulos rojos es irreversible porque éstos carecen de fosfatasas) y consiguiente depleción del ATP intracelular.

La anemia producida, sin embargo, por el interferón es secundaria a supresión de la médula ósea. Esta es la consecuencia de que se suele producir una caída media de los niveles de hemoglobina (Hb) de 2-3 g/dl durante las 12 primeras semanas de terapia antiviral. Alrededor de un 10% de los pacientes experimentan una caída por debajo de 10 g/dl y requieren reducciones de dosis de Ribavirina, con el riesgo de no conseguir alcanzar

una RVS.

La Ribavirina en monoterapia tiene un escaso impacto en la erradicación viral del VHC ⁴⁴, sin embargo en combinación con el interferón pegilado reduce de forma muy significativa el riesgo de recidiva después de la interrupción del tratamiento. Según los ensayos clínicos, el genotipo viral y después la carga viral basal son los factores pronósticos más importantes en biterapia para que sea alcanzada la respuesta virológica sostenida (RVS). Tienen tanta importancia que, aunque la dosis de interferón permanece fija, la duración del tratamiento y la dosis de Ribavirina varían en función del genotipo viral.

En los primeros estudios se observó que el interferón en monoterapia conseguía una tasa de RVS muy baja. Sin embargo, la RVS era muy superior en asociación, como anteriormente comentamos con la Ribavirina. Ya en los primeros estudios con interferón estándar y Ribavirina se demostró que los pacientes con genotipo 1 eran más resistentes al tratamiento, mientras que la tasa de RVS en genotipo no-1 era independiente de la duración del tratamiento. En cambio, en el genotipo 1 aumentaba la tasa de RVS al incrementar la duración del tratamiento a 48 semanas.

Posteriormente se publicó un análisis *post hoc* de los 2 ensayos clínicos anteriores: el tratamiento “a la carta” en la hepatitis C crónica “^{45,46}. Aunque se demostró claramente que en los genotipos 2 y 3 la RVS no aumentaba al prolongarse el tiempo de tratamiento, la recomendación de tratar a estos pacientes durante 24 semanas no está recogida en la ficha técnica del interferón alfa-2b. Esta recomendación se realizó después del estudio con interferón pegilado alfa-2a de Hadziyannis et al, publicado en 2004 ⁴⁷.

En biterapia (asociación de interferón pegilado + Ribavirina) la primera regla de parada que apareció fue propuesta por Poynard y McHutchison ^{44,45}. Los pacientes que son ARN-VHC positivos a la semana 24 no tienen posibilidades de responder, incluso si se continúa el tratamiento otras 24 semanas, por lo que se puede interrumpir la terapia en los pacientes sin respuesta virológica a la semana 24, con el consiguiente ahorro en los costes y en los efectos adversos (Respondedor virológico lento).

La segunda, propuesta por Davis et al, ⁴⁸ es la regla de la semana 12, que se aplica a los tratamiento prolongados de 48 o más semanas. Sólo los

pacientes que a la semana 12 son ARN-VHC negativo o cuya carga viral disminuye al menos $2 \log_{10}$ tienen posibilidades de alcanzar la RVS: es la llamada Respuesta Viroológica Precoz (RVP), de forma que si en la semana esta respuesta no se alcanzado se puede suspender la terapia dual. A los pacientes cuyo ARN-VHC disminuye $>2 \log_{10}$ en la semana 12, pero no se hace negativo, se les tiene que aplicar la regla de la semana 24.

La tercera y última regla en terapia dual (interferón pegilado + Ribavirina) es la Respuesta Viroológica Rápida (RVR), que son aquellos que consiguen la indetectabilidad viral en la semana 4 de terapia antiviral dual. Ésta nos permite conocer qué pacientes se beneficiarán de un tratamiento más corto, y es aplicable a todos los genotipos. También es útil para motivar a los enfermos, ya que la mayoría de los pacientes que la alcanzan finalmente se curan.

La mayoría de los datos sobre la efectividad de la terapia dual están recogidos en los 3 ensayos de registros más relevantes. En el genotipo 1 se han demostrado una tasa de RVS del 42-46%^{49,50}. En el primer estudio la dosis de Ribavirina (800 mg/día) fue inferior a la efectiva para el genotipo 1. Si se reduce el tiempo o la dosis o la dosis de Ribavirina, la tasa de RVS

disminuía. En práctica clínica, la Ribavirina en los pacientes con genotipo 1 se dosifica según peso: 1000 mg/día si tienen un peso corporal menor o igual a 75 kg. Y 1200 mg/día para los que superan los 75 kg. También se pueden dosificar en mg/kg: al menos es necesario una dosis mayor de 10.6 mg/kg (11-13 mg/kg que corresponde a 800-1400 mg, dependiendo del peso ^{48,49}).

La dosificación máxima de Ribavirina ha sido de 1400-1600 mg/día que puede estar especialmente indicada en pacientes obesos ^{50,51}. De estos estudios los factores pronósticos de RVS en terapia dual más relevantes, además de la carga viral basal, encontramos el grado de fibrosis hepática de los pacientes. En el estudio de Hadziyannis ⁴⁷, la RVS en los pacientes con cirrosis (METAVIR F4) o fibrosis avanzada (METAVIR F3) tratados con dosis máximas de Ribavirina durante 48 semanas fue del 41% frente al 57% en los no cirróticos.

También en el estudio de Manns, la fibrosis influyó en las tasas de RVS: del 44% y 57%, respectivamente ⁴⁹. Se ha realizado 3 estudios que analizaron la reducción de la duración del tratamiento dual en los pacientes con genotipo 1. El estudio de Zeuzem ⁵² tiene como grupo control el ensayo

clínico de registro del interferón pegilado alfa-2b publicado por Manns 5 años antes ⁴⁹. El estudio de Jensen⁵³ es un análisis *post hoc* del estudio aleatorio de Hadziyannis ⁴⁷ con tiempo y dosis de Ribavirina variables.

Por último, el estudio de Ferenci ⁵⁴ que no ha sido publicado, sino sólo comunicado en la European Association of the Study of the Liver (EASL) 2006, no tenía grupo control. La ventaja es que en los 3 estudios, aunque emplearon diferentes tipos de interferón pegilado, usaron la misma dosis de Ribavirina. En cambio, el límite de ARN-VHC para definir si el paciente había o no alcanzado la RVR fue distinto (< 29 UI/ml ⁵¹ y < 50 UI/ml ^{52,53}), lo que puede condicionar los resultados, al incrementar las recidivas si el test es menos sensible.

En el estudio de Zeuzem ⁵² sólo se seleccionaron los pacientes con carga viral basal baja menor de 600000 UI/ml, ya que lógicamente los de alta carga viral basal tienen menos posibilidades de alcanzar la RVR, y por consiguiente, la RVS. Llama la atención el alto porcentaje de RVR en este estudio (47%), comparado con las tasas alcanzadas en los otros 2 estudios (24 y 28 %). A su favor está que sólo se incluyeron pacientes con una carga viral basal (CVB) menor de 600000 UI/ml, y en su contra que usaron un

test más sensible para definir la RVR.

El aspecto más destacable de los 3 estudios es que la RVS fue muy alta en pacientes que alcanzaron la RVR con sólo un tratamiento de 24 semanas, en lugar de las 48 semanas (84-89%). En cambio sólo un 25% de los pacientes que no presentaron una RVR alcanzaron la RVS. Entre un 15-20% de los pacientes con genotipo 1 se podrían beneficiar de un tratamiento con biterapia reducida de 24 semanas (más corto), reduciéndose el coste y los efectos secundarios.

Hasta el 2011 el tratamiento de la infección crónica por VHC se basaba en la combinación de interferón pegilado + Ribavirina (biterapia o terapia dual), con la que se obtenían unas tasas de RVS inferiores al 50% en genotipo 1 ⁵⁵⁻⁵⁷. En la última década, la terapia antiviral que había disponible (biterapia) consiguió reducir la incidencia acumulada de cirrosis en torno al 7% y un 3.4% la muertes relacionadas con la enfermedad hepática en los países de Europa Occidental ⁵⁸.

El lanzamiento de la primera generación de inhibidores de la proteasa (IP), Boceprevir y Telaprevir, en combinación con la terapia dual (interferón pegilado + Ribavirina) en 2011, han incrementado las tasas de

RVS en aproximadamente un 30% respecto a las tasas obtenidas sólo con biterapia, alcanzando unas tasas de curación virológica del 63% con Boceprevir (estudio SPRINT-2) ⁵⁹ y del 75% con Telaprevir (estudio ADVANCE) ⁶⁰, en pacientes previamente no tratados (naïve) con genotipo 1.

El beneficio de este avance ha sido incluso mayor en los pacientes que habían sido previamente tratados con biterapia, sin alcanzar la RVS, obteniéndose un incremento de las tasas de curación virológica comprendida entre un 50-60% en recidivantes o relapsers (aquellos pacientes que tras alcanzar la indetectabilidad viral durante la biterapia, a los 6 meses de haberlo finalizado reaparece el virus con ARN-VHC detectable de nuevo).

Este beneficio suponía entre un 40-45% más en respondedores parciales o virológicos lentos (pacientes que presentan viremia detectable al 6º mes de terapia dual), siendo menor el beneficio en los respondedores nulos o null-responders (que son pacientes que a las 12 semanas de biterapia la reducción virémica alcanzada es inferior a los 2 log₁₀ respecto a la CVB), destacando los estudios RESPOND-2 y REALIZE ^{61,62}.

Estos últimos son los pacientes que presentan una sensibilidad al interferón más reducida. Sin embargo, aunque su aparición ha supuesto un importante avance en la Hepatología, son combinaciones farmacológicas no exentas de riesgos y complicaciones, suponiendo además, un incremento de los costes respecto a la biterapia, así como la presencia de resistencias e interacciones farmacológicas.

3.6. FACTORES PREDICTIVOS DE RESPUESTA

Los factores pronósticos de respuesta terapéuticas giran en torno a tipos: a) factores relacionados con el virus; b) factores relacionados con el huésped y c) factores cinéticos virológicos durante el tratamiento.

Entre los factores relacionados con el virus destacamos el genotipo viral, la carga viral basal (CVB), diversidad de las cuasiespecies, duración de la infección, mutaciones a nivel de la región NS5A, coinfección con VHB o VIH.

Entre los factores relacionados con el huésped destacamos el grado de fibrosis hepática, resistencia insulínica, esteatosis hepática, obesidad, edad, la edad de adquisición de infección, sexo, consumo de alcohol,

sobrecarga férrica, factores genéticos (polimorfismos genéticos), índice de masa corporal, aclaramiento de creatinina, raza, valor basal de IP-10.

Entre los factores cinéticos virológicos destacamos las diferentes reglas de parada (ausencia de respuesta virológica precoz, viremia residual a las 24 semanas en biterapia), la presencia de respuesta virológica rápida (RVR) o indetectabilidad viral a las 4 semanas de biterapia.

A continuación entraremos en detalle con cada uno de ellos. Se han descrito 6 genotipos virales, con una distribución geográfica mundial bien definida. En nuestro país se encuentran pacientes con genotipos 1, 2, 3 y 4. El genotipo 1 del VHC es causante del 60-85% de las infecciones de Occidente. Al principio los pacientes fueron clasificados como genotipo 1 frente al genotipo no 1, pero finalmente se ha comprobado que la sensibilidad a la biterapia es similar entre pacientes con genotipo 1 y 4, y la de éstos es muy diferente a la de los pacientes con genotipo 2 y 3.

El genotipo del VHC es el factor viral más importante, y define la duración del tratamiento y la dosis necesaria en biterapia de Ribavirina. En pacientes con genotipo 1 la posibilidad de curación es del 51% cuando

reciben tratamiento combinado con interferón pegilado alfa-2a (180 mcg semanales) y Ribavirina (1000-1200 mg/día) durante 48 semanas, en cambio, las posibilidades de curación son del 78% en pacientes con genotipo 2 y 3 tratados durante 24 semanas con interferón pegilado más dosis de 800 mg/día de Ribavirina.

Los motivos de esta diferente sensibilidad al interferón según los genotipos no se conocen bien. Se ha informado que el genotipo 1 es distinto de los genotipos 2 y 3 en los sitios de corte de la ribonucleasa L, encargada de degradar el ARN viral. Además, una región de 12 aminoácidos de la proteína E2 del virus C genotipo 1 presenta una intensa homología con el factor de iniciación que permite al actividad la proteína PKR, lo que haría que el genotipo 1 fuese más resistente al efecto antiviral del interferón que los genotipos 2 y 3 ⁶³.

Es importante destacar que las diferencias por genotipos persisten incluso cuando se utilizan antivirales de acción directa como son los inhibidores de la proteasas de primera generación, aunque en estos casos los pacientes con genotipo 1 presentan mayor sensibilidad a estas moléculas que los pacientes con genotipo 2 o 3.

La carga viral basal (CVB) o viremia basal se ha considerado durante años un factor pronóstico de respuesta al tratamiento. No obstante, ciertas dificultades metodológicas y la variabilidad entre laboratorios hicieron que en numerosos trabajos quedase excluida como variable independiente de respuesta. El principal problema de la cuantificación del ARN del virus C radicaba en la falta de estandarización de las técnicas para su determinación, lo que se acompañaba de resultados distintos entre laboratorios.

El desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR) ha permitido eliminar esta variabilidad intra e interensayo y, al mismo tiempo, ha descendido el umbral de detección, lo que da mayor valor y utilidad a la cuantificación de la viremia, tanto como factor pronóstico de respuesta basal durante el tratamiento como en cuanto herramienta de confirmación de la curación de la enfermedad tras el tratamiento exitoso.

En el momento actual, se acepta que la existencia de una alta carga viral basal (CVB > 800000 UI/ml) condiciona una peor respuesta que la de una CVB baja. Aunque también se ha elegido otro punto de corte distinto

en otros estudios, al considerarse que mejor discrimina una carga viral elevada y baja (probabilidad de respuesta del 30 y el 65% con biterapia, respectivamente) en pacientes con genotipo 1 equivale a aproximadamente a 400000 UI/ml ⁶⁴.

En cuanto a las cuasiespecies virales y duración de la infección tenemos que decir que debido a su elevada tasa de replicación y escasa fidelidad de copia de su ARN polimerasa, cualquier paciente infectado por el VHC es portador de una población heterogénea de variantes genómicas a la que se denomina cuasiespecies. La diversidad y la complejidad de ésta aumentan con el tiempo y la presión ejercida por la respuesta inmunitaria del huésped.

Una mayor complejidad de las cuasiespecies se asocia con una peor respuesta terapéutica, aunque los estudios están limitados por la región genómica estudiada (generalmente la proteína E2) y la técnica empleada para estimar la complejidad. Donde mejor se aprecia el valor pronóstico de la diversidad viral es en los extremos de duración de la infección (aguda frente a larga duración con hepatopatía avanzada).

El hecho de que la tasa de RVS tras 6 meses de tratamiento con interferón pegilado sea aproximadamente del 90% en pacientes con infección aguda, independientemente de la carga viral y el genotipo ⁶⁵, se debe a la homogeneidad de las cuasiespecies que limitan el número de variantes capaces de interferir la respuesta al interferón y/o esquivar la respuesta inmune adaptativa.

En otro extremo, la complejidad de las cuasiespecies en pacientes con fibrosis avanzada se ha demostrado como una variante predictiva independiente de la respuesta ⁶⁶. Las mutaciones en las regiones que codifican NS5A y core, se han asociado con la respuesta antiviral. En la primera, se describió inicialmente una zona (ISDR) en la que la acumulación de mutaciones con respecto a la secuencia prototipo del genotipo 1 se asociaba con una mejor respuesta y, posteriormente se amplió a toda la zona que interacciona con PKR (PKRBD) y al extremo carboxi-terminal V3.

Aunque hay notables diferencias geográficas en el valor pronóstico de esta variable, y además ésta se asocia con una menor carga viral, es probable que las variaciones en la secuencia de NS5A, proteína que

interfiere a distintos niveles con el efecto del interferón, influyen en la respuesta al tratamiento en los pacientes infectados por el VHC genotipo 1⁶⁷. También se ha descrito que la presencia de 2 cambios de aminoácidos, con respecto a la secuencia prototipo, en la proteína del core (posiciones 70 y 91) se han asociado de forma independiente con peores tasas de RVS en pacientes japoneses infectados con genotipo 1b⁶⁸.

Los primeros elementos que nos pueden orientar para establecer el momento evolutivo de la infección crónica por virus C son los hallazgos en la biopsia hepática que nos informa en la muestra histológica del estadio o grado de fibrosis (espacio recorrido por el enfermo desde un hígado normal hasta la cirrosis establecida) y el grado de actividad necrótica inflamatoria (la velocidad a la que está progresando la lesión). Teóricamente con estos dos parámetros sería muy fácil establecer el tiempo que tardará el enfermo en desarrollar una cirrosis, si no existieran importantes determinantes.

El primero de ellos se refiere a la representatividad relativa del grado de fibrosis obtenido en la biopsia en relación con la fibrosis global del hígado. El segundo de los determinantes es que la cuantificación de la

fibrosis es una variable discreta y no continua. Los pacientes cirróticos tienen tasas de respuesta virológica sostenida claramente inferiores en la mayoría de los regímenes terapéuticos empleados con interferón.

Mientras que las tasas de respuesta eran de tan sólo un 8% en pacientes tratados en monoterapia con interferón estándar, ésta solo era de un 30% cuando se empleaba el pegilado también en monoterapia ⁶⁹. Los mecanismos por los que la fibrosis provoca una menor actividad antiviral del interferón podrían ser los siguientes:

a) La cirrosis se asocia a un incremento de la resistencia a la insulina y, ésta a su vez puede ser responsable de resistencia al interferón.

b) La activación de la célula estrellada se acompaña de una alteración del repertorio de citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y el factor transformador de crecimiento beta (TGF-beta), que pueden condicionar resistencia al interferón.

c) El tiempo de evolución de la enfermedad, ya que la complejidad viral se acentúa con el paso del tiempo y la capacidad de evadir el sistema inmune y bloquear el efecto antiviral del interferón podría aumentar, lo que explicaría la alta tasa de curación en pacientes con hepatitis aguda en comparación con enfermedades de larga duración.

d) La presencia de una mayor fibrosis como consecuencia de una pérdida del parénquima hepático funcional, así como de la arquitectura vascular sinusoidal más atrofiada y escasa en los pacientes cirróticos, probablemente condicione una menor biodisponibilidad y accesibilidad de los fármacos antivirales administrados, que hacen que los efectos terapéuticos en estos pacientes sean más limitados.

Cuanto más joven es el paciente, mayor es la posibilidad de respuesta. La correlación no es lineal, cuando hay otros cofactores, pero una edad menor de 40 años se ha identificado como factor pronóstico independiente de RVS.

Las mujeres tienden a responder mejor que los varones, especialmente las más jóvenes, lo que indica un posible papel de los estrógenos en la mejor respuesta.

Otros factores, como un menor índice de masa corporal (IMC), podrían desempeñar un papel. De hecho, el sexo no se ha confirmado como factor pronóstico independiente en varios ensayos de registro sobre terapia antiviral dual. Numerosos estudios han demostrado que la obesidad, el IMC, la presencia de esteatosis hepática o esteatohepatitis, y la resistencia insulínica se asocian con una peor respuesta al tratamiento.

El peso corporal carece de valor pronóstico cuando la Ribavirina se administra en función de éste. No ocurre lo mismo con la obesidad central, el IMC, la esteatosis y la resistencia insulínica, variables a menudo coincidentes, asociadas o no a esteatohepatitis no alcohólica. El mecanismo de resistencia terapéutica no está claro.

En algunos pacientes la obesidad conllevaría un desequilibrio en la producción de adipocitocinas (aumento del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), e Interleucina 6, leptina y disminución de adiponectina, que inhibiría la acción del interferón, interfiriendo la señalización intracelular Jak-STAT.

En otros pacientes, incluidos los no obesos, la propia infección por el VHC, especialmente el genotipo 1, induce una resistencia insulínica (por sobreexpresión del TNF- α y SOCS 3, que disminuyen la fosforilación del receptor e interfieren sobre las vías de señalización comunes), lo que causaría a su vez esteatosis, estrés oxidativo y disminución de la respuesta al interferón exógeno⁷⁰.

Diversos estudios han identificado la resistencia insulínica, estimada mediante el índice HOMA-IR (insulinemia basal [μ U/ml] x glucemia basal [mg/dl / 18] / 22.5), como factor predictivo independiente de respuesta al

tratamiento con biterapia antiviral ⁷¹.

Camma et al analizó en 291 pacientes no diabéticos, con una biopsia hepática de tamaño óptimo, el impacto de la esteatosis metabólica, la resistencia insulínica y la obesidad (IMC > 30 kg/m²) y observó una estrecha relación entre la resistencia insulínica y la esteatosis, siendo la esteatosis la que de forma independiente se asoció a posibilidad de curación ⁷².

La existencia de estudios aislados sobre la influencia negativa de la sobrecarga férrica adquirida o genética en la lesión producida por el virus C ha permitido establecer la hipótesis de si esta sobrecarga del metal explicaría la diferente progresión de la enfermedad. La evolución de la infección por virus C en los enfermos sometidos a inmunosupresión, fundamentalmente trasplantados de órganos, muestra una evolución más agresiva y esto se hace todavía más evidente en los enfermos trasplantados hepáticos, donde también influye la edad del donante del hígado.

Los genes implicados en la modulación de la respuesta al tratamiento se pueden dividir en 2 grupos: los genes reguladores de la acción antiviral de interferón y los genes reguladores de la respuesta inmune. En cuanto a los primeros, el polimorfismo consistente en la aparición de una T en lugar

de A en la posición -88 se asocia a una mayor actividad de la proteína MxA; así en aquellos individuos con CVB baja, la RVS al interferón fue del 62% en pacientes -88T, frente al 36% en pacientes -88A.

En cambio, el polimorfismo que conduce al genotipo GG en la región 3' UTR del gen de la 2'-5'-OAS no se ha relacionado con la posibilidad de respuesta al interferón. Un polimorfismo consistente en la repetición de 3 nucleótidos en el gen de la PKR, clasificado como corto cuando las repeticiones son inferiores a 9 y como largo cuando son superiores a 9, se han asociado con la RVS, de forma que la frecuencia de un polimorfismo largo/largo (homocigoto) es mayor en pacientes con RVS (89.4%) que en no respondedores (71.8%).

De todos estos estudios con variables genéticas, el que ha supuesto una auténtica revolución por su impacto tanto en investigación como en práctica clínica fue el hallazgo realizado por Ge et al y publicado en Nature en 2009 de un polimorfismo genético íntimamente relacionado con las tasas de RVS y mecanismos metabólicos como son las concentraciones plasmáticas de colesterol y LDL-colesterol basales y la presencia de esteatosis hepática y su severidad.

Se trata del polimorfismo genético de la Interleucina 28b (IL-28B),

localizado mediante técnicas de GWAS (estudios de asociación genómica) en el cromosoma 19q13 (rs12979860), el cual codifica para el interferón-gamma-3⁷³.

En este estudio se analizaron una cohorte de 1137 pacientes pertenecientes al estudio IDEAL⁷⁴, demostrándose que aquellos pacientes que eran portador de un genotipo IL-28B favorable (CC) tenían unas posibilidades de alcanzar la RVS significativamente mayores que aquellos que tenían un genotipo IL-28B desfavorable (CT o TT).

A partir de la secuenciación del genoma humano en el año 2003 se han producido una gran cantidad de estudios sobre enfermedades frecuentes mediante la secuenciación del genoma de muestras de pacientes y controles y así obteniendo un mapa genético de alta densidad. La fuente de marcadores obtenidos, como las mutaciones únicas de nucleótidos o SNP se emplean como herramientas bioinformáticas para detectar variación respecto a la normalidad.

Posteriormente, Suppiah et al⁷⁵ y Tanaka et al⁷⁶ identificaron la variante rs 8090917. Thomas también observó que la variante observada por Ge et al se relacionaba con mayores tasas de aclaramiento viral

espontáneo (AVE) ⁷⁷. Los interferones λ , que incluyen el interferón $\lambda 1$, el interferón $\lambda 2$ y el interferón $\lambda 3$, también denominados IL-29, IL28A e IL-28B constituyen un nuevo grupo de citoquinas emparentadas a distancia con los miembros de la familia interferón y la Interleucina 10. La señalización de los interferones- λ , a través de sus receptores se encargan de activar la ruta Jak-STAT y MAPK para inducir la respuesta antiviral, antiproliferativa, inmune y antitumoral.

Las quimioquinas y citoquinas constituyen biomarcadores predictores independientes de respuesta al tratamiento antiviral como moduladores de la inmunidad e inflamación en la hepatitis crónica C. Varios estudios han demostrado que la proteína 10 inducible por el interferón γ (CXCL10 o IP-10) se ha comportado como un marcador pronóstico de respuesta al tratamiento en la infección crónica por VHC genotipo 1 ⁷⁸⁻⁸¹.

Valores elevados pretratamiento de IP-10 se han correlacionado con ausencia de respuesta al tratamiento con terapia dual. Valores pretratamiento de IP-10 mayor de 600 pg/ml es un biomarcador predictivo de ausencia de respuesta al tratamiento con biterapia con una valor

predictivo positivo (VPP) de un 69% y un valor predictivo negativo (VPN) del 67%⁸².

El receptor de la IP-10 (CXCR3) está sobreexpresado en los linfocitos de pacientes con hepatitis crónica C, constituyendo los hepatocitos la fuente predominante de la producción de IP-10 en pacientes con hepatitis crónica C. Mientras que los niveles intrahepáticos de IP-10 se correlacionan con la necroinflamación y grado de fibrosis hepática en la infección crónica por VHC, su papel en el aclaramiento viral es más desconocido.

Es conocido que los pacientes que presentan una expresión menor de los genes estimulados por el interferón (ISG) han mostrado una respuesta mayor al interferón administrado exógenamente y mayores tasas de RVS. Por el contrario, aquellos que presentan una expresión pretratamiento de estos genes tienen una mayor refractariedad a los efectos terapéuticos del interferón. Por tanto, unos niveles elevados de IP-10 podrían constituir un marcador de este estado de refractariedad.

El aclaramiento de creatinina es un factor que juega un papel relevante definiendo las concentraciones plasmáticas de Ribavirina que

alcanzarán los pacientes tratados con biterapia, fármaco que modula la tasa de recidiva en los pacientes ⁸³. Los pacientes que presentan un aclaramiento de creatinina elevado se han asociado a mayores tasas de fracasos terapéuticos. Por otro lado, la monitorización de las concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de haberse iniciado la terapia se ha considerado un factor que podría mejorar las tasas de RVS y RVR en pacientes tratados con biterapia ⁸⁴.

La cinética viral durante el tratamiento antiviral es uno de los factores que mejor reflejan las posibilidades de los pacientes para alcanzar la RVS o no. Se observó que los sujetos que negativizaban el ARN-VHC en las primeras 4 semanas de biterapia tenían probabilidad muy elevada de alcanzar la RVS. Este tipo de respuesta se denominó respuesta virológica rápida (RVR). Existen varios estudios afirman que un acortamiento del tratamiento a 24 semanas es tan eficaz como la duración de 48 semanas en pacientes con genotipo 1 que alcanzar la RVR.

Ferenci et al ⁸⁵ realizaron un análisis retrospectivo de varios estudios que ponía de manifiesto que cuanto más precoz era la negativización de la viremia, mayor era la probabilidad de alcanzar la RVS. En 2006 Zeuzem et

al ⁵² observó que se alcanzaron unas tasas del 89% en pacientes con genotipo 1, CVB menor de 600000 UI/ml y presencia de RVR con sólo una duración de 24 semanas de tratamiento con interferón pegilado y Ribavirina. Por el contrario, aquellos pacientes sin RVR, esta biterapia reducida supuso un incremento de la tasas de recidivas. El valor predictivo positivo de la RVR oscila entre el 86-91%.

Jensen et al ⁸⁶ analizó el efecto de la RVR en la tasa de RVS en pacientes con genotipo 1 procedentes de varios ensayos clínicos: la tasa de RVS fue elevada en los respondedores rápidos, independientemente de recibir tratamiento con dosis bajas de Ribavirina o dosis estándar, o de si eran tratados durante 24 o 48 semanas. En este estudio, el factor más importante asociado a RVR fue la presencia de una CVB menor de 400000 UI/ml. En resumen, los pacientes con genotipo 1 y CVB baja que alcanzan además una RVR obtienen el mismo beneficio con el tratamiento de 24 semanas que con el estándar de 48 semanas.

Igual que es un factor clave la cinética viral durante la biterapia, también sigue manteniendo su importancia en los regímenes terapéuticos

basados en triple terapia de primera generación (Boceprevir o Telaprevir), que son antivirales de acción directa que inhiben la proteasa NS2/NS3A.

En ensayo SPRINT-2 en el que se asociaba Boceprevir a biterapia (interferón pegilado + Ribavirina) en pacientes naïve (previamente no tratados) que alcanzaban una reducción virémica inferior a un $1 \log_{10}$ UI/ml respecto a la CVB que presentaba el paciente en genotipo 1 durante la fase de lead-in (1º mes de biterapia antes de iniciar la triple terapia) presentaban una tasas de RVS significativamente inferiores (sólo 33-34%) comparada con los sujetos que en la semana 8 habían alcanzado la indetectabilidad viral en la semana 8 (RVS de 86-88%).

En el ensayo REALIZE cuando se analizó la cinética viral de los pacientes que no había respondido a biterapia previa con una reducción de la viremia inferior a los $2 \log_{10}$ UI/ml sólo con biterapia (respondedores nulos o null responders), si éstos presentaban una reducción durante la fase de lead-in de al menos $1 \log_{10}$ UI/ml, la tasa de RVS alcanzada con triple terapia con Telaprevir era de un 54% frente a sólo un 15% en aquellos pacientes que durante la fase de lead-in la reducción virémica alcanzada en la semana 4 era inferior a $1 \log_{10}$.

Las reglas de parada que se han empleado en triple terapia con Telaprevir es la presencia de más de 1000 UI/ml en las semanas 4 y 12 de tratamiento (Ensayos ADVANCE e ILLUMINATE). La reglas de parada para la triple terapia con Boceprevir es la presencia de 100 UI/ml en la semana 12, la ausencia de una reducción virémica en la semana 8 de al menos 3 \log_{10} UI/ml respecto a la basal y la presencia de detectabilidad viral en la semana 24, tanto para Boceprevir como Telaprevir.

Estas reglas de paradas permite evitar continuar con terapias antivirales que van a resultar ineficaces para curar estos pacientes, evitando así, someter a estos pacientes a efectos secundarios, que en algunas ocasiones pueden ser graves: anemia severa que precise incluso transfusiones, el empleo de estimuladores de eritrogenesis, el riesgo de infecciones, presencia de descompensaciones hepáticas, reacciones cutáneas graves (Telaprevir), incluso de muertes directamente relacionadas con el tratamiento.

Su aplicación en la práctica clínica permiten, además, un ahorro económico de recursos, que pueden ser empleados para tratar a otros pacientes con criterios más favorables a priori para curarse.

Existen subgrupos de pacientes que pueden presentar, por tanto, elevadas tasas de RVS con sólo biterapia, especialmente aquellos con CVB baja (RVS de un 65%), o fibrosis escasa, así como presentar una RVR. Los factores predictores basales para alcanzar la RVR fue la presencia de un genotipo viral 2 o 3, la edad joven, una CVB baja y la ausencia de fibrosis avanzada.

La eficacia de la RVR en predecir la RVS se ha confirmado en los estudios en fase 3 de Telaprevir Y Boceprevir. En efecto, en el estudio ADVANCE, la RVS obtenida en el grupo de pacientes tratados sólo con biterapia que alcanzaron la RVR extendida (RVRe: indetectabilidad viral tanto en la semana 4 como 12) fue del 97%, similar a la observada en los grupos de pacientes con RVRe tratados con Telaprevir.

Por otra parte, en el estudio SPRINT-2, al analizar los subgrupos con RVR, no se observaron diferencias significativas en las tasas de RVS según los pacientes hubiesen sido tratados con la terapia estándar (interferón pegilado + Ribavirina) o con triple terapia que incluía Boceprevir (86% versus 89% y 91%, respectivamente). Así pues, en los pacientes con genotipo 1 que consiguen una RVR, las probabilidades de alcanzar la RVS son muy altas (cerca al 90%).

Es posible, además, que en los pacientes previamente no tratados e infectados por el genotipo 1 que consiguen una RVR y que presentan una CVB baja (menor de 400000 UI/ml), la duración del tratamiento pueda reducirse a 24 semanas en lugar de las 48 semanas habituales, sin que ello signifique reducir las posibilidades de lograr la RVS ⁸⁷.

Estos resultados se confirmaron en un estudio con 233 pacientes naïve no cirróticos genotipo 1 que presentaban una baja CVB (menor de 600000 UI/ml), que fueron tratados con un lead-in con biterapia. Un 48% de estos pacientes alcanzaron la RVR, los cuales fueron aleatorizados a recibir 20 semanas más con biterapia estándar frente a otro grupo que serían tratados con triple terapia con Boceprevir durante 24 semanas más.

La tasa de RVS fue similar en ambos grupos (88% frente a un 90%), independientemente del subgenotipo viral, genotipo de la IL-28B o raza que presentara el paciente. La seguridad fue similar con una tasa de acontecimientos adversos similar, unas necesidades de reducción de Ribavirina similares (33% en ambos grupos) y necesidad de discontinuar tratamiento (8% frente a 6%).

Estos resultados indicaban que el añadir un inhibidor de la proteasa a la biterapia estándar no suponía un incremento de la eficacia, incluso con biterapia reducida si el paciente era un genotipo 1 no cirrótico con baja carga viral basal y había alcanzado al mes una RVR ⁸⁸.

3.7. ALGORITMOS TERAPEÚTICOS EN HEPATITIS CRÓNICA C

En 2011 se publicaron diferentes estudios con inhibidores de proteasa (Boceprevir y Telaprevir) lo que ha supuesto un incremento significativo de la eficacia de los tratamientos, al conseguir incrementar la tasa de respuesta viral sostenida (RVS) en torno a un 25-30% respecto a los resultados obtenidos sólo con la terapia estándar.

Este aumento de la eficacia ha beneficiado tanto a pacientes naive como a los pacientes que no respondieron previamente a biterapia. Además, en el 40-60% de los pacientes naive es posible un acortamiento de la terapia. Sin embargo, la triple terapia se ha asociado a ciertos efectos indeseables.

En primer lugar, se ha observado que estos tratamientos se asocian a la presencia de exantema cutáneo (Telaprevir) que hasta en un 5% de los

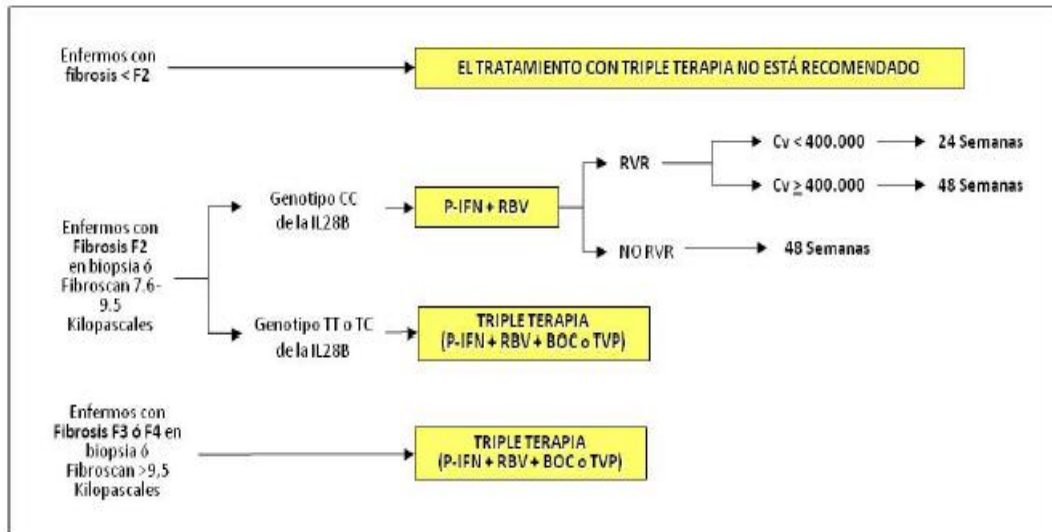
casos podría ser grave, de anemia (Telaprevir y Boceprevir) o de disgeusia (Boceprevir). Por otro lado, la ausencia de respuesta a la triple terapia se asocia, de manera casi universal, al desarrollo de mutaciones que confieren resistencia al antiviral.

Estas resistencias, aunque parece que desaparecen de manera progresiva, tienen, a día de hoy, un significado incierto. No existe ningún estudio que valore la sensibilidad a la exposición posterior de estos pacientes a otros antivirales de la misma familia.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) ha elaborado unas recomendaciones con el objetivo de armonizar los criterios que deberían cumplir los pacientes candidatos a un acceso precoz a cualquiera de estos dos fármacos, y facilitar asimismo las garantías de equidad en el acceso (figura 3).

Para la elaboración de estas recomendaciones se ha consultado a un grupo de expertos en el manejo de la hepatitis C crónica en tres grupos fundamentales de pacientes: monoinfectados por VHC, coinfectados con VIH y trasplantados hepáticos.

Figura 3. Algoritmo terapéutico de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) para pacientes con hepatitis crónica C naïve genotipo 1.



ALGORITMO DE TRATAMIENTO EN PACIENTES NAÏVE. P-IFN = interferón pegilado; RBV = Ribavirina; BOC = boceprevir; TVP = telaprevir; RVR = respuesta viral rápida; Cv = carga viral. En pacientes F2 en biterapia deben considerarse las reglas de suspensión para ribavirina e interferon pegilado habituales en práctica clínica.

F2 (fibrosis F2); F3 (fibrosis en puentes); F4 (cirrosis hepática); P-IFN (interferón pegilado); RBV (Ribavirina); BOC (Boceprevir); TVP (Telaprevir); IL28B (genotipo de la Interleucina 28b); CV (carga viral basal); RVR (Respuesta Viroológica Rápida).

Fuente: Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios.
http://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/criterios-VHC-monoinfectados_28-02-12.pdf

En los pacientes monoinfectados por el VHC genotipo 1 con fibrosis F0-F1 o un score en Fibroscan inferior a 7.6 kilopascales (KPa) no se considera indicado el tratamiento con triple terapia de 1ª generación (Boceprevir o Telaprevir en combinación con biterapia estándar). En caso

de que se considere indicación de tratamiento antiviral con F2 (score en Fibroscan entre 7.6 y 9.5 KPa), serán tratados con terapia dual (interferón pegilado + Ribavirina ajustada a peso) durante 48 semanas.

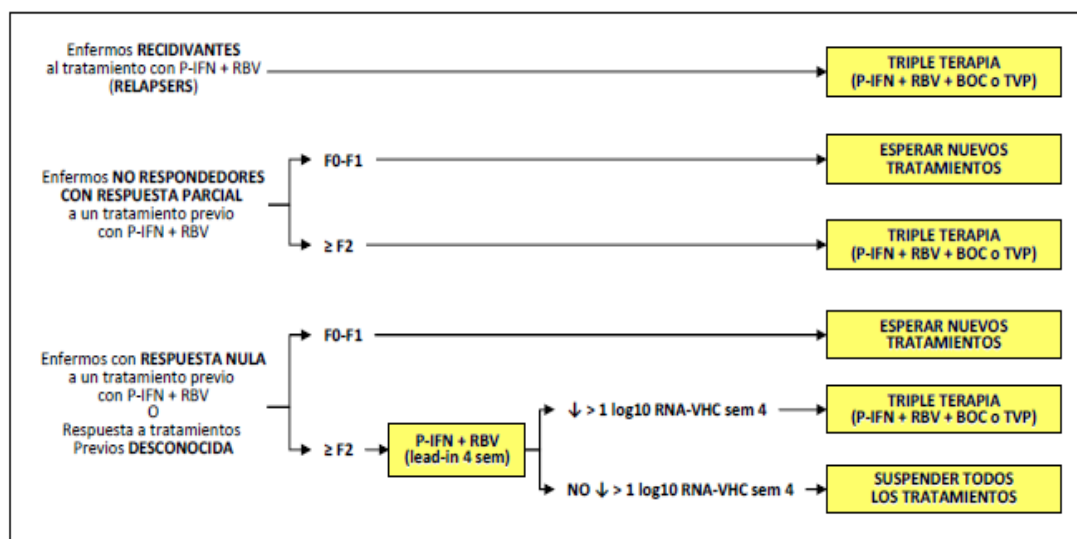
La duración del tratamiento antiviral podrá acortarse a 24 semanas (biterapia reducida) en caso de que el paciente presente un genotipo de la IL-28B favorable (CC), una CVB menor de 400000 UI/ml y no sea un paciente cirrótico y haya presentado la indetectabilidad viral en la semana 4 de biterapia (presencia de RVR). Si el paciente naïve tiene un grado de fibrosis F2, F3 o F4 y presenta además un genotipo IL-28B desfavorable (CT o TT) tendrá indicación de triple terapia antiviral de 1ª generación (Boceprevir o Telaprevir asociados a la terapia dual).

En cuanto a los pacientes que han presentado un fracaso terapéutico (figura 4), con biterapia previamente (pacientes no respondedores previos), si presentan al menos un grado de fibrosis F2 podrán ser candidatos a triple terapia, en todos los casos de pacientes recidivantes (pacientes que con biterapia alcanzaron la indetectabilidad viral durante todo el tratamiento y al suspenderla se volvió a hacer detectable el virus).

También serían candidatos a triple los pacientes respondedores parciales (viremia detectable con biterapia a las 24 semanas de haber iniciado el tratamiento) si tienen al menos un grado de fibrosis F2.

Serían candidatos a triple, sólo aquellos pacientes respondedores nulos o null responders (sujetos, que al 3º mes de biterapia, no consiguieron alcanzar un descenso virémico de al menos $2 \log_{10}$ UI/ml respecto a la viremia basal, si cuando son sometidos a un lead-in con biterapia antes de iniciar la triple con Boceprevir o Telaprevir, presentan un descenso de la viremia respecto a la basal de al menos $1 \log_{10}$ UI/ml. En caso contrario, será mejor esperar a triple terapia de 2ª generación más potentes (biterapia asociada a Sofosbuvir, Simeprevir o Faldaprevir).

Figura 4. Algoritmo terapéutico de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) en los pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1 previamente tratados.



ALGORITMO DE TRATAMIENTO EN PACIENTES PREVIAMENTE TRATADOS. P-IFN = interferón pegilado; RBV = Ribavirina; BOC = boceprevir; TVP = telaprevir; RVR = respuesta viral rápida; Cv = carga viral.

P-IFN (interferón pegilado); RVB (Ribavirina); F0-F1 (fibrosis ausente o mínima); BOC (Boceprevir); TVP (Telaprevir); Relapsers (Recidivantes); \log_{10} (logaritmo decimal); RNA-VHC (carga viral o viremia); sem (semana).

Fuente: Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios).
http://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/criterios-VHC-monoinfectados_28-02-12.pdf

3.8. TERAPIAS ANTIVIRALES

3.8.1. INTERFERÓN PEGILADO + RIBAVIRINA

La biterapia estándar basada en interferón pegilado + Ribavirina era la terapia única disponible durante la última década del siglo XX, hasta que en

2011 se aprobaron los antivirales de acción directa (AAD). Las tasas de interferón pegilado alfa-2a en combinación con Ribavirina oral según peso (1000 mg/día si su peso es inferior a 75 kg o 1200 mg/día si su peso corporal es mayor o igual a 75 kg).

Se recomienda tomar la Ribavirina no en ayunas para mejorar su absorción. Se deben tomar medidas anticonceptivas de doble barrera mientras los pacientes reciban regímenes terapéuticos basados en Ribavirina, pues se ha demostrado teratogenicidad, durante todo el tratamiento y 6 meses después de haberla suspendido.

Los pacientes son informados de los efectos secundarios producidos por ambos fármacos, destacando la presencia de astenia, anorexia, pérdida de peso, trastornos psiquiátricos como ansiedad o depresión, trastornos tiroideos, trastornos hematológicos (anemia que puede ser mixta por el interferón por depresión medular o hemolítica secundaria a la Ribavirina; leucopenia, neutropenia y plaquetopenia, secundarios al interferón).

También puede producirse afectación retiniana y de la disminución de la agudeza visual. Otro efecto secundario producido por la Ribavirina son reacciones cutáneas, sequedad de piel y tos. Los efectos secundarios son

responsables de que los clínicos tengan que realizar reajuste de la dosis tanto de interferón como de Ribavirina, reduciendo las dosis respecto a la dosis con la que iniciaron el tratamiento, que normalmente debe ser de forma escalonada para no impactar en las tasas de RVS.

En caso del interferón alfa-2a la reducción debe ser progresiva y escalonada bajando inicialmente a 135 mcg/sc/semanal y si es precisa nueva reducción a 90 mcg/sc/semanal. En el caso de la Ribavirina si esta precisa ser reducida, debe realizarse con reducciones de 200 mg., intentando que en biterapia sea reducida lo menos posible y en triple terapia como mucho no superar el 50% de la dosis con la que inicialmente comenzó el tratamiento.

Las reducciones de la dosis de Ribavirina en triple terapia no son tan relevantes como ocurre en biterapia, donde la tasa de recidiva se incrementa conforme esta se reduce. En caso de anemia que no responde con reducción de la dosis de Ribavirina es posible el inicio de estimuladores de la eritropoyesis (Epoetina alfa a dosis de 40000 UI/semanal), especialmente empleada en pacientes que durante el tratamiento la anemia es sintomática o alcanza un nivel de hemoglobina (Hb) inferior a 10 g/dl.

Si los pacientes presentan leucopenia, plaquetopenia o neutropenia

asociada o no a fiebre, además de reducir el interferón de forma escalonada, los pacientes pueden ser tratados con estimuladores de colonias granulocíticas tales como el Filgastrim a dosis de 300 mcg/sc/semanal, generalmente con buena respuesta al tratamiento.

3.8.2. TRIPLE TERAPIA DE PRIMERA GENERACIÓN

3.8.2.1. BITERAPIA + BOCEPREVIR

Boceprevir (Victrelis, Laboratorio Merck), está indicado para el tratamiento de la infección crónica de la hepatitis C (HCC) de genotipo 1, en combinación con peginterferón alfa y Ribavirina (PR) en pacientes adultos con enfermedad hepática compensada que no han recibido tratamiento previamente o en los que ha fracasado el tratamiento previo. Boceprevir es un inhibidor de la proteasa NS3 del VHC.

Boceprevir se une de manera covalente, aunque reversible, a la serina del sitio activo de la proteasa NS3 (Ser139) mediante un grupo funcional (alfa)-cetoamida para inhibir la replicación vírica en las células anfitrionas infectadas por el VHC. La dosis recomendada de Boceprevir es 800 mg (4 caps.) administrados por vía oral tres veces al día con alimentos (una

comida o un tentempié). La dosis diaria de Boceprevir es 2.400 mg.

Como reglas de parada para este régimen de triple terapia de 1ª generación tenemos las siguientes: independientemente del grado de fibrosis hepática, en caso de que el paciente presente en la semana 12 un ARN-VHC mayor de 100 UI/ml, se debe suspender la triple terapia, pues las posibilidades de curación son muy escasas. De igual forma, si el paciente en la semana 24, al igual como ocurría en biterapia presenta viremia detectable, debe también suspenderse la triple terapia.

Exclusivamente en los pacientes con fibrosis avanzada (Metavir F3-F4), aquellos pacientes que en semana 8 (1º mes de triple terapia con Boceprevir) tenga una viremia detectable con más de 1000 UI/ml, o bien haya presentado una caída de la carga viral respecto a la basal inferior a 3 log₁₀ UI/ml, se recomienda suspender la triple terapia.

También debe ser suspendida en aquellos pacientes que habiendo conseguido la indetectabilidad viral o haya presentado una reducción de la viremia en semana 8 de al menos 3 log₁₀ UI/ml, en el control virémico de la semana 12 no se haya mantenido la indetectabilidad o ésta no se haya conseguido.

La evidencia de la eficacia de Boceprevir se basa en 2 ensayos pivotaes, uno que incluyó pacientes con HCC-1 que no habían sido tratados previamente (pacientes naïve, estudio SPRINT-2) ⁵⁹ y otro con pacientes tratados previamente que no habían respondido a biterapia (estudio RESPOND-2) ⁶¹.

En ambos estudios los pacientes eran tratados antes de iniciar la triple terapia con Boceprevir, sólo con biterapia durante 4 semanas (periodo lead-in). Su cometido era que se alcanzaran unas concentraciones estacionarias tanto de Ribavirina como de interferón semanas y prevenir la aparición de mutaciones resistentes al Boceprevir al disminuir la carga viral. Además detectaría los pacientes con mayor riesgo potencial de desarrollar anemia una vez se iniciara la triple terapia.

En el ensayo SPRINT-2, se incluyeron 1099 pacientes distribuidos en 3 grupos (biterapia durante 48 semana, triple terapia guiada por la respuesta y triple terapia durante 48 semanas). En éste y otros estudios comparativos con biterapia, las tasas de RVS y RVR fueron superiores en los grupos que emplearon la triple respecto al grupo control tratado sólo con biterapia.

Mientras que en los pacientes naïve tratados con triple terapia con Boceprevir fue de un 63%, con biterapia sólo se alcanzaban unas tasas del 38%. En el estudio RESPOND-2, que incluyó 404 pacientes con HCC-1, que habían fracasado a biterapia (recidivantes y respondedores parciales), no incluyendo pacientes respondedores nulos. Se siguió el siguiente diseño, iniciando todos los grupos con una fase de lead-in con biterapia antes de iniciar la triple terapia con Boceprevir.

La RVS se alcanzó en un porcentaje significativamente superior de pacientes tratados con triple terapia con Boceprevir que en los de terapia estándar: mientras que las tasas de curación en los grupos tratados con triple terapia fue 66,5%, en el grupo con biterapia fue claramente inferior (21,3%).

Las mayores tasas de curación se alcanzaron con recidivantes (69-75%), seguidos de los respondedores parciales (40-52%), disminuyendo más en ambos grupos conforme el grado de fibrosis se incrementaba y si presentaban un genotipo 1a, siendo el colectivo con menor tasa de respuesta los respondedores parciales cirróticos. Las tasas de curación con triple terapia con Boceprevir no han sido tan buenas como las registradas en los ensayos pivotaes en cirróticos que había fracasado a biterapia y que

habían sido tratados en práctica real con Boceprevir.

Destacamos el estudio francés CUPIC ⁸⁹ que incluyó 212 pacientes cirróticos con fracaso a biterapia y que fueron tratados con triple terapia con Boceprevir. Un 41% tenían un genotipo 1a, un 64% una CVB alta. La tasa de RVS global fue del 43% (en recidivantes de 54%, en respondedores parciales del 38% y 0% en respondedores nulos). La tasa de recidiva post-tratamiento fue del 15% e intratratamiento del 9%. La Agencia Española del Medicamento, en base a intratratamiento del 9%.

La Agencia Española del Medicamento, en base a los resultados de este último estudio, ha recomendado no tratar con triple terapia de 1ª generación (Boceprevir o Telaprevir) a aquellos pacientes con 100000 plaquetas/mm³ y una albúmina basal inferior a 3,5 g/dl, ya que el riesgo potencial de complicaciones (descompensaciones hepáticas, infecciones, incluso muerte) es muy alto cercano al 50%. El coste de la triple terapia con Boceprevir es mayor que el que supuso la biterapia.

3.8.2.2. BITERAPIA + TELAPREVIR

Telaprevir (Incivo, Laboratorio Janssen), en combinación con peginterferón alfa y Ribavirina (triple terapia de 1ª generación), está indicado para el tratamiento de pacientes adultos con hepatitis C crónica (genotipo 1) con enfermedad hepática compensada, incluyendo cirrosis, que no han recibido ningún tratamiento previo (*naïve*) o que han recibido tratamiento previo con interferón alfa (pegilado o no pegilado) solo o en combinación con Ribavirina, incluidos pacientes recaedores, respondedores parciales o con respuesta nula.

El Telaprevir es un inhibidor de la proteasa de serina NS3-4A del VHC, una enzima esencial para la replicación del virus. La dosis recomendada de Telaprevir es 750 mg. (2 comprimidos) administrados por vía oral tres veces al día con alimentos (una comida o un tentempié).

La dosis diaria de Telaprevir es 2.250 mg. A pesar de que la dosis indicada en ficha técnica es de 750 mg. cada 8 horas, un estudio prospectivo, multicéntrico, aleatorizado y abierto, en fase II, con 161 pacientes naive, ha estudiado la dosis de 1.125 mg. (3 comprimidos) cada 12 horas⁹⁰.

El tratamiento triple, a diferencia de Boceprevir, no emplea lead-in, y en todos los casos, los 3 fármacos (Telaprevir + biterapia) van a ser administrados durante los 3 primeros meses de terapia, seguido de biterapia durante un tiempo variable, dependiendo de que se trate de un:

- 1) Sea cirrótico o no y de si presenta una respuesta virológica rápida extendida o no (la obtención de indetectabilidad durante todo el tratamiento a partir de la semana 4);
- 2) También, dependiendo de si se trata de paciente naïve o con un fracaso previo al tratamiento dependiendo del tipo de respuesta previa (recidivante, respondedor parcial o respondedor nulo).

Tiene menos reglas de parada que Boceprevir, siendo menos costo-efectivo, presentando 2: a) si el paciente tiene un ARN del VHC mayor de 1.000 UI/ml en la semana 4 o en la semana 12, suspender la pauta de los tres medicamentos y b) si el paciente tiene un ARN de VHC detectable confirmado en la semana 24 o 36, suspender todo el tratamiento.

La eficacia de Telaprevir en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1, se ha estudiado en 8 ensayos clínicos, en 3.594 pacientes: 5 estudios en pacientes naïve y 3 en pacientes tratados previamente que no

habían respondido al tratamiento. Los estudios en fase III son el ADVANCE, ILLUMINATE y REALIZE⁶².

El ensayo ADVANCE⁶⁰, es un estudio en fase III, multicéntrico, aleatorizado de superioridad frente al tratamiento convencional de la HCC en pacientes naive, de tres brazos paralelos: peginterferon alfa- 2a más Ribavirina durante 48 semanas; frente a Telaprevir durante 8 o 12 semanas junto biterapia estándar hasta un total de 24-48 semanas, en función de la respuesta virológica rápida extendida (eRVR), es decir, carga viral indetectable a la semana 4 y 12.

La tasa de RVS a las 24 semanas fue de 75% para el grupo T12PR, 69% para T8PR y 44% para el grupo placebo. Además de que ambos tratamientos con Telaprevir fueron superiores al placebo ($p < 0,001$), los pacientes que alcanzaron una eRVR (58%, 57% y el 8% respectivamente) acortaron su tratamiento de 48 a 24 semanas.

El ensayo ILLUMINATE es un estudio que evalúa la no inferioridad de la duración de biterapia de 24 semanas frente a 48 semanas, en pacientes naive con eRVR y tratamiento con 12 semanas de Telaprevir. De un total de 540 pacientes, el 72% de los pacientes presentaron RVR a la semana 4 y

el 65% una eRVR (viremia indetectable en semanas 4 y 12). En este estudio se demostró la no inferioridad de la duración de 24 semanas en pacientes naive con eRVR. En cambio en el subgrupo de pacientes con cirrosis (F4), la diferencia en el porcentaje de RVS es favorable a la duración de 48 semanas (67% vs 92%), no encontrándose esta tendencia en el caso de pacientes F3 (95% vs 86%).

El estudio REALIZE, cuyo objetivo principal era evaluar la eficacia y pacientes no respondedores o respondedores parciales o con recaída en un tratamiento previo con biterapia. La proporción de pacientes con RVS fue significativamente superior en los dos grupos de Telaprevir respecto al seguridad de añadir el Telaprevir a la terapia convencional con biterapia en grupo control (65% vs 17%). La ventaja de añadir el Telaprevir a la biterapia, en determinados subgrupos de pacientes la RVS sigue siendo muy pobre, como es el caso de no respondedores con subtipo 1a (27%) y no respondedores con cirrosis (14%)⁶².

Estos datos fueron confirmados en el estudio francés de práctica real (CUPIC) con pacientes cirróticos (F4) que no habían respondido previamente a biterapia. En él fueron sometidos a triple terapia con Telaprevir 299 pacientes cirróticos genotipo 1, de los que un 34% eran

genotipo 1a y el 62% tenían una CVB alta. Las mayores tasas de RVS acaeció en recidivantes (74%), seguido por respondedores parciales (40%) ya de lejos por respondedores nulos (19%). La tasa de recidivas post-tratamiento fue similar a la registrada con Boceprevir (14%), presentando una tasa mayor de recidivas intratratamiento (18%)⁸⁹.

3.8.3. TRIPLE TERAPIA DE SEGUNDA GENERACIÓN

3.8.3.1. BITERAPIA + SIMEPREVIR

El Simeprevir o TMC-435 (Laboratorio Tibotec)⁹¹ es un inhibidor de la proteasa NS3/4A del VHC, que en ensayos en fase IIa con una cápsula diaria de 150 miligramos demostró una potente actividad antiviral en los pacientes infectados con el genotipo 1 del VHC, teniendo además actividad frente a otros genotipos como el 2,4,5 y 6.

Ha sido ya aprobado para su uso en genotipo 1 por la FDA (Food and Drug Administration) y por la EMA (Agencia del Medicamento Europea), siendo comercializado en breve como “Olysio”, y se prevé que durante el 2014 pueda estar disponible para su uso en práctica clínica, estimándose que el coste medio en Estados Unidos que podría suponer tratar a un paciente con genotipo 1 podría ser en torno a 53.220 € por paciente.

En la figura 10 se expone el coste medio mensual comparativo entre interferón pegilado, Ribavirina y Simeprevir:

Figura 5. Coste medio mensual comparativo de Simeprevir respecto al coste medio mensual de Interferón pegilado y Ribavirina.

Pegylated IFN	680 €
Ribavirin	140 €
Simeprevir	16.100 €

Pegylated IFN (interferón pegilado); Ribavirin (Ribavirina); € (Euros).

Fuente: Asselah T, Marcellin P. Second-wave IFN-based triple therapy for HCV genotype 1 infection: simeprevir, faldaprevir and sofosbuvir. *Liver International* 2014; 34 Suppl 1: 60-8.

Entre los estudios que han demostrado la eficacia de la “triple terapia de 2ª generación” (biterapia en combinación con Simeprevir) destacamos los estudios PILLAR⁹¹, ASPIRE⁹², QUEST-1⁹³ y QUEST-2⁹⁴. TMC-435 una vez al día en combinación con peginterferón alfa-2a (pegIFN) / Ribavirina (RBV) asociada con la supresión viral rápida y potente en pacientes sin tratamiento previo con infección por genotipo 1 del VHC. La mayoría de los pacientes se beneficiaban de una terapia de menor duración que la biterapia (sólo 24 semanas). Se ha notificado elevaciones de bilirrubina leves y reversibles durante las primeras semanas de tratamiento con dosis 150 mg de TMC435, presentando unas tasas de anemia del 20%.

Las tasas de RVS en el estudio QUEST-1 en naïve genotipo 1 fueron del 80%, siendo en cirróticos naïve más baja (58%). En el estudio QUEST-2, las tasas de RVS en genotipo 1 fue similar (81%), siendo en este estudio algo mayor en cirróticos genotipo 1 naïve (65%). La tasa de RVS en recidivantes genotipo 1 fue del 85%, respondedores parciales (75%) y en respondedores nulos (51%)⁹⁴.

3.8.3.2. BITERAPIA + SOFOSBUVIR

Sofosbuvir o GS-7977 es un análogo nucleótido uridínico de gran potencia antiviral que inhibe la polimerasa NS5B del VHC dependiente de ARN que tiene una alta barrera genética a la resistencia. Se prevé que durante el 2014 sea aprobado y comercializado para práctica clínica. En combinación con interferón pegilado más Ribavirina es altamente eficaz en pacientes naïve con infección crónica por el VHC genotipo 1,4 y 6. En el estudio ATOMIC⁹⁵ presentaron unas tasas de RVS después de 12 semanas de triple terapia 4 y del 100% en genotipo 6.

En el estudio NEUTRINO⁹⁶, Sofosbuvir junto con interferón pegilado más Ribavirina durante 12 semanas presentó con Sofosbuvir entre el 90-92% en genotipo 1, siendo del 82% en genotipo una elevada tasa de

RVS frente los pacientes tratados sólo con biterapia en todos los genotipos incluidos en el estudio (1, 4,5 y 6). Presentaron unas tasas del 90% de forma global los pacientes tratados con triple terapia de segunda generación con Sofosbuvir comparado con biterapia estándar de 48 semanas (60%). Se alcanzaron tasas de RVS superiores o iguales al 80% en todos los grupos de pacientes, independientemente de la raza, del grado de fibrosis hepática y del genotipo de la IL-28B que presentara.

Las tasas de RVS en genotipos 4, 5 y 6 llegaron a ser cercanas al 100%. Todos los pacientes recibieron sólo 12 semanas de terapia triple de 2ª generación: Sofosbuvir 400 mg / día, peginterferón alfa-2a 180 mcg / semana y Ribavirina (1000-1200 mg / día).

Su coste medio por paciente es claramente superior a la biterapia (figura 11), estimándose que estará en torno a 54800 €, siendo el coste mensual similar al del Simeprevir.

Figura 6. Coste medio mensual comparativo del Sofosbuvir comparado con Simeprevir, Ribavirina o interferón pegilado.

Pegylated IFN	680 €
Ribavirin	140 €
Simeprevir	16.100 €
Sofosbuvir	18.650 €

Pegylated IFN (interferón pegilado); Ribavirin (Ribavirina); € (euros).

Fuente: Asselah T, Marcellin P. Second-wave IFN-based triple therapy for HCV genotype 1 infection: simeprevir, faldaprevir and sofosbuvir. Liver International 2014; 34 Suppl 1: 60-8.

3.8.3.3. BITERAPIA + FALDAPREVIR

Faldaprevir o BI-201135 es otro inhibidor de la proteasa NS3/4A (laboratorio Boehringer Ingelheim), que administrado una vez al día por vía oral es activo frente a los genotipos 1, 2,4, y 6. Destacamos el estudio STARTVerso 1⁹⁷ y STARTVerso 2, donde el 88% de los pacientes naïve genotipo 1 tratados con Faldaprevir con sólo 12 semanas de terapia triple de segunda generación seguidas de 12 semanas de biterapia estándar se alcanzaban unas tasas de RVS del 88%.

En los respondedores parciales genotipo 1 estaba en torno al 50%, mientras que en respondedores nulos bajaba al 35%⁹³. Entre sus acontecimientos adversos destacamos la elevación de la bilirrubina y la presencia de rash cutáneo.

3.9. CINÉTICA VIRAL DURANTE PRIMERAS SEMANAS

Los estudios de cinética viral se iniciaron en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana y posteriormente se aplicaron al tratamiento de la hepatitis crónica C. El estudio de la cinética viral requiere monitorizar muy a menudo los niveles de ARN-VHC y aplicar modelos matemáticos para evaluar los resultados. Básicamente consisten en realizar

determinaciones sucesivas de la carga viral (ARN-VHC) durante la fase temprana del tratamiento y, dependiendo de las caídas en las concentraciones de ARN-VHC, intentar predecir la respuesta o ausencia al tratamiento antiviral.

Los primeros estudios de cinética viral en la hepatitis crónica C evaluaban el efecto de distintas dosis de interferón alfa-2b en pacientes con hepatitis crónica C infectados por genotipo 1 midiendo los niveles séricos de ARN-VHC⁹⁸. A las 24 horas de administrar 3, 5 y 10 millones de UI de interferón estándar, el descenso en los niveles de ARN-VHC era dosis dependiente, y del 41%, 64% y 85%, respectivamente según la dosis.

Este efecto era menos intenso a las 48 horas, la reducción media en los niveles de ARN-VHC 23%, 62% y 74% respectivamente, indicando una pérdida del efecto terapéutico. Esta pérdida de respuesta era más importante con la dosis de 3 millones de UI, que en aquel momento era la dosis recomendada, y esto podría explicar los malos resultados de los estudios clínicos.

Esto se debía a que el interferón actúa inhibiendo la producción viral con distintos grados de eficacia, y la caída subsiguiente del ARN dependía de la eliminación de partículas virales libres, por lo tanto, el interferón

ejerce un efecto inhibitorio sobre la producción viral, bloqueando parcialmente dicha producción viral^{99,100}. También se ha analizado la cinética viral utilizando dosis distintas, 5, 10 y 15 millones de unidades de interferón alfa-2b administradas cada día¹⁰¹.

En estos estudios se observó que el interferón provocaba un patrón bifásico sobre la cinética viral. Una primera fase, interferón dosis dependiente, ocurría durante las primeras 24-48 horas del tratamiento. Esta fase se caracterizaba por ARN-VHC estables durante las primeras 8 horas y similares a los basales, seguida de una caída rápida en los niveles del ARN-VHC de 1 y 2 log₁₀ en las primeras 24-48 horas.

La estimación de eficacia absoluta de interferón, es decir, el porcentaje de producción de viriones bloqueados, fue del 81%, 95 % y 96% para las dosis de interferón de 5, 10 o 15 millones de unidades, respectivamente. Esta primera fase estaba producida por el bloqueo en la producción o liberación de partículas virales.

La segunda fase se caracterizaba por una caída más lenta y más variable de los niveles de ARN-VHC entre los días 2º y 14º del tratamiento, no siendo dosis-dependiente y que estaba estrechamente relacionada con la muerte o apoptosis de las células infectadas. La amplia variabilidad de esta

fase traducía la variabilidad en la vida media de las células infectadas y era el resultado de la respuesta inmune. Esta 2ª fase se correlacionaba inversamente con los niveles basales de ARN-VHC y directamente con los valores de transaminasas. La tasa de caída del ARN- VHC en la 2ª fase era altamente determinante de la erradicación viral precoz^{102,103}.

La aplicación de modelos matemáticos permitió estimar la vida media ($t_{1/2}$) del VHC en 2,7 horas, la producción y eliminación de viriones como de 10^{12} viriones/día y el tiempo medio en que las células infectadas mueren, que corresponde a una $t_{1/2}$ de 1.7 a 70 días¹⁰¹. Todos estos hallazgos demostraron que la infección por el VHC es altamente dinámica y la monitorización temprana de la carga viral podría ser de utilidad para diseñar tratamientos.

La cinética viral también ha sido estudiada con ambos interferones pegilados y comparada con el interferón estándar. En pacientes infectados por genotipo 1, el interferón pegilado alfa-2a produce el característico patrón bifásico observado con el interferón estándar, con una eficacia similar entre ambos compuestos para bloquear la producción viral¹⁰³.

Destacamos un estudio sobre cinética viral en el que se emplearon 2 dosis distintas de interferón pegilado alfa-2b durante las primeras semanas

asociado con Ribavirina en 55 pacientes con genotipo 1. Se observó que la inhibición en la replicación viral era dosis-dependiente durante las primeras 24 horas, siendo de 2,08 log₁₀ para la dosis de 3 µg/kg/semana y de 1,09 para la dosis de 0,5 µg/kg/semana¹⁰⁴. Después existía una segunda fase más variable en la que los niveles de ARN-VHC descendían de forma más lenta, y era muy variable entre los pacientes.

En la mayoría de los casos el patrón era bifásico, similar al que se observaba con interferón estándar, pero algunos pacientes presentaban un patrón trifásico, caracterizado por una 1ª fase de caída rápida y pronunciada durante las primeras 24-48 horas, seguido de una fase de estabilización o ligero incremento en los niveles ARN-VHC durante los 7-10 días siguientes y una 3ª fase caracterizada por un descenso paulatino y constante en los niveles de ARN-VHC¹⁰⁵.

El análisis matemático demostraba que la 2ª caída en los niveles de ARN se correlacionaba con la RVS, con un valor predictivo positivo y negativo del 100%¹⁰⁵. Posteriormente, Herrmann et al, analizó la cinética viral con peginterferon alfa-2a y Ribavirina, y observó que en el 61% de los casos existía un patrón trifásico que no era exclusivo del interferón pegilado y se caracterizaba por una 1ª caída rápida en las concentraciones

de ARN-VHC, seguida de una 2ª fase de estabilización y una tercera fase de caída lenta y progresiva que se correlacionaba con la eliminación viral¹⁰⁶. Esta última probablemente sea debida a un mecanismo inmune que todavía no ha sido probado. Paralelamente, Layden et al ha comparado la cinética viral entre pacientes afroamericanos y caucásicos infectados por genotipo 1, y han observado que los sujetos afroamericanos exhibían una menor habilidad para inhibir la producción viral y detectaban característicamente el patrón bifásico¹⁰⁷.

La mayoría de los estudios de cinética viral adolecen de deficiencias considerables, ya que se han realizado con un número pequeño de pacientes, por lo que es posible que existan errores estadísticos de tipo II; además, son difícilmente comparables porque el porcentaje de RVS entre los estudios es muy distinto y la nomenclatura que utilizan y la presentación de resultados no es uniforme.

Mientras que algunos estudios expresan los resultados en términos de eficacia del interferón (% de inhibición), otros utilizan logaritmos para expresar la caída en los niveles de ARN, y las 2 fases de caída del ARN viral no están claramente definidas. A pesar de estas limitaciones, las aportaciones de los estudios de cinética viral son importantes,

especialmente para diseñar nuevas estrategias terapéuticas y evaluar nuevos fármacos, por lo que todavía deben diseñarse nuevos estudios prospectivos con un número amplio de pacientes que evalúen dosis distintas de peginterferon y especialmente en pacientes infectados por genotipo 1.

Los sujetos que consiguen negativizar la viremia a la 4^a semana de terapia (respuesta virológica rápida, RVR) tienen altas probabilidades de alcanzar la RVS, incluso de reducir la duración de la terapia ¹⁰⁸, gracias a su elevado valor predictivo positivo (86-91%), sin embargo, tiene el inconveniente de que, además de ser infrecuente en genotipo 1 (10-30%), no sirve como regla de parada, debido a su bajo valor predictivo negativo (VPN=49-74%) ¹⁰⁹.

La cinética viral durante las primeras semanas de terapia antiviral juega un papel fundamental, condicionando las posibilidades de curación. La reducción virémica tras la 1^a dosis de interferón pegilado es dosis-dependiente y no todos los pacientes, dependiendo de su situación basal (fibrosis y/o CVB), van a presentar el mismo grado de sensibilidad viral al interferón administrado ¹¹⁰.

Las concentraciones máximas con interferón pegilado alfa-2a suelen alcanzarse a las 72 horas tras la primera dosis, momento en que podría

tener utilidad valorar el grado de reducción virémica alcanzado e intentar asociar este evento a sus posibilidades de alcanzar o no la curación, especialmente si empleáramos dosis altas (360 mcg) frente a una dosis estándar.

Diferentes estudios que emplearon dosis elevadas de interferón pegilado, el análisis del patrón cinético durante los primeros días, sí parecía reflejar el grado de sensibilidad al interferón, como predictor independiente de RVS ¹¹¹⁻¹¹³. Se han detectado regiones genómicas virales no estructurales 5A que son responsables de la sensibilidad viral al interferón (ISDR), que parecen modular las tasas de RVS ¹¹⁴.

3.10. METABOLISMO LIPÍDICO RELACIONADO CON HEPATITIS C

El VHC es un patógeno que usa las rutas metabólicas hepatocitarias para replicarse e introducirse dentro del hepatocito, empleando los receptores de las lipoproteínas ^{115,116}. Se han descrito 2 posibles vías de entrada hepatocitarias: 1) los receptores de lipoproteínas de baja densidad (receptor LDL-colesterol) ¹¹⁷, cuyos ligandos resultan de la actividad de la lipoprotein lipasa adipocitaria (LPL) ¹¹⁸. Esta enzima es la encargada de la

conversión de las “lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)”, ricas en triglicéridos segregadas desde el hepatocito al plasma, en “lipoproteínas de densidad intermedia (IDL)” y éstas, a su vez, a través de la lipasa hepática, en las definitivas LDL-colesterol resultantes ¹¹⁹. 2) La otra posible vía de entrada viral al hepatocito es el receptor Scavenger clase B tipo I (SR-B1), cuyo ligando lo constituyen las “lipoproteínas de alta densidad (HDL-colesterol)” ¹¹⁹.

Las concentraciones plasmáticas de LDL-colesterol basales y los cambios cinéticos acaecidos en el metabolismo de las lipoproteínas durante el tratamiento antiviral en los pacientes CHC-1 dependen del grado de actividad de la lipoprotein lipasa y de la secreción hepatocitaria de VLDL ¹²⁰. La actividad enzimática de la LPL durante el tratamiento juega un papel importante como limitador de la inhibición de la replicación viral, jugando un papel clave en las posibilidades de curación de estos pacientes.

3.11. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE RIBAVIRINA

La Ribavirina es un análogo sintético de la guanosina, ineficaz en monoterapia contra VHC, pero que asociado al interferón pegilado ejerce efectos antivirales distintos ^{121,122}: inhibición de la inosina-monofosfato deshidrogenasa, inhibición de la ARN polimerasa, hipermutagénesis,

efecto estimulador de genes relacionados con interferón, constituyendo un protagonista insustituible en muchos de los regímenes terapéuticos antivirales actuales, al disminuir la tasa de recidivas y la aparición de resistencias, especialmente en aquellos que no consiguen la indetectabilidad viral a la 4ª semana de terapia (ausencia RVR) ¹²³. Generalmente el estado de equilibrio estacionario se suele alcanzar en la semana 4 de tratamiento, con unas concentraciones plasmáticas medias de unos 2.200 ng/ml ¹²⁴.

La Ribavirina cuenta con dos vías metabólicas: una fosforilación reversible, y una vía de derribosilación e hidrólisis de la Amida, excretándose por la orina tanto la Ribavirina como sus metabolitos activos. Aunque las reducciones de dosis de Ribavirina en triple terapia suponen un impacto significativamente menor en las tasas de RVS que en los pacientes tratados con biterapia ¹²⁵, es imprescindible su empleo (ensayos PROVE 2 y 3) ^{126,127}. A diferencia con la biterapia, el impacto de las reducciones de Ribavirina en triple terapia para el control de la anemia va a ser mínimo, siempre que éstas se realicen de forma progresiva y escalonada y no supere más del 50% respecto a la dosis inicialmente establecida.

Debemos destacar que las tasas de curación son significativamente inferiores en determinados colectivos: cirróticos, respondedores parciales o nulos y genotipo viral 1a⁸⁹. Actualmente la dosis diaria de Ribavirina se establece según el peso. Sin embargo, Lindahl et al¹²⁸⁻¹³⁰ remarcó la importancia de realizar el ajuste diario de la dosis de este fármaco en función del aclaramiento de creatinina, demostrando que concentraciones plasmáticas de Ribavirina elevadas (mayores de 15 $\mu\text{mol/L}$) podían mejorar las tasas de RVS. Así diseñó una fórmula de ajuste pretratamiento de la dosis diaria de Ribavirina.

Otros autores han confirmado que mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina se han asociado a mayores tasas de RVR y RVS, estableciéndose diferentes puntos de corte óptimos para predecir la RVS, comprendidos entre 2-4 ng/ml^{131,132}. La concentración valle (C_{valle}) de Ribavirina ha sido cuantificada, utilizando un método de high-performance liquid chromatography (HPLC) con detector ultravioleta (HPLC-UV; Merck-Hitachi LaChrom, Tokio, Japón), validado por la Agencia Europea de Medicamentos (CPMP/ ICH/281/95)^{133,134}.

Lindahl en 2002, se pone de manifiesto que el aclaramiento de la

Ribavirina está fuertemente relacionado con la función renal. Estos autores recomiendan que la dosis de Ribavirina que tienen que recibir los pacientes se establezca en función de la tasa de filtración glomerular en lugar de exclusivamente el peso del paciente, que es como se suele hacer. Establecieron así, una fórmula matemática que establecía la dosis de Ribavirina diaria que debía recibir el paciente tratado con Ribavirina, según el grado de aclaramiento renal de ésta.

El aclaramiento de Ribavirina lo obtenían de multiplicar 0,122 por el aclaramiento de creatinina (Acla. Creat) en mililitros/minuto a lo que se le sumaba el peso en kilogramos del paciente por 0,0414. De esta forma, se obtenía el aclaramiento de Ribavirina (Acla. Riba). Ya con este valor era posible determinar la dosis diaria de Ribavirina que iba a precisar el paciente para alcanzar una determinada concentración plasmática de Ribavirina en micromoles/litro, la cual resultaba $0,244 \times (\text{Aclaramiento de Ribavirina}) \times 12 \times \text{concentraciones plasmáticas de Ribavirina que deseamos alcanzar}$.

Así, por ejemplo, para un paciente varón de 70 kg de peso, si el aclaramiento de creatinina era 120 ml/min, dependiendo de las

concentraciones plasmática de Ribavirina que deseáramos alcanzar (6, 10 o 14 micromoles/litro), se precisarían 600mg/día, 1000 mg/día o 1400 mg/día, respectivamente. Si en cambio, el paciente presentaba una menor tasa de aclaramiento de creatinina, por ejemplo, 60 ml/min, la dosis de Ribavirina diaria que precisaba para alcanzar una concentración plasmática de Ribavirina de 14 micromoles/litro era de 800 mg/día.

En un estudio previo realizado por estos investigadores, evidenciaron que la concentración plasmática media de Ribavirina que se alcanzaba para dosis terapéuticas de Ribavirina en rango de 800-1200 mg/día, era aproximadamente de 8,2 micromoles/litro. Así, si deseáramos obtener unas concentraciones plasmáticas de 10 micromoles/litro en el caso 1 se precisarían aproximadamente 1000 mg/día de Ribavirina, mientras que para el caso 2, con sólo 800 mg/día nos bastaría.

Si quisiéramos tratar a estos dos pacientes de una infección crónica por VHC genotipo 1, para el caso 1, según la ficha técnica del producto, al pesar más de 75 kg. de peso, lo trataríamos con 1200 mg/día de Ribavirina, es decir, lo estaríamos tratando con 200 mg más al día de lo que admite su tasa de filtración glomerular, algo que podría a la larga tener consecuencias

negativas (mayor riesgo de anemia hemolítica y mayor incidencia de retiradas prematuras). Por otro lado, el caso 2, según la ficha técnica tendríamos que tratarlo también con 1200 mg/día de Ribavirina, al pesar también más de 75 kg. de peso. Sin embargo, tiene una tasa de filtración glomerular claramente más baja que el anterior, pese a tener la misma cifra de creatinina sérica y altura, con la diferencia que se trata de una persona con más edad y menos peso que el caso 1.

Según la ficha técnica del producto, al tener también más de 75 kg. de peso, le correspondería tomar 1200 mg/día de Ribavirina. Sin embargo, lo que le admite su tasa de filtración glomerular para alcanzar las mismas concentraciones plasmáticas de Ribavirina sólo son 800 mg/día, es decir, 400 mg./día menos de los que en realidad va a recibir si nos ceñimos a la práctica clínica diaria. De ahí, la importancia de valorar este parámetro en los pacientes que vayamos a incluir en nuestro estudio y, en especial, al ser una variable que no se contempla ni controla en la práctica clínica de estos pacientes.

Por otro lado, destacamos otro estudio llevado a cabo por Jen et al en el año 2000 y publicado en la misma revista científica, en la cual se puso de

manifiesto como al incrementarse las concentraciones plasmáticas de Ribavirina las tasa de respuesta virológica iban aumentando, de forma que, si las concentraciones séricas estaban comprendidas entre 1 y 1,5 nanogramos/ml la tasa de RVS media era tan solo de 30,9% ¹²⁹.

Sin embargo, cuando se alcanzaban concentraciones plasmáticas más elevadas, es decir, su valor se encontraba comprendido en rangos que oscilaban entre 2-2,5 ng/ml, 2,5-3 ng/ml o 3-3,5 ng/ml, las tasas de RVS media encontradas para cada uno de estos rangos eran respectivamente de 39,8 %, 45,2 % o 43,3 %.

3.12. IMPACTO ECONÓMICO DE LA INFECCIÓN POR VHC

El pico máximo de incidencia de hepatitis crónica por VHC ocurrió hace 23-31 años cuando se realizaban transfusiones sanguíneas de donantes infectados y comenzó el consumo de drogas por vía parenteral. Este hecho va a ser responsable que a lo largo de las próximas décadas vaya aumentando la incidencia acumulada de cirrosis hepática, descompensaciones hepáticas, hepatocarcinoma y la demanda de trasplante hepático. En la figura 7 se puede visualizar los costes derivados de las complicaciones relacionadas con la progresión de la fibrosis en la hepatitis crónica por VHC ¹³⁵.

Figura 7. Coste de complicaciones por la infección por el virus de la hepatitis C.

• Coste Trasplante hepático:	201.110 \$
• Coste Hepatocarcinoma:	23.755-44.200 \$
• Coste HDA por varices:	25.595 \$
• Coste Cirrosis compensada	585-1110 \$
• Coste Ascitis refractaria:	24.755 \$
• Coste Encefalopatía hepática	16.430 \$
• Coste Ascitis respondedora:	2.450 \$
• Coste Hepatitis Crónica Leve:	145 \$

HDA (hemorragia digestiva alta); \$ (dólares).

Fuente: El Khoury AC, Klimack WK, Wallace C, Razavi H. Economic burden of hepatitis C-associated diseases in the United States. *J Viral Hepatitis* 2012; 19: 153-160.

La obtención de la RVS gracias al empleo de las terapia antivirales reduciría por 3 la mortalidad en estos pacientes, la incidencia de hepatocarcinoma por 4, la indicación de trasplante hepático por 13 y el riesgo de descompensación hepática por 14¹³⁶.

3.13. MODELOS PREDICTIVOS DISEÑADOS EN HEPATITIS C

La terapia de elección para pacientes con hepatitis crónica por VHC genotipo 1 es la triple terapia antiviral de 1ª generación (biterapia en combinación con Boceprevir o Telaprevir) en el momento actual, al ser más eficaz que la biterapia, tal como se establece en la última versión de guías de práctica clínica de la Asociación Americana y Europea de

Hepatología^{137,138}. Sin embargo, en pacientes con baja CVB (menor de 400000 UI/ml), que alcanzan la RVR, con sólo 24 semanas de biterapia es suficiente para alcanzar la RVS¹³⁹. En estos pacientes la biterapia es la mejor opción. De acuerdo a las guías de práctica francesa se considera de 1ª elección la biterapia a los pacientes genotipo 1 con factores predictivos favorables de respuesta¹⁴⁰.

Un ensayo recientemente publicado ha confirmado estas recomendaciones¹⁴¹. En este estudio fueron incluidos 233 pacientes naïve genotipo 1 no cirróticos (F0-F3), que tenían una CVB baja (menor de 600000 UI/ml) y fueron sometidos a un lead-in con biterapia, alcanzando 101 pacientes la RVR (48%), los cuales fueron randomizados a recibir 20 semanas más con biterapia estándar (interferón pegilado + Ribavirina según peso) o 24 semanas con triple terapia de 1ª generación con Boceprevir (Boceprevir + interferón pegilado + Ribavirina según peso).

La tasa de curación fue similar en ambos grupos (88% frente a un 90%), independientemente del subtipo viral (1a o 1b), genotipo IL-28B (CC o CT/TT) o raza que tuviera el paciente. La incidencia de efectos adversos también fue similar, con tasas de reducción de las dosis de Ribavirina similares (del 33% en ambos grupos) o de suspensión precoz

(8% frente a un 6%). Estos resultados ponen de manifiesto que la adición a la biterapia de un inhibidor de la proteasa no aporta ningún beneficio en pacientes naïve, no cirróticos, con CVB baja, que alcanzan en la 4^a semana la RVR.

Sin embargo, la accesibilidad de estos fármacos no es igual en todas las regiones del mundo, por su incremento del coste respecto a la biterapia, ya que es frecuente la necesidad de emplear estimuladores de la granulocitosis y de la eritropoyesis, que a su vez incrementan todavía más los costes, sin olvidar que la triple terapia constituye una terapia no exenta de riesgos (posibilidad de insuficiencia hepática, infecciones, incluso exitus).

Actualmente no existen modelos predictivos de respuesta al tratamiento antiviral basado en puntuaciones, que permita clasificar a los pacientes naïve en bajo, medio y alto riesgo de fracaso terapéutico. Sería útil definir qué pacientes podrían curarse simplemente con una terapia antiviral dual, más barata, con menos efectos secundarios que la triple terapia antiviral, incluso con una duración más corta (24 semanas en lugar de 48 semanas, biterapia reducida).

De igual forma, sería muy importante detectar con una nueva

herramienta diagnóstica aquellos pacientes, en los que la biterapia antiviral es ineficaz, y que justifique el empleo de regímenes terapéuticos más potentes (triple terapia de 1ª generación): biterapia en combinación con Boceprevir o Telaprevir; o bien la triple terapia de 2ª generación que está a punto de ser aprobada para práctica clínica (biterapia en combinación con Sofosbuvir, Simeprevir o Faldaprevir).

Se han diseñado diferentes modelos predictivos de respuesta para pacientes con hepatitis crónica C. La variable más empleada para su diseño fue el genotipo de la IL-28B, siendo combinada ésta con otros factores predictivos independientes de RVS. En el modelo predictivo diseñado por O'Brien TR et al, además de la variable genética se empleó la carga viral, el cociente AST/ALT, la puntuación del grado de fibrosis ISHAK, y el tratamiento previo con Ribavirina ¹⁴².

En otro modelo se emplearon 2 polimorfismos genéticos: el de la IL-28B y el de muerte celular programada 1.3/A (Programmed Cell -1, PD-1.3/A): los pacientes que presentaban un genotipo CC de la IL-28B y portaban además un alelo A de PD-1.3, las posibilidades de alcanzar la RVS eran de hasta un 93.3% ¹⁴³. Otros modelos predictivos lo que han pretendido es seleccionar a los pacientes que fueran a alcanzar la RVR o

respuesta virológica precoz completa (RVPc, negativización de la viremia al 3º mes de biterapia). Desarrollaron 7 subgrupos, categorizando la probabilidad de alcanzar la RVR y/o RVPc en baja, intermedia y alta. Se emplearon para ello, 3 factores metabólicos (ausencia de esteatosis, unas concentraciones plasmáticas basales de lipoproteínas de colesterol de baja densidad, LDL-colesterol mayor o igual de 100 mg/dl, una glucemia basal menor de 120 mg/dl), un parámetro bioquímico hepático (GGT menor de 40 U/litro) y, una edad menor de 50 o 60 años ¹⁴⁴.

En coinfectados VHC-VIH también destacamos la elaboración de una herramienta diagnóstica denominada índice Prometheus por el grupo español de Medrano et al ¹⁴⁵, que además del genotipo IL-28B, emplea el grado de fibrosis hepática determinado mediante FibroScan (en kilopascasles), el genotipo viral y la CVB (en UI/ml), facilitándote la probabilidad de alcanzar la RVS de forma personalizada.

Otros autores diseñaron un modelo predictivo de respuesta a la biterapia basado en factores predictivos independientes como un valor basal de IP-10 menor de 150 pg/ml o bien menor o igual a 600 pg/ml, estableciendo 3 subgrupos de pacientes con genotipo 1: aquellos con una CVB mayor o igual de 2000000 UI/ml; b) aquellos con un índice de masa

corporal (IMC) mayor o igual de 25 kg/m^2 y c) aquellos que tienen a la vez estos 2 factores ¹⁴⁶.

Entre los modelos predictivos más relevantes y con mayor poder pronóstico para predecir la RVS son aquellos que conjugan el genotipo de la IL-28B (presencia de genotipo CC), un valor de IP-10 basal menor de 150 pg/ml , así como la presencia de la RVR ¹⁴⁷.

CAPÍTULO IV

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

CAPÍTULO IV: HIPÓTESIS Y OBJETIVO

4.1. HIPÓTESIS

Con la aprobación en 2011 de los nuevos antivirales de acción directa (AAD), Boceprevir y Telaprevir, se ha conseguido incrementar las tasas de curación respecto a la biterapia, tanto en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1 naïve (estudios SPRINT-2 y ADVANCE), como en no respondedores previos a biterapia (estudios REALIZE, RESPOND-2). Aunque actualmente constituye la terapia de elección en este colectivo, su eficacia es significativamente menor en determinados subgrupos: pacientes cirróticos, especialmente si son genotipo 1a, o si son respondedores parciales o nulos.

Estos fármacos no están exentos de riesgos. Respecto a la biterapia son responsables de una mayor tasa de efectos secundarios: mayores tasas de anemia y un mayor empleo de estimuladores de la eritropoyesis, mayores necesidades transfusionales, reacciones cutáneas graves (Telaprevir), riesgo de descompensaciones hepáticas e infecciones, así como la aparición de resistencias e interacciones. Además, en un momento de grave crisis económica como el que estamos viviendo actualmente, como consecuencia del incremento del gasto farmacéutico que han generado estos nuevos fármacos, algunas administraciones sanitarias se

han visto obligadas a racionalizar la indicación de la triple terapia en determinados colectivos, buscando una gestión más eficiente de los recursos sanitarios, así como la elaboración de algoritmos terapéuticos que difieren, dependiendo del país o región que se trate.

En espera de la llegada de las nuevas combinaciones terapéuticas libres de interferón (estudios LONESTAR Y ELECTRON), sería de utilidad diseñar una nueva herramienta diagnóstica de ayuda para la toma de decisiones terapéuticas en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1. Ésta podría tener especial utilidad, fundamentalmente en pacientes que fueran a ser sometidos a una fase de lead-in (Boceprevir, respondedores nulos) o colectivos de pacientes con peores tasas de respuesta (cirróticos o genotipo 1a), en función de las puntuaciones obtenidas de aplicar las diferentes escalas predictivas empleadas.

Debería, además, estar dotada de un alto valor predictivo positivo y negativo, permitiendo clasificar a nuestros pacientes, antes de someterlos a nuevos regímenes antivirales, en pacientes con bajo, medio y alto riesgo de fracaso terapéutico a la biterapia, dependiendo de las puntuaciones obtenidas.

Esta herramienta estaría dotada de nuevas reglas de parada, que permitiría suspender la biterapia en aquellos sujetos que no se iban a curar

con ella en fases muy precoces, detectando aquellos sujetos en los que sería mejor tratarlos con terapias antivirales más potentes, con mejor relación riesgo/beneficio (triple terapia de 1º o 2º generación).

Sería muy importante para la práctica clínica, definir con nuestra herramienta, aquellos sujetos que podrían beneficiarse de recibir sólo biterapia reducida (24 semanas), con objeto de maximizar la eficiencia y seguridad, partiendo del hecho que la tasa de RVR es baja en este colectivo y el que se produzca no te garantiza la curación del paciente.

En esta línea, planteamos la siguiente **HIPÓTESIS NULA**: la combinación de factores basales y cinéticos viro-lipídicos en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1 para el diseño de una nueva herramienta diagnóstica de ayuda a la toma de decisiones NO va a permitir la obtención de reglas de parada con elevado valor predictivo negativo que permita detectar en fases precoces del tratamiento que pacientes no van a alcanzar la respuesta virológica sostenida (evento primario).

Se define como evento primario la obtención de respuesta virológica sostenida o curación virológica (indetectabilidad viral a los 6 meses de haber finalizado la terapia dual). A partir de este momento nos referiremos como “Evento Primario” a esta variable.

De forma arbitraria, nos referiremos al grupo que presenta eventos como grupo principal y al grupo libre de eventos como grupo de referencia ($H_0: p \text{ Grupo Principal} = p \text{ Grupo de Referencia}$).

4.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

4.2.1. OBJETIVO GENERAL

Valorar si la combinación de factores predictores basales y cinéticos viro-lipídicos, en pacientes con hepatitis crónica por VHC genotipo 1, constituyen predictores independientes con elevado valor predictivo negativo que permita la detección precoz del fracaso terapéutico con terapia dual (evento primario), gracias al diseño de una nueva herramienta diagnóstica de ayuda a la toma de decisiones durante las primeras semanas de terapia antiviral, basada en puntuaciones y nuevas reglas de parada.

4.2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Valorar las variables basales, virológicas y lipídicas que podrían ser empleadas para el diseño de las 3 escalas predictivas.
2. Determinar los puntos de corte óptimos de las diferentes variables significativas que mejor pronostique la incidencia de curación virológica.

3. Conocer qué variables se correlacionan con las concentraciones plasmáticas de Ribavirina al 1º mes de biterapia.
4. Estudiar si una variable como el cortisol se comporta como predictor independiente de RVS.
5. Valorar si los pacientes pertenecientes a Niveles de Exigencia Fibrovirológica y Niveles de Exigencia Lipídico elevados se asocian a peores tasas de curación.

4.2.3. OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Analizar los costes directos generados por la terapia antiviral en los pacientes incluidos.
2. Valorar la seguridad y tolerancia de la dosis de inducción de interferón pegilado.
3. Calcular los costes potenciales totales que hubiera generado la aplicación de nuestra herramienta en los pacientes estudiados.

CAPÍTULO V

METODOLOGÍA

CAPÍTULO V: METODOLOGÍA

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo, randomizado, con enmascaramiento a doble ciego. Se analizaron 99 pacientes HCC-1, aleatorizando una 1ª dosis enmascarada de inducción (PDI) de interferón pegilado alfa-2a (40 KD) de 360 microgramos subcutáneos (Pegasys; Roche, Basel, Suiza) frente a una 1ª dosis estándar de interferón pegilado (180 mcg/sc) subcutánea (sc) + Ribavirina 1000 mg/día (si peso corporal < 75 kg) o Ribavirina 1200 mg/día (si peso \geq 75 kg), seguido a partir de la 2ª semana de biterapia (interferón pegilado 180 mcg/sc/semana + Ribavirina según peso) durante 47 semanas.

Todos los pacientes recibían una primera inyección subcutánea con 180 mcg de interferón pegilado, seguida de un 2º vial enmascarado a doble ciego que contenía el mismo volumen y estaba etiquetado de forma idéntica: mientras los del grupo de inducción recibían 180 mcg adicionales, los del grupo de dosis estándar, placebo con suero fisiológico. Se empleó una PDI con objeto de discriminar mejor aquellos sujetos más sensibles al fármaco, en los que posiblemente la inhibición viral dosis-dependiente producida sería mayor.

Aquellos sujetos que desarrollaron leucopenia se autorizó el uso de Filgastrim (300 mcg/sc/semana) y, si la hemoglobina era inferior a 10 g/dl, Epoetina alfa (40000 UI/semana/sc).

Partiendo del hecho que los pacientes con mayor CVB y fibrosis hepática son los más difíciles de curar a priori con biterapia, consideramos que para que éstos pudieran alcanzar la RVS necesitarían una reducción virémica máxima durante la 1ª semana, bien al 3º o 7º día de biterapia (valor de RV1) mayor que la que precisarían los sujetos con menor grado de fibrosis (Metavir F0-F3) y/o CVB.

Los pacientes fueron asignados a uno de los 5 Niveles de Exigencia Fibro-virológica que diseñamos, según el grado de fibrosis y CVB que tuvieran y seleccionamos el punto de corte para la variable RV1 que mejor predecía la RVS en cada NEF, empleando para ello la curva COR resultante.

Si la reducción virémica máxima alcanzada durante la 1ª semana de biterapia (valor RV1) era al menos igual o superior al establecido para dicho NEF, estableceríamos que había sido alcanzada la Respuesta Virológica de la Primera Semana (RVPS), asignándole una puntuación positiva en la Escala Virológica, mientras que si no la había alcanzado

obtendría una puntuación negativa. Por otro lado, partiendo de la hipótesis de que los sujetos más difíciles de curar precisarían unas concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia (mLDLc) más elevadas, como indicador de una buena actividad enzimática de la lipoprotein lipasa, diseñamos también 5 Niveles de Exigencia Lipídicos (NEL), dependiendo del grado de fibrosis, CVB y la variable ratio de infectividad, a los cuales eran asignados.

Seleccionamos diferentes puntos de corte para la variable mLDLc en cada uno de los NEL, empleando la curva COR resultante, de forma que aquellos sujetos que conseguían mantener una mLDLc al menos igual o superior al punto de corte establecido en dicho NEL, presentarían un Metabolismo Lipídico Favorable (MLF), asignándole una puntuación positiva en la Escala Lipídica, mientras que si no lo conseguía se le puntuaría negativamente.

Las muestras eran congeladas en el laboratorio del hospital Juan Ramón Jiménez hasta que se dispusieran de al menos 40 muestras distintas, a través de la mensajería especializada en el transporte de muestras biológicas. Durante todo el estudio, tuvieron lugar un total de 2 envíos al Laboratorio de Biología Molecular del Hospital Carlos III de Madrid, para

su determinación, respetando en todo momento la confidencialidad de los pacientes, siendo identificadas las muestras sólo con las iniciales de los pacientes. Los resultados nos fueron remitidos, siguiendo la ley de protección de datos.

5.2. TAMAÑO MUESTRAL

Determinamos el mínimo tamaño muestral para la realización del estudio, fijándose en 50 pacientes en cada grupo (grupo A o grupo de referencia y grupo B o grupo principal). Este valor fue calculado considerando un error α del 5% y un error β del 20%.

Puesto que no se dispone de información sobre la variabilidad de la proteína IP-10, se consideró una precisión absoluta en términos relativos de la desviación típica $\delta = 0,57 \sigma$, la única solución existente para determinar tamaños muestrales en tales situaciones (se desconoce σ y no hay estimación de ella).

La solución utilizada es aproximada y requerirá una comprobación final una vez tomadas las muestras de tamaño $n_1 = n_2 = 50$ en el caso de aceptar la no diferencia estadística, ya que si se detecta diferencia significativa, el aumento del tamaño muestral nos llevaría a la misma conclusión que obtuvimos con el tamaño prefijado. El paquete utilizado

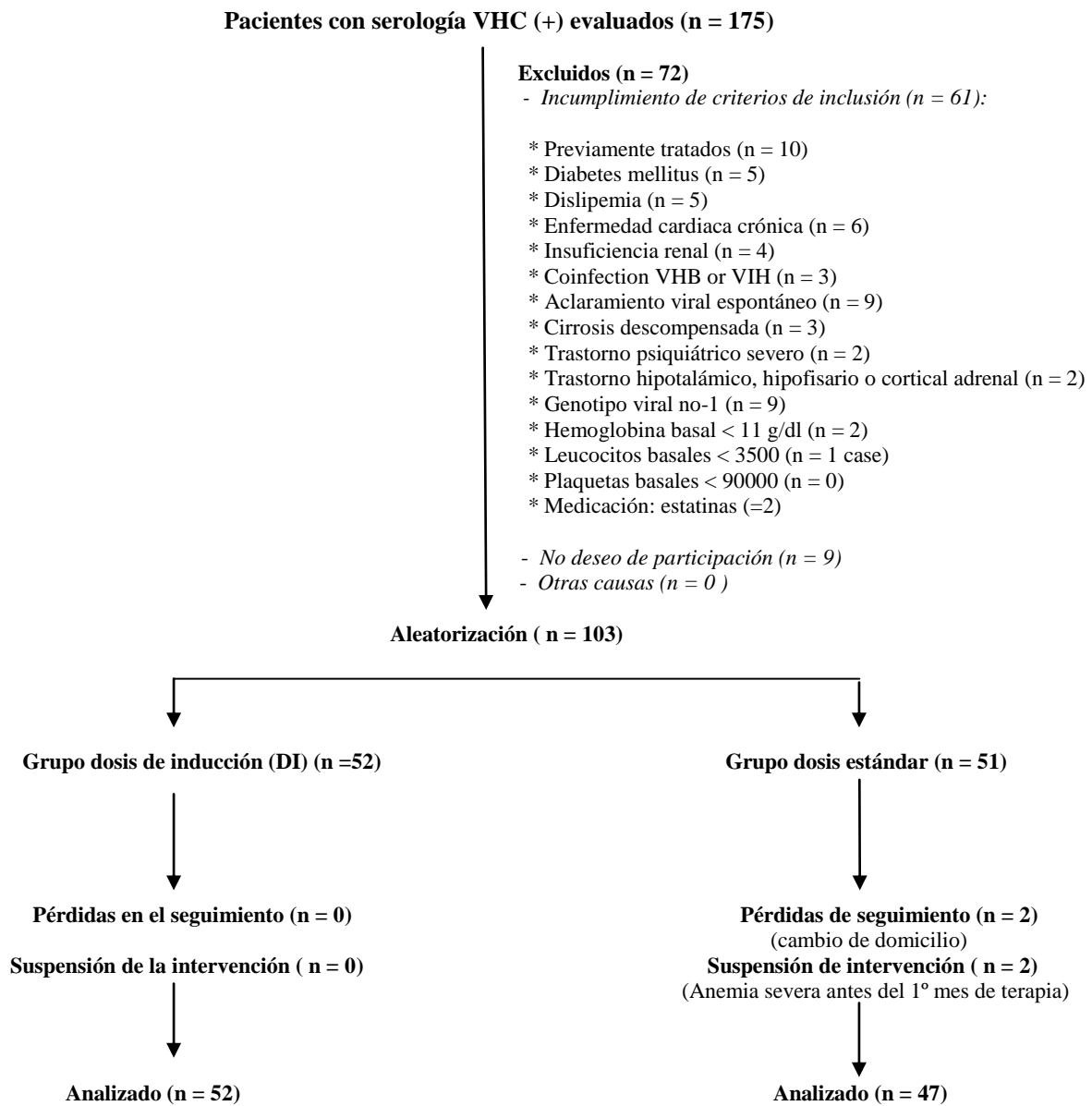
para la determinación de este tamaño de muestra, así como la determinación del cálculo del mínimo tamaño muestral necesario para el diseño de los 5 Niveles de Exigencia Fibro-virológico (NEF) y 5 Niveles de Exigencia Lipídico (NEL) se realizó con el programa nQuery Advisor versión 7.0.

5.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

De los 169 pacientes evaluados, finalmente fueron incluidos y analizados 99 pacientes con hepatitis crónica por VHC genotipo 1, sin antecedente de descompensaciones hepáticas y ausencia de lesiones hepáticas en la ecografía abdomen en los 3 meses previos a su inclusión. Todos eran de etnia caucásica, salvo 2 sujetos de Latinoamérica. No se incluyeron aquellas mujeres gestantes o en situación de lactancia, así como los varones cuya pareja estuviera embarazada.

En la figura 8 se puede visualizar el diagrama de flujo de pacientes que tuvimos durante todo el periodo de inclusión y durante el desarrollo del estudio. Como se puede ver en él fueron excluidos 72 pacientes por diferentes causas, tal como se expone en dicha figura, con su casuística correspondiente. Finalmente de ellos, 103 fueron los que fueron sometidos a la aleatorización de la dosis de inducción y de ellos 99 fueron los que finalmente fueron analizados.

Figura 8. Diagrama de flujo de pacientes del estudio.



VHC (virus de la hepatitis C); n (número de individuos); VHB (virus de la hepatitis B); VIH (virus de inmunodeficiencia humana); g/dl (gramo/decilitro); DI (dosis de inducción).

5.4. PACIENTES Y EVALUACIÓN CLÍNICA-ANALÍTICA

Entre Enero del 2009 y Junio del 2012 fueron evaluados 169 pacientes con estudio serológico positivo para el VHC en la Unidad de Hepatología del Área Hospitalaria Juan Ramón Jiménez (Huelva, España), centro sanitario que ofrece cobertura sanitaria a una población de 262000 habitantes. Fueron incluidos y analizados 99 pacientes con hepatitis crónica por VHC genotipo 1.

El seguimiento de cada paciente fue de 72 semanas, con un periodo de tratamiento de 48 semanas. Con el fin de homogeneizar los datos clínicos y poder cumplir con los objetivos propuestos, se realizaron, además de las visitas de selección y basal, las correspondientes a las 72 horas y semanas 1, 4, 8, 12, 24, 36 y 48 semanas.

En las tablas 2a y 2b exponemos el planning de las diferentes visitas que tuvieron lugar a lo largo de la realización del estudio, así como las evaluaciones clínicas y analíticas a las que fueron sometidos los pacientes incluidos y analizados. Durante el estudio, el investigador procedió a la realización de dicho procedimiento si la casilla estaba marcada con una “x”, tal como podemos ver a continuación.

Tabla 2a. Listado de procedimientos diagnósticos durante el periodo de reclutamiento, inclusión y seguimiento durante el estudio

EVALUACIÓN/ PROCEDIMIENTO	Previo a la inclusión	Basal	TRATAMIENTO							Seguimiento
			72 horas	1 semana	2 semana	4 semana (RVR)	12 semanas (RVP)	24 semanas	48 semanas (RFT)	
Consentimiento informado	X									
Historia clínica/ (**)/Ex. Fís. /Rx tórax/ECG	X									
Biopsia hepática	X									
IMC	X	x				x	x	x	x	X
Test de gestación	X	x			x	x	x	x	x	X
Genotipo VHC	X									
RNA-VHC (PCR)	X	x	x	X		x	X	x	x	X
Hematología	X	x	X	x	x	x	X	x	x	X

RVR (respuesta virológica rápida); RVP (respuesta virológica precoz); RFT (respuesta virológica de final de tratamiento); RVS (respuesta virológica sostenida); Ex. Fis. (exploración física); Rx (radiografía); ECG (electrocardiograma); IMC (medir índice de masa corporal); VHC (virus de la hepatitis C); RNA-VHC (viremia o carga viral del virus C); PCR (reacción en cadena de polimerasa).

Tabla 2b. Listado de procedimientos diagnósticos durante el periodo de reclutamiento, inclusión y seguimiento durante el estudio

EVALUACIÓN	Previa al tto.	Basal	TRATAMIENTO						Seguimiento	
			Semana 0	72 horas	1 semana	2 semana	4 semanas (RVR)	12 semanas (RVP)	24 semanas	48 semanas (RFT)
Bioquímica (*)	X	x	x	x	x	x	x	x	x	X
Análisis de orina	X	x	x	x	x	x	x	x	x	X
Medicación	X	x	x	x	x	x	x	x	x	X
Acontecimientos adversos	X	x	x	x	x	x	x	x	x	X
proteína IP-10		x								
Cortisol		x	X	X	X	X				
Lipoproteínas		x	x	x	x	x				
Índice HOMA	X					x		x		X
Concentraciones plasmáticas de Ribavirina						X				

RVR (respuesta virológica rápida); RVP (respuesta virológica precoz); RFT (respuesta virológica de final de tratamiento); RVS (respuesta virológica sostenida); HOMA (homeostasis model assessment); tto (tratamiento).

5.5. VARIABLES DEL ESTUDIO

Las **variables dependientes** son las siguientes:

- Evento primario (dicotómica). Presencia de respuesta virológica sostenida (RVS) o curación virológica. Este va a tener lugar cuando el paciente alcance la indetectabilidad viral a las 72 semanas de haber iniciado la terapia dual (6 meses después de haberla finalizado).
- Respuesta Virológica Rápida o RVR (dicotómica). Definida como la obtención de la indetectabilidad virémica en la 4^o semana de terapia antiviral dual.
- Respuesta Virológica Precoz o RVP (dicotómica). Respuesta virológica que se alcanza a las 12 semanas de terapia dual si el paciente reduce su viremia al menos $2 \log_{10}$ UI/ml respecto a la carga viral basal (CVB).
- Respuesta Virológica de final de tratamiento o RVFT (dicotómica). Respuesta virológica que se alcanza si el paciente finaliza la terapia antiviral dual con indetectabilidad viral.

Respuesta Virológica de la Primera Semana (dicotómica). Respuesta virológica que se alcanza si el paciente presenta la reducción virémica al 3^o o bien al 7^o día de terapia dual exigida en el Nivel de Exigencia Fibroviroológico (NEF) al que haya sido asignado, según su grado de fibrosis hepática y carga viral basal (CVB).

- **Metabolismo Lipídico Favorable (dicotómica).** Definido como una cinética lipídica durante el 1º mes favorable, al haber conseguido mantener el paciente durante este periodo una concentración plasmática media de lipoproteínas de colesterol de baja densidad (LDL-c) al menos igual o superior a la que se exigía para el Nivel de Exigencia Lipídico (NEL) al que ese paciente había sido asignado, dependiendo del grado de fibrosis hepática, carga viral basal (CVB) y el valor del ratio de infectividad alcanzado durante el 1º mes de terapia antiviral.

Las **variables independientes.**

- Edad (años).
- Sexo.
- Grado de fibrosis hepática (dicotómica). Los análisis se realizaron entre fibrosis hepática no significativa (F0-F2) o fibrosis significativa (F3- F4). También se podrían realizar entre cirróticos (F4) o no cirróticos (F0-F3). Se realiza mediante la realización de una biopsia hepática mediante control ecográfico, y establecer el grado de inflamación histológica, grado de fibrosis y el grado de esteatosis.

- Esteatosis hepática (cualitativa ordinal). El grado de esteatosis hepática se define histológicamente por el tanto por ciento de hepatocitos que contienen partículas grasas en su interior (Sistema de puntuación histológica de Desmet: grado 0 (ausencia), leve (< 33 % hepatocitos), moderada (< 33-66 % hepatocitos) y severa (> 67 % hepatocitos afectados).
- La detección del anticuerpo frente al VHC (anti-VHC) en suero (cualitativa dicotómica). Se realiza mediante técnicas de enzimoimmunoanálisis (EIA) de 3ª generación basados en la captura de anticuerpos contra epítomos presentes en proteínas recombinantes (core, NS3, NS4 y NS5) fijadas a pocillos de microplacas o microesferas adaptadas a sistemas automáticos cerrados.
- Genotipo del VHC (cualitativa no dicotómica). Se realiza mediante métodos comerciales basados en hibridación inversa del producto amplificado con sondas genotipo-específicas de la misma región fijadas a un soporte de nitrocelulosa (INNO-LIPA HCV II; Immunogenetics, Ghent, Bélgica).
- Para la detección del RNA del VHC circulante (cuantitativa continua). Se emplean técnicas moleculares de amplificación cualitativas, que consisten en la síntesis de numerosas copias (amplicones) del genoma viral mediante

una reacción enzimática cíclica mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR). Como técnica cuantitativa los valores de RNA-VHC séricos se determinaron empleando una PCR a tiempo real (Test HCV Cobas Amplipred/Cobas Taqman), límite de detección 15 UI/ml; Roche Diagnostics, Basel, Suiza).

Se determinó la viremia basal (CVB), carga viral del 3º y 7º día (obtención del valor RV1), semanas 4, 12, 24 y 48 y a los 6 meses post-tratamiento (presencia o no de RVS). La prueba está basada en tres procesos principales: 1) preparación de la muestra para aislar el ARN del VHC, 2) transcripción reversa del ARN objetivo para generar ADN complementario (ADNc) y 3) amplificación mediante PCR del ADNc objetivo y detección simultánea de una sonda de detección oligonucleótida doblemente marcada y escindida, específica del objetivo.

Tiene un límite inferior de detección de 15 UI/ml, siendo su intervalo lineal comprendido entre 43 IU/ml y hasta $6,9 \times 10^7$ (aprox. 8 millones de IU/ml), no siendo preciso diluir los sueros. Esta prueba está estandarizada frente al primer patrón internacional de la OMS para ARN del virus de la hepatitis C en pruebas de amplificación de ácidos nucleídos (código NIBSC 96/790) y los valores de concentración se comunican en unidades internacionales (UI/ml).

- Resistencia insulínica (cualitativa dicotómica y cuantitativa continua).
Para establecer si un paciente tiene resistencia insulínica se emplea el llamado HOMA (Homeostasis Model for assesment). Para su determinación multiplicaremos la concentración de insulina en ayunas del paciente (mmol/L) y la concentración de glucosa en ayunas (mmol/L) y su resultado lo dividiremos por 22,5.

Valores del HOMA < 2 , se consideran normales, es decir, no presentan resistencia insulínica. La insulina se determinó mediante electroiluminiscencia (Módulo de análisis Elecsys E170; Roche, Basil, Suiza). Rango de insulina: 0.2-1000 μ U/ml.

- Cortisol basal (cuantitativa continua). Se determinó mediante electroiluminiscencia (Módulo de análisis Elecsys E170; Roche, Basil, Suiza). Intervalo de medición del cortisol estaba comprendido entre 0,5-1750 nmol/L ó 0,018-63,4 μ g/dL (definido por el límite de detección y el máximo de la curva máster). Los valores inferiores al límite de detección se indican como $< 0,5$ nmol/L ($< 0,018$ μ g/dL).
- El índice de masa corporal (cuantitativa continua). Resulta del cociente entre el peso en kilogramos y el cuadrado de la estatura expresada en metros.

- CXCL-10 o IP-10 o proteína 10 inducible por el interferón alfa (cuantitativa continua). Se determinó mediante el kit Quantikine (RD systems). Rango: 8-624 pg/ml.
- Genotipo de la Interleucina 28b (cualitativa dicotómica). Presentarán un genotipo IL-28B favorable (CC) y desfavorable (CT o TT). El polimorfismo genético de la Interleucina 28b (IL-28B): “single nucleotide polymorphism o SNP rs12979860” se determinó usando el kit de discriminación alélica ABI Taqman mediante sistema de detección de secuenciación ABI7900HT (Applied Biosciences Hispania, Alcobendas, Madrid, España), empleando una PCR basada en el uso de sondas fluorescentes.
- La concentración plasmática valle (through) de Ribavirina (C_{valle} RVB) se cuantificó en el día 30° de biterapia, empleando tubos Vacutainer con EDTA a primera hora de la mañana, justo antes de la toma de la 1ª dosis de RBV del día. La separación del plasma de la sangre total se realizó por centrifugación a 2000 rpm durante 30 minutos, conservándose el plasma a -80° C hasta su análisis en el Hospital Carlos III (Madrid). La C_{valle} RVB se cuantificó utilizando un método de high-performance liquid chromatography (HPLC) con detector ultravioleta (HPLC_UV;

Merck-Hitachi LaChrom, Tokio, Japón), validado por la Agencia Europea de Medicamentos (CPMP/ ICH/281/95).

La Ribavirina fue extraída del plasma siguiendo un método de extracción en fase sólida o ultrafiltración. Se transfirieron 500 μ L de muestra a una columna Microsep 3K Omega. Seguidamente, las columnas fueron centrifugadas a 7.500 X *g* durante 90 minutos para retener todas aquellas partículas de tamaño entre 10.000 y 20.000 kDa en la membrana de la columna y permitir el paso de aquéllas más pequeñas como la RBV. El filtrado obtenido se conservó entre 2-8°C hasta su inyección en la columna cromatográfica.

El rango de linealidad fue de 0.05 a 5 μ g/ml con un coeficiente de regresión de $r^2=0,997$. Las condiciones cromatográficas del método fueron: a) fase estacionaria: la separación cromatográfica se realizó utilizando una columna Purospher STAR RP-18 5 μ m (150 mm de longitud X 4.6 mm de diámetro interno; Merck) protegida por una guarda columna Purospher STAR RP-18 5 μ m (4 mm de longitud X 4 mm de diámetro interno; Merck). La temperatura del compartimento de la columna fue de 10°C; b) fase móvil en gradiente compuesta por acetonitrilo y tampón KH₂PO₄ 50 mM ajustado con ácido ortofosfórico

hasta un pH de 3.5 y finalmente filtrado a través de una membrana de 0.45 μm (Whatman, Maidstone, Reino Unido) antes de ser usado.

- El pH urinario (cuantitativo continuo) y urocultivos se realizaron en los días 0 y 30 de biterapia, empleando tiras reactivas (Merck, Germany). Los urocultivos se realizaron para descartar infección del tracto urinario.
- El aclaramiento de creatinina (AC) en mililitros/hora se calculó empleando la fórmula, que en varones era $AC = (140 - \text{edad}) \times \text{peso} / 72 \times \text{creatinina plasmática (mg/dl)}$ y en mujeres $AC = (140 - \text{edad}) \times \text{peso} \times 0.85 / 72 \times \text{aclaramiento de creatinina (mg/dl)}$.
- Aclaramiento de Ribavirina (cuantitativa continua) = $(0.122 \times \text{creatinina plasmática}) + 0.0414 \times (\text{peso corporal})$.
- Dosis óptima diaria de Ribavirina o DODR en mg/dl (cuantitativa continua). Se calculaba mediante la fórmula $(DODR = AR \times 12 \times 15 \times 0.244 \times 2)$.
- El grado de infradosificación de Ribavirina (cualitativa ordinal). Se determinaba restando el valor de DODR, que habíamos obtenido en cada paciente empleando la fórmula de Lindahl, a la dosis que en realidad el paciente había recibido (mg/dl) de acuerdo sólo a su peso corporal.
- LDL-colesterol, colesterol total, HDL-colesterol, triglicéridos

Tras un ayuno de 14 horas se determinaron las concentraciones basales y medias durante el 1º mes de terapia de colesterol total, HDL-colesterol, triglicéridos, así como de VLDL, usando métodos enzimático-calorimétricos (Roche Diagnostics) y tubos Vacutainer con EDTA. Las lipoproteínas de baja densidad se calcularon mediante la fórmula de Friedewald [colesterol total - (HDL-colesterol + triglicéridos / 5)], mg/dl.

Para la determinación de las concentraciones plasmáticas medias durante el 1º mes de terapia se realizaron la recogida de muestras en los días 0, 3º, 7º, 14º y 30º. Las extracciones en los días 7, 14 y 30 de tratamiento se realizaron 2 horas antes de que al paciente recibiera la 2ª, 3ª y 5ª dosis de interferón pegilado, respectivamente.

- Ratio de infectividad elevado (dicotómica). Definido por el cociente entre las concentraciones plasmáticas medias de triglicéridos durante el 1º mes de terapia dual (determinadas a las 72 horas, 1ª semana, día 14 y día 30 de terapia) y las concentraciones de lipoproteínas de colesterol de alta densidad (HDL-c), determinadas en los mismo momentos que el triglicérido durante el 1º mes de terapia antiviral. Esta variable se emplearía como marcador indirecto de la infectividad viral a través

de los receptores Scavenger.

Se estableció un valor mayor o igual a 3,2 para definir los pacientes que tendrían un ratio de infectividad elevado y un valor inferior a 3,2 para definir los pacientes que tendrían durante el 1º mes de terapia un ratio de infectividad bajo.

Es una variable que creamos para nuestro estudio y que no ha sido analizada en otros estudios previos, la cual fue diseñada con el objeto de discriminar aquellos pacientes que presentaban hipertriglicidemias significativas durante el 1º mes de terapia antiviral, como marcador indirecto de una actividad baja de la lipoprotein lipasa (LPL) y alto grado de infectividad viral a través de los receptores Scavenger.

5.6. NIVELES DE EXIGENCIA FIBRO-VIROLÓGICA

Partiendo del hecho que los pacientes con mayor CVB y mayor grado de fibrosis hepática (cirrosis hepática) son los pacientes más difíciles de curar a priori, consideramos que para que estos pacientes pudieran alcanzar la RVS, la máxima reducción virémica necesaria durante la 1ª semana, bien al 3º o 7º día de biterapia (valor de RV1) tendría que ser mayor que la que precisarían los pacientes con menor grado de fibrosis (Metavir F0-F3) y/o

CVB menor. Para establecer los posibles puntos de corte para la variable RV1 que tenía que presentar el paciente para alcanzar la RVS, dependiendo de su grado de fibrosis hepática y CVB se emplearía el área de curva COR resultante.

Los pacientes fueron asignados a un determinado “Nivel de Exigencia Fibro-virológica” (NEF), según el grado de fibrosis hepática y CVB con la que iniciara el tratamiento, de forma que aquellos que a priori, eran más difíciles de curar, (cirróticos y/o CVB muy alta: $> 3 \times 10^6$ UI/ml) serían asignados a los NEF elevados.

Éstos tendrían que alcanzar un valor de RV1 más elevado ($RV1 > 1 \log_{10}$), mientras que los que, a priori, tenían factores predictivos basales de respuesta más favorables (no cirróticos y/o CVB $< 3 \times 10^6$ UI/ml), serían asignados a NEF bajos, con necesidad de alcanzar un valor de RV1 menos exigente que los pertenecientes a niveles más elevados ($RV1 < 1 \log_{10}$).

Posteriormente, se analizaría la reducción virémica máxima media alcanzada en cada Nivel de Exigencia Fibro-virológica (NEF), con objeto de establecer los puntos de corte para la variable RV1 que necesitaría el paciente para alcanzar la RVS. Una vez asignados los pacientes a su

correspondiente NEF, si la reducción virémica máxima alcanzada durante la 1ª semana de biterapia (valor RV1) era al menos igual o superior al establecido para dicho NEF, estableceríamos que dicho paciente habría alcanzado la llamada “Respuesta Viroológica de la Primera Semana o RVPS”.

Se diseñaron 5 niveles de exigencia fibro-viroológica (NEF). A los NEF 5 y 4 fueron asignados los pacientes más difíciles, a priori, de curar (cirróticos o F4) y/o con CVB muy elevada ($\text{RNA-VHC} > 6.000.000$ UI/ml).

Para que estos pacientes alcanzaran la RVPS, era necesario que alcanzasen un valor de RV1 (máxima reducción virémica durante la 1ª semana de biterapia, bien al 3º o 7º día) al menos igual o superior al establecido para su Nivel de Exigencia fibro-viroológica (NEF), como reflejo de una sensibilidad viral óptima al interferón pegilado administrado.

El valor para la variable RV1 que se estableció para que este subgrupo de pacientes alcanzaran la RVPS fue de al menos $2,5 \log_{10}$ UI/ml para el NEF 5 y de $1,4 \log_{10}$ o $1,2 \log_{10}$ UI/ml respecto a la carga viral basal (CVB) para el NEF 4, dependiendo de si empleábamos dosis de inducción o no, respectivamente.

Estos puntos de corte fueron obtenidos de la curva COR que asociaba el valor de la variable RV1 con las tasas de RVS). Al NEF 3 fueron asignados los pacientes no cirróticos (F0-F3) con CVB entre $2,9 \times 10^6$ – 850000 UI/ml, mientras que si la CVB estaba comprendida entre 849000-100000 UI/ml, el paciente era asignado al NEF 2.

Para que el paciente perteneciente al NEL 3 pudiera alcanzar la RVPS era necesario que el valor de RV1 alcanzado durante la 1ª semana de biterapia fuera al menos de $1,2 \log_{10}$ UI/ml respecto a la CVB, independientemente de que fuese empleada la dosis de inducción o no, mientras que para los pertenecientes al NEF 2, era suficiente para alcanzar la RVPS que el valor RV1 alcanzado fuese de al menos $0,8 \log_{10}$ UI/ml.

Al NEF 1 fueron asignados aquellos sujetos no cirróticos (F0-F3) con CVB muy baja (RNA-VHC < 100000 UI/ml), independientemente del grado de fibrosis. Para que el paciente alcanzara la RVPS, el valor RV1 debería ser al menos $0,5 \log_{10}$ UI/ml. Posteriormente el poder predictivo de la RVPS sería comparada con la RVR y el genotipo IL-28B, comparando sus respectivas tasas de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN, así como área bajo la curva.

Para intentar discriminar mejor el grado de sensibilidad viral al interferón e tratar de mejorar la capacidad para predecir la RVS, se emplearía una 1ª dosis de inducción de 360 µcg de interferón pegilado alfa-2a, con objeto de comprobar si los pacientes más sensibles al fármaco, al producir una inhibición viral dosis-dependiente mayor, podía ser empleada como herramienta que pusiera mejor de manifiesto la sensibilidad viral.

5.7. NIVELES DE EXIGENCIA LIPÍDICA

Los niveles plasmáticos medios de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia se emplearían como marcador indirecto de la actividad de la lipoprotein lipasa y como limitador de la infectividad viral a través de los receptores de LDL-colesterol.

Se parte de la hipótesis de que los pacientes para curarse necesitarían durante las primeras semanas de terapia mantener unos niveles plasmáticos medios de LDL-colesterol mayores como limitador de la infectividad viral, especialmente en los pacientes más difíciles de curar (mayor grado de fibrosis hepática y/o mayor carga viral basal o CVB). Así, establecimos una concentración plasmática media mínima de LDL-colesterol que era necesaria para que el paciente alcanzara o presentase durante el 1º mes

de biterapia antiviral un “*Metabolismo o cinética Lipídica Favorable, MLF*”, en función del grado de fibrosis hepática y CVB.

Partiendo del hecho de que los pacientes cirróticos (METAVIR F4) y/o con CVB $> 3 \times 10^6$ UI/ml, eran aquellos con menores posibilidades a priori de curarse, los pacientes que cumplían en nuestro estudio estas condiciones, fueron asignados a uno de los 2 “*Niveles de Exigencia Lipídica, NEL*” más elevados (NEL 4 y 5), en los que se exigía como condición para que el paciente alcanzara un MLF, que las concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol obtenidas durante el 1º mes de biterapia fuesen de al menos de 105 y 110 mg/dl, respectivamente.

Por otro lado, aquellos pacientes con mayores posibilidades a priori de alcanzar la curación, (fibrosis F0-F3 y/o carga viral < 3000000 UI/ml), se distribuyeron en los restantes “*Niveles de Exigencia Lipídica*” (NEL 3,2 y 1), en los que se exigiría para que el paciente alcanzase un MLF unos niveles plasmáticos medios de al menos 80, 65 y 40 mg/dl, respectivamente.

5.8. ECOGRAFIA DE ABDOMEN

Todas las ecografías de abdomen en un periodo máximo de 1 mes con respecto a la fecha de inclusión del paciente en el estudio fueron realizadas por único radiólogo para evitar la variabilidad interobservador.

5.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas fueron expresadas como media y desviación estándar, usando el test de Kolmogorov-Smirnov para conocer si seguían o no una distribución normal. Las variables categóricas fueron expresadas en porcentajes. La comparación entre grupos (presencia de RVS) frente a no curados (ausencia de RVS) se realizó empleando la t de Student o la U de Mann-Whitney para variables continuas y la χ^2 (Chi-cuadrado) o Test exacto de Fisher para variables categóricas.

Para que las variables fuesen consideradas estadísticamente significativas, el valor de p debía ser menor de 0,05. Para analizar 2 variables continuas, se empleó el coeficiente de correlación de Spearman. Para el cálculo de la odds ratio y definir el intervalo de confianza (IC) al 95% se empleó un análisis de regresión logística univariante. Diagramas de

cajas y de dispersión fueron los gráficos empleados. Posteriormente se realizó un análisis de regresión logística multivariante, para ver qué variables estaban relacionadas estadísticamente con la variable “respuesta virológica de la primera semana” con un nivel de significación < 0.05 .

Para la selección del punto de corte óptimo de la variable RV1 para cada nivel de exigencia fibro-virológica (NEF), que definiría qué pacientes habrían alcanzado la RVPS y cuáles no, se priorizó un modelo predictivo que maximizara la detección de pacientes que no se iban a curar: curva ROC con una sensibilidad de al menos un 70%, intentando que la tasa de falsos positivos (1-especificidad) fuese inferior al 20%. La base de datos diseñada para el estudio fue analizada usando el paquete estadístico SPSS (SPSS 18.0 para Windows, SPSS, Chicago, IL).

Se calculó el tamaño muestral mínimo necesario para establecer 5 niveles de exigencia fibro-virológicos (NEF), los cuales estarían basados en 2 variables distintas: grado de fibrosis hepática (F4 versus F0-F3) y carga viral basal segmentada en 5 rangos (CVB $\geq 6 \times 10^6$ UI/ml; CVB entre $5,99 \times 10^6 - 3 \times 10^6$; CVB entre $2,99 \times 10^6 - 850000$ UI/ml; CVB entre $849999 - 100000$ UI/ml y CVB < 100000 UI/ml), mediante el programa nQuery

Advisor versión 7.0.

El cálculo del tamaño muestral mínimo necesario para establecer 5 niveles de exigencia lipídica (NEL), los cuales estaban basado en 3 variables distintas: grado de fibrosis hepática (F4 versus F0-F3), carga viral basal ($CVB \geq 3 \times 10^6$; CVB entre $2,99 \times 10^6$ - 1×10^5 y $CVB < 1 \times 10^5$) y ratio de infectividad alto o bajo (mayor o igual a 3,2 versus $< 3,2$), fue determinado usando el programa nQuery Advisor versión 7.0.

Para establecer los puntos de corte óptimo de la curva COR para la variable “concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia” para predecir la curación virológica en cada uno de los niveles de exigencia lipídica, se exigió un área bajo la curva (AUROC) para los niveles de exigencia lipídicos 4 y 5 de al menos 90% y en los niveles 1-3 de al menos 70%.

La sensibilidad de la curva ROC para predecir RVS en todos los niveles de exigencia lipídica debía de ser de al menos un 85% y la tasa de falsos positivos (1-especificidad) en los niveles de exigencia lipídica elevados (4-5) inferior al 10%.

Se emplearon 3 puntos de corte (2, 2.5 y 3.0 ng/ml) para la variable “concentraciones plasmáticas de Ribavirina”. Posteriormente se realizó un

análisis de regresión logística multivariante, para ver qué variables estaban relacionadas estadísticamente con cada uno de esos puntos de corte de la variable “concentraciones plasmáticas de Ribavirina al 1º mes de biterapia”, con un nivel de significación menor de 0.05, así como el diseño de la curva ROC.

5.10. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los datos fueron tratados durante todo el estudio de forma totalmente confidencial, identificando los pacientes con las iniciales de su nombre y apellidos, tanto en el tratamiento interno dentro del área hospitalaria Juan Ramón Jiménez, como cuando fueron enviadas las muestras al Hospital Carlos III de Madrid para la determinación de las concentraciones plasmáticas de Ribavirina, siguiendo las directrices marcadas por la legislación española y europea, y respetando en todo momento la ley de protección de datos.

El protocolo fue evaluado de forma favorable por el Comité Ético del hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva, como por el Comité Ético Regional, confirmándose de que se cumplían de forma estricta todos los requisitos éticos exigidos, de acuerdo a la legislación vigente. Se diseñó un

modelo estandarizado de consentimiento informado general para el estudio, así como genético para la determinación del genotipo de la Interleucina 28b, por escrito que fue explicado personalmente por el personal investigador y firmado por todos y cada uno de los pacientes que fueron incluidos en el estudio, o en su caso, por el representante legal autorizado a tal efecto.

Este estudio fue diseñado y desarrollado siguiendo en todo momento las directrices establecidas en la Declaración de Helsinki de 1975 y posteriormente revisada en 1983. Todas las actuaciones y procedimientos llevados a cabo en el presente estudio han seguido en todo momento las directrices marcadas en las guías tanto nacionales como internacionales de práctica clínica actualmente aprobadas por la Comunidad Científica, siguiendo los estándares exigidos en la experimentación humana, de acuerdo a los Comité Éticos.

5.11. SUBVENCIONES

El proyecto fue subvencionado por la Consejería de Salud, tal como recoge la resolución de 26 de Diciembre del 2008 de la Secretaría General de Calidad y Modernización (BOJA nº 12 de 20 de Enero del 2009) con el

número de expediente PI-0200/2008.

5.12. CONFLICTO DE INTERESES

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses. La Oficina de Transferencia de Tecnología del Sistema Sanitario Público de Andalucía (S.S.P.A.), en representación del Servicio Andaluz de Salud, ha tramitado una solicitud de patente como herramienta diagnóstica de ayuda a la toma de decisiones terapéuticas para pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1, que fue diseñada tras la finalización de este proyecto de investigación, registrándola en la Oficina Española de Patentes y Marcas de Madrid (España): solicitud nº P201330522 y referencia P-06315.

CAPÍTULO VI

RESULTADOS

6.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS BASALES.

En la tabla 3 se muestra la distribución de las diferentes variables basales en función de que el paciente recibiera una 1ª dosis de inducción o estándar. Las tasas de genotipo desfavorable ILE-28B fueron del 60,6 % (60/99): CT (50,6 %) y TT (10 %), mientras que CC (39,4 %). El porcentaje de cirróticos fue del 21,2% (21/99) y de fibrosis significativa (F3-F4): 29/99 (29,3%).

Basalmente los pacientes con genotipo CC tenían mayor grado de inflamación METAVIR (A2-A3) que los genotipos desfavorables (CT o TT): 25/39 (64,1 %) frente a 23/60 (38,3%), OR 1,6, IC 95% (1,1-2,5); $p = 0,012$, mientras que estos últimos tuvieron una mayor tasa de esteatosis hepática, así como mayor grado de severidad de la misma: 39/60 (65%) frente a 13/39 (33,3%): OR 0,3; IC 95 % (0,1-0,6); $p = 0,003$.

Los sujetos con genotipo favorable (IL-28-CC) tuvieron valores basales medios menores de IP-10 que en genotipos desfavorables: 296 ± 140 pg/ml frente a 387 ± 182 pg/ml; OR 0,85, IC al 95% (0,8-0,9); $p = 0,013$. En la tabla 3 se pueden valorar las características basales de los pacientes, dependiendo de que recibieran la dosis de inducción o no.

Tabla 3. Características basales de los pacientes según recibiera dosis de inducción o no

	TOTAL (N=99)	DOSIS INDUCCIÓN (N=50)	DOSIS ESTÁNDAR (N=49)	Valor de P
EDAD (años)	44 ± 9	45 ± 9	44 ± 9	0.620
SEXO varón (n, %)	67 (67.7)	38 (76)	29 (59)	0.530
Índice de Masa Corporal (kilogramos/metro²)	27 ± 5	28 ± 6	25 ± 4	0.060
Aclaramiento creatinina (mililitro/hora)	121 ± 31	126 ± 35	115 ± 25	0.100
HOMA-IR	3.6 ± 3.3	3.4 ± 3.2	3.0 ± 2.9	0.240
IP-10 (picogramos/mililitro)	351 ± 172	376 ± 173	321 ± 168	0.890
Genotipo IL-28B (CT/TT) (n, %)	60 (60.6)	32 (64)	28 (57)	0.760
Carga viral basal (Logaritmo decimal UI/ml)	5.9 ± 0.8	5.9 ± 0.8	5.8 ± 0.8	0.720
METAVIR A2-A3 (n, %)	48 (48.5)	28 (56)	20 (41)	0.125
Esteatosis hepática (n / %)	52 (52.5)	19 (38)	33 (67)	0.071
Esteatosis moderada-severa (n, %)	23 (23.2)	13 (26)	10 (20)	0.170
METAVIR F3-F4 (n, %)	29 (29.3)	14 (28)	15 (30)	0.420
Cirrosis hepática (n, %)	21 (21.2)	9 (18)	12 (24)	0.230
Colesterol total (mg/dl)	180 ± 33	180 ± 35	179 ± 35	0.823
LDL-colesterol (mg/dl)	107 ± 30	109 ± 30	104 ± 30	0.368
HDL-colesterol (mg/dl)	55 ± 18	54 ± 18	56 ± 19	0.622
Triglicéridos (mg/dl)	88 ± 33	88 ± 25	90 ± 41	0.769

Variables categóricas expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje). Variables cuantitativas expresadas como media y desviación estándar.

HOMA-IR (Homeostasis Model of Assessment - Insulin Resistance), IL-28B (polimorfismo genético de la Interleucina 28b), UI/ml (unidades internacionales / mililitro), CT (genotipo de la IL-28b CT), TT (genotipo de la IL-28b TT).

En la tabla 4 se muestra la distribución de las variables basales o pretratamiento y su relación con el genotipo de la IL-28B, destacando aquellas variables estadísticamente significativas. Los sujetos con genotipo favorable (IL-28-CC) tuvieron valores basales de IP-10 inferiores, mientras que las concentraciones basales de LDL-colesterol e índice de aterogénico (cociente entre colesterol total y HDL-colesterol basales) se encontraron más elevados que en aquellos que portaban un genotipo desfavorable (CT/TT) de forma estadísticamente significativa.

Tabla 4. Características Basales, según genotipo de la Interleucina 28b

	GLOBAL (n=99)	GENOTIPO IL-28B (CC) (n=39)	GENOTIPO IL-28B (CT/TT) (n=60)	Odds Ratio (OR)	IC 95%	Valor P
Edad media DE, años	45 (9)	46 (8)	44 (10)	-	-	0,282
Sexo Varón, n (%)	67 (67,7 %)	30 (76,9 %)	37 (61,7 %)	-	-	0,113
IMC, media (DE), (Kg/m²)	27 (5)	27 (5)	26 (5)	-	-	0,310
Fibrosis F3-F4, n (%)	29 (29,3 %)	10 (25,6 %)	19 (31,7 %)	-	-	0,520
Cirrosis (F4), n (%)	21 (21,2 %)	7 (17,9 %)	14 (23,3 %)	-	-	0,522
CVB, media (DE), Log₁₀	5,9 (0,8)	6,0 (0,9)	5,8 (0,7)	-	-	0,286
Metavir A2-A3, n (%)	48 (48,5 %)	25 (64,1 %)	23 (38,3 %)	1,6	1,1-2,5	0,012
Esteatosis hepática, n (%)	52 (52,5 %)	13 (33,3 %)	39 (65 %)	0,3	0,1-0,6	0,003
Esteatosis hepática Moderada-severa, n (%)	23 (23,2 %)	5 (12,8 %)	18 (30 %)	0,4	0,2-0,8	0,006
Genotipo viral 1b, n (%)	43 (43,4 %)	14 (35,9 %)	29 (48,3 %)	-	-	0,413
IP-10 basal, media (DE), pg/ml	351 (173)	296 (140)	387 (182)	0,85	0,8-0,9	0,013
HOMA-IR, media (DE)	3,3 (3,2)	3,1 (2,6)	3,5 (3,3)	-	-	0,559
Colesterol total, media(DE),mg/dl	180 (30)	186 (34)	176 (30)	-	-	0,152
LDL-colesterol, media (DE),mg/dl	107 (29)	118 (30)	101 (28)	1,1	1,0-1,2	0,006
Triglicéridos, media (DE), mg/dl	89 (33)	82 (24)	94 (37)	-	-	0,070
HDL-colesterol, media (DE), mg/dl	55 (18)	52 (18)	57 (19)	-	-	0,167
ÍA, media (DE)	3,5 (1,1)	3,8 (1,1)	3,3 (1,1)	1,5	1,0-2,3	0,022

Variables categóricas expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje). Variables cuantitativas expresadas como media y desviación estándar (DE). IC 95% (intervalo de confianza al 95%), sólo para variables estadísticamente significativas. OR (Odds Ratio), sólo para variables estadísticamente significativas.

Abreviaturas: IMC (índice de masa corporal), CVB (carga viral basal), Log₁₀ (logaritmo decimal), pg/ml (picogramo/mililitro), IA (índice de aterogenicidad), HOMA-IR (Homeostasis Model of Assessment - Insulin Resistance), mg/dl (milígramo/decilitro), LDL (lipoproteína de baja densidad), IL-28B (polimorfismo genético de la Interleucina 28b).

6.2. PERIODO DE SEGUIMIENTO

Los 99 pacientes incluidos en el estudio fueron tratados, dependiendo del grupo al que fuera asignado de forma aleatoria, con una dosis de inducción (n=50) frente a una dosis estándar (n=49) de inteferón pegilado alfa-2a.

Tuvimos una tasa de RVR de un 39% y a los 3 meses, la tasa de respondedores nulos fue del 7.1%. Los pacientes que conseguían una reducción virémica de al menos $2 \log_{10}$ UI/ml, haciéndose indetectable el virus al 3º mes continuaban la terapia antiviral hasta las 48 semanas (tasa de respuesta virológica precoz completa fue del 74.7%).

A los 6 meses de tratamiento antiviral, los pacientes con viremia detectable eran considerados respondedores parciales (respuesta virológica lenta), cuya tasa fue del 12.1%. Por el contrario, las tasas de curación virológica o respuesta virológica sostenida (RVS) fue del 52.5%.

En el 18% y en el 23% de los pacientes se redujo en algún momento la dosis de interferón y Ribavirina, respectivamente. En el 14% y 6% de los pacientes se empleó Epoetina alfa y Filgastrim, respectivamente.

6.3. RESPUESTA VIROLÓGICA SOSTENIDA Y RÁPIDA

Como podremos observar en la tabla 5, alcanzaron la RVS el 52.5 % de los pacientes de nuestro estudio: genotipo CC (56 %) frente CT/TT (44%). De los 47 pacientes que no se curaron, la mayoría tenían un genotipo desfavorable (CT/TT: 79 %): OR1.7, IC al 95% (1.3-2.5); $p < 0.0001$.

Respondedores nulos: 7/99 (7.1 %), respondedores parciales: 12/99 (12.1 %), recidiva intratratamiento: 2/99 (2%) y recidivantes: 26/99 (26.3 %). Sólo un 33.3% (7/21) de los cirróticos presentó un genotipo CC.

Las tasas de curación fueron mayores en sujetos con menor fibrosis hepática (F0-F2: 44/70; 62,8%) frente a (F3-F4: 9/29; 31 %): OR 2,9, IC95% (1,4-5,9); $p = 0,001$; siendo también mayores en ausencia de cirrosis (F0-F3: 46/78, 59 %) frente a F4 (5/21, 23,8 %): OR 4,7, IC 95% (1,7-13,0); $p = 0,001$.

Se curaron más los pacientes con IP-10 basal más baja (grupo RVS: media 288 ± 147 pg/ml frente al grupo sin RVS: 421 ± 173 pg/ml: OR 1,0, IC 95% (1,1-1,2); $p < 0,0001$ y aquellos con valor basal de HOMA-IR menor: grupo RVS ($2,5 \pm 2,3$) frente al grupo no curado: ($4,3 \pm 4,2$): OR

0,8, IC 95% (0,6-1,0); $p = 0,037$. Por otro lado, se curaron menos en presencia de esteatosis hepática moderada o severa cuando los comparábamos con los pacientes sin esteatosis hepática.

Unos niveles de LDL-colesterol basales más elevados no alcanzaron por poco la significación estadística para predecir las tasas de RVS ($p=0,07$), pero cuando seleccionamos los pacientes con fibrosis (F3-F4), sí resultaron significativos (en el grupo de curados, media 144 ± 14 mg/dl, frente al grupo de no curados: media 103 ± 26 mg/dl: OR 1,06, IC 95% (1,01-1,12); $p = 0,018$).

Por otra parte, los pacientes que presentaron menores concentraciones plasmáticas de triglicéridos basales alcanzaron también mayores tasas de curación: en el grupo RVS (media 81 mg/dl; DE=27) frente al no curado (media 100 mg, DE=38): OR 0,98, IC 95% (0,96-0,99); $p=0,016$.

Alcanzaron la RVR un 39%, siendo más frecuente en el genotipo CC (61.5%) frente a CT/TT (38.5 %): OR 1.9, IC 95% (1.3-3.0); $p < 0.0001$. Los que alcanzaron la RVR presentaron unas tasas de RVS significativamente superiores (33/39:84.6%) respecto a aquellos que no la alcanzaron (19/60:31.7%): OR 11.8; IC 95% (4.2-33.1); $p < 0.0001$.

Tabla 5. Características de los pacientes dependiendo de que alcanzaran o no la respuesta virológica

	RVS (n=52)	No RVS (n=47)	Odds Ratio	IC 95%	Valor de P
Edad (años)	43 ± 10	46 ± 8	1.1	(1.0-1.2)	0.05
Índice de masa corporal (kilogramos/metro ²)	25 ± 5	28 ± 5	1.1	(1.0-1.2)	< 0.01
IP-10 basal (picogramos/mililitro)	288 ± 147	421 ± 173	1.1	(1.0-1.2)	< 0.0001
HOMA-IR	2.5 ± 2.3	4.3 ± 4.2	0.8	(0.6-1.0)	0.037
Carga viral basal (log ₁₀ UI/mililitro)	5.7 ± 0.9	6.1 ± 0.6	1.9	1.1-3.2	0.026
Aclaramiento creatinina (ml/h)	110 ± 25.5	133 ± 33	1.1	1.0-1.2	< 0.001
Esteatosis hepática (n, %)	19 (36.5)	33 (70.2)	1.9	1.3-2.9	< 0.001
METAVIR F0-F2 (n, %)	44 (84.6)	26 (55.6)	2.9	1.4-5.9	0.002
RV1 (3° o 7° día) (UI/ml log ₁₀)	(- 2.06 ± 0.98)	(-0.87 ± 0.71)	5.9	2.9-12.4	< 0.0001
RV1 (Dosis inducción)	(-2.2 ± 0.9)	(-1.0 ± 0.8)	4.9	2.0-11.8	< 0.0001
RV1 (Dosis estándar)	(-1.9 ± 1.1)	(- 0.7 ± 0.6)	10.9	2.6-45.3	< 0.0001
Reducción 3° día (UI/ml Log ₁₀)	(-1.7 ± 0.9)	(-0.8 ± 0.6)	5.4	2.6-11.1	< 0.0001
Reducción 7° día (UI/ml Log ₁₀)	(-1.9 ± 1.0)	(-0.7 ± 0.6)	6.3	3.0-13.4	< 0.0001
Presencia de RVPS, (n=57)	49 (94.2)	8 (17)	79.6	19.7-320.3	< 0.0000
Ausencia de RVPS, (n=48)	3 (5.8)	39 (82.9)			
RVPS (Dosis inducción) (n, %)	27 (93.1)	5 (20)	54	9.5-307	< 0.0000
RVPS (Dosis estándar) (n, %)	22 (95.7)	3 (13.6)	139.3	13.3-1453.6	< 0.0000
Respuesta virológica rápida (n=39)	33 (84.6)	6 (15.4)	11.9	4.2-33.1	< 0.0000
Ausencia Respuesta virológica Rápida (n=60)	19 (31.7)	41 (68.3)			
mLDLc (mg/dl)	100 ± 23	89 ± 28	1.1	1.0-1.2	< 0.05
mLDLc (mg/dl) + METAVIR F3-F4	116 ± 11	82 ± 29	1.2	1.0-1.4	0.01
Triglicéridos medios (1° mes biterapia), mg/dl	101 ± 29	147 ± 65	0.97	0.94-0.99	0.027
Ratio de infectividad (IL-28B-CC)	2.5 ± 1.1	4.7 ± 3.2	0.5	0.3-0.9	0.02

Variables categóricas expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje). Variables cuantitativas expresadas como media ± desviación estándar. IC 95% (intervalo de confianza al 95%).. OR (Odds Ratio).

RVPS (Respuesta Virológica de la 1ª Semana), RVS (Respuesta Virológica Sostenida), RV1 (máxima reducción virémica respecto a la carga viral basal durante 1ª semana biterapia, bien 3° o 7° día), Log₁₀ (logaritmo decimal), UI (Unidades internacionales), ml (mililitro), h (hora).

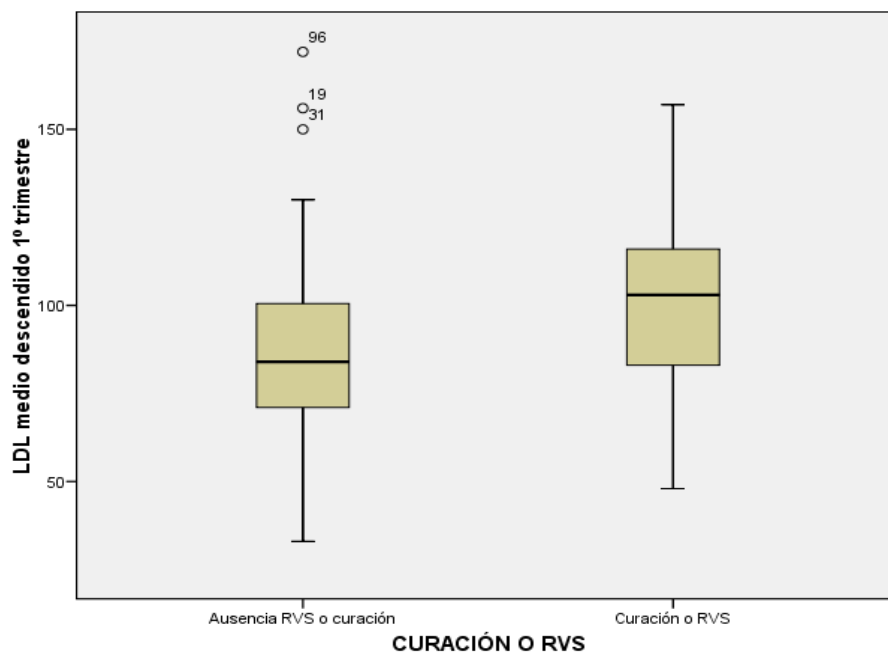
Además, los sujetos no cirróticos (F0-F3) con carga viral basal (CVB) < 600000 UI/ml, que alcanzaron la RVR se curaron más (14/15:93.3%) que aquellos que no la presentaron (6/10:60%): OR 9.3; IC 95% (1.1-102.0); p=0.04.

Alcanzaron mayores tasas de RVR los pacientes con niveles plasmáticos más bajos de IP-10 (p =0,001), sin encontrar diferencias entre grupos en el valor del HOMA-IR basal (p = 0,42). No hubo diferencias en las tasas de RVR, independientemente del grado de fibrosis hepática (p = 0,52).

Como podemos ver en la figura 9, alcanzaron mayores tasas de RVS aquellos pacientes que consiguieron mantener concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de terapia antiviral, independientemente del genotipo IL-28B que tuvieran.

Esta tendencia se mantuvo, siempre que las concentraciones plasmáticas de colesterol total basal con la que iniciaba la terapia antiviral dicho pacientes, hubiera sido igual o mayor a 145 mg/dl (condición que cumplía el 91 % de nuestra muestra): grupo curados: media 100 ± 23 , mg/dl frente al grupo de pacientes con ausencia RVS: media 89 ± 28 , mg/dl; OR 1,1; IC 95% (1,0-1,2); p < 0,05.

Figura 9. Diagrama de barras concentraciones medias LDL-colesterol



LDL (lipoproteínas de baja densidad); RVS (respuesta virológica sostenida)

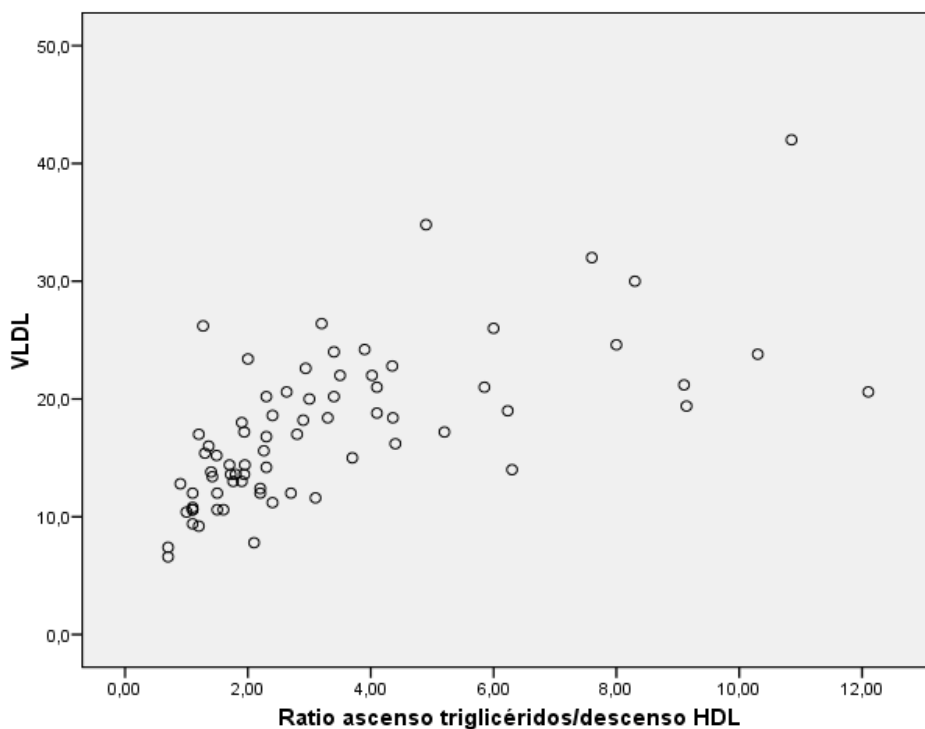
Estas diferencias eran más significativas en los pacientes con mayor grado de fibrosis hepática (Metavir F3-F4). En los pacientes con genotipo favorable (CC) mantuvieron unas concentraciones plasmáticas medias durante el 1º mes más elevadas (100 ± 27 mg/dl) que los pacientes CT/TT (85 ± 27 mg/dl); OR 0,98, IC 95% (0,96-0,99); $p < 0,013$.

Los pacientes con un genotipo de la IL-28B favorable (CC) que tuvieron un “ratio de infectividad” elevado (cociente entre triglicéridos

medios y HDL-colesterol medios mayor o igual de 3,2 durante el 1º mes de terapia), se curaron menos que aquellos que lo tuvieron bajo. Este hecho no se evidenció en pacientes con genotipo desfavorable (CT/TT).

Tal como podemos ver en la figura 10, también se curaron más aquellos sujetos que presentaban una secreción de VLDL pretratamiento menor. Además, se evidenció que existía una correlación positiva entre los niveles basales de VLDL y el valor del ratio de infectividad durante el 1º mes de terapia antiviral (coeficiente de Pearson = 0,658).

Figura 10. Correlación VLDL basal y ratio de infectividad durante el 1º mes de biterapia



VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad, very low density lipoprotein); HDL (lipoproteína de alta densidad, high density lipoprotein).

Por otro lado, se curaron menos los pacientes con presencia de esteatosis hepática moderada o severa cuando los comparábamos con los pacientes sin esteatosis hepática.

Pero si la esteatosis hepática influía en las tasas de RVS, el grado de severidad de la esteatosis condicionó las tasas de RVR en los pacientes con genotipo IL-28B desfavorable: ninguno de los 18 pacientes con genotipo CT/TT y esteatosis moderada-severa alcanzó la RVR frente a aquellos con ausencia de esteatosis hepática: 8 de los 22 pacientes CT/TT sin esteatosis hepática (36,3 %): OR 2,9, IC 95% 1,2-6,9; $p = 0,015$.

Estas diferencias no eran observadas en pacientes con genotipo IL-28B favorable (CC). Los pacientes que presentaron un mayor grado de esteatosis hepática tuvieron una secreción basal mayor de VLDL que aquellos sin esteatosis.

En los pacientes con genotipo CT/TT de la IL-28B que tuvieron esteatosis hepática se consumieron más las moléculas de HDL-colesterol durante el 1º mes de terapia que aquellos que no presentaron esteatosis, algo que no se evidenció en los pacientes con genotipo CC.

En los pacientes con genotipo CT/TT y esteatosis moderada-severa, las concentraciones plasmáticas medias de HDL-colesterol durante el 1º

mes de terapia fueron significativamente inferiores (39 ± 10 mg/dl), que las registradas en pacientes sin esteatosis hepática (55 ± 22 mg/dl): OR 1,07, IC 95% (1,01-1,14); $p = 0,009$, mientras que para el genotipo CC: $p = 0,46$.

6.4. VARIABLE RESPUESTA VIROLÓGICA DE LA PRIMERA SEMANA

La tabla 5 muestra como los pacientes que alcanzaron la RVS, presentaron una reducción virémica máxima durante la 1ª semana (al 3º o 7º día de biterapia) de haber administrado la 1ª dosis de interferón pegilado (valor RV1), estadísticamente mayor ($-2,06 \pm 0,98 \log_{10}$ UI/ml) que la que alcanzaron aquellos que no se curaron ($-0,87 \pm 0,71 \log_{10}$ UI/ml): OR 5,9: IC 95% (2,9-12,4); $p < 0,0001$.

Esta tendencia se mantuvo independientemente de que la determinación de la viremia se realizaba al 3º día o 7º día, y si era empleada o no la dosis de inducción (PDI). Por tanto, el empleo de una PDI no conseguía mejorar la capacidad predictiva. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la variable RV1 entre el empleo de una PDI ($-1,6 \pm 1,03$ UI/ml) y una 1ª dosis estándar ($-1,34 \pm 1,05$ UI/ml): $p = 0,15$.

Sin embargo, la reducción virémica alcanzada entre el final de la 1ª semana y 4ª semana sí que tuvo carácter predictivo: la reducción virémica alcanzada en el periodo 1ª-4ª semana de biterapia era ($-2,3 \pm 1,0$ UI/ml) en curados, la reducción registrada en no curados fue menor ($-1,4 \pm 1,0$ UI/ml); OR 2,3; IC 95% (1,5-3,7); $p < 0,0001$.

Los pacientes con RVR tuvieron un valor de la variable RV1 significativamente mayor que aquellos que no la alcanzaron: ($- 2,28 \pm 0,97$ UI/ml si presencia de RVR) frente a ausencia RVR ($- 0,99 \pm 0,73$ UI/ml); OR 0,16, IC 95 % (0,08-0,33); $p < 0,0001$, de igual forma que los genotipos CC presentaron un valor medio de RV1 mayor ($- 2,17 \pm 0,93$ UI/ml) que la que obtuvieron los genotipos desfavorables (CT o TT): ($-1,06 \pm 0,87$ UI/ml): OR 0,3, IC 95 % (0,1-0,5); $p < 0,0001$.

La misma tendencia para la variable RV1 se observó en aquellos sujetos con menor grado de fibrosis hepática al compararlos con los cirróticos: mientras el valor medio RV1 en los F0-F3 fue ($-1,65 \pm 1,07$ UI/ml), en los cirróticos fue ($-0,93 \pm 0,70$): OR 2,3; IC 95% (1,2-4,4); $p = 0,007$, y cuando comparáramos los pacientes sin esteatosis hepática ($-1,83 \pm 1,06$ UI/ml) con aquellos que sí la tenían ($-1,20 \pm 0,94$): OR 1,9; IC 95% (1,2-2,9); $p = 0,004$.

Cuando analizamos el comportamiento de la variable RV1 dependiendo del tipo de respuesta a la terapia observamos que el valor medio obtenido para los “respondedores nulos” fue de tan solo $(-0,35 \pm 0,30$ UI/ml), siendo algo mejor en “respondedores parciales” $(-0,75 \pm 0,48$ UI/ml) y “recidivantes” $(-1,06 \pm 0,80$ UI/ml), lo que contrasta de forma estadísticamente significativa con el valor RV1 obtenido en aquellos con RVS $(-2,07 \pm 0,99$ UI/ml), obteniéndose una OR al compararlo con los respondedores nulos de 15; IC 95% (1,9-120,4); $p = 0,01$.

La Respuesta Viroológica de la Primera Semana (RVPS) la presentaron 57/99 (57,6%), encontrándose en el 94,2% de los pacientes que alcanzaron la RVS (49/52), mientras que estuvo presente sólo en 17% (8/47) de los pacientes sin RVS (tasa de falsos positivos). Por otro lado, el 82,9% (39/47) de los pacientes sin RVS no presentaron la RVPS (tasa de falsos negativos sólo del 5,8%).

La RVR la presentaron un 39,3% (39/99), concretamente el 63,4% de los curados (33/52), mientras que estuvo ausente en el 87,2% de aquellos que no se curaron. La tasa de falsos positivos y negativos de la RVR fue respectivamente del 15,4% y 31,7%.

Por otra parte, cuando analizamos la capacidad predictiva de RVS

del genotipo IL-28B, observamos que se curaron el 55,7% de los pacientes con genotipo CC (29/52), presentando un haplotipo desfavorable (CT/TT) el 78,7% (37/47) de los pacientes que no alcanzaron finalmente la RVS. La tasa de falsos positivos y falsos negativos del genotipo IL-28b favorable fue respectivamente del 25,6% y 38,3%.

Cuando analizamos las tasas de VPP que presentaron estas 3 variables (RVPS, RVR y genotipo IL-28B), no observamos diferencias significativas: el valor predictivo positivo de la RVPS fue del 85,9 % (49/57), próximo al obtenido por la RVR y el genotipo IL-28B, que fueron respectivamente, del 84,6% (33/39) y 74,3% (29/39).

Sin embargo, el valor predictivo negativo (VPN) de la RVPS fue del 92,8% (39/42), claramente superior que el que presentaron la RVR (68,3%:41/60) y el genotipo IL-28B CC del 61,6% (37/60), sin olvidar que la tasa de falsos positivos y falsos negativos de la RVR y genotipo IL-28B fue claramente superior que la encontrada para la RVPS.

En la tabla 6 se exponen las variables relacionadas con el metabolismo lipídico basal y cinético que tuvo lugar durante el 1º mes de terapia antiviral, estableciéndose las diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que consiguieron alcanzar la RVS y aquellos que no se consiguieron curar con biterapia.

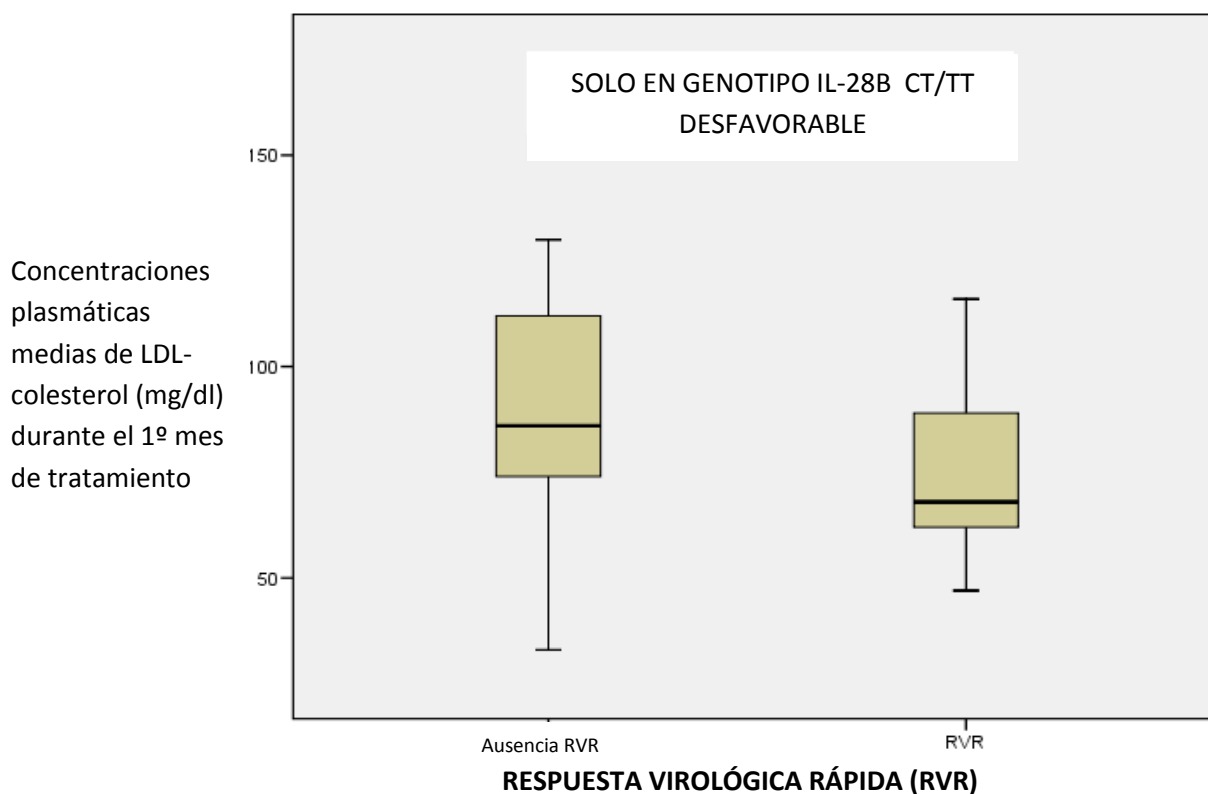
Tabla 6. Parámetros lipídicos basales y cinéticos 1º mes terapia

	Grupo RVS n=51	Ausencia RVS n=48	Odds Ratio	IC 95%	P-valor
* LDL-COLESTEROL (1º mes de terapia), media (DE), mg/dl	100 (23)	89 (28)	1,1	(1,0-1,2)	0,05
* LDL-COLESTEROL (1º mes de terapia), media (DE), mg/dl + METAVIR F3-F4	116 (11)	82 (29)	0,95	(0,91-0,99)	0,01
AUSENCIA DE ESTEATOSIS, n (%)	33 (64,7 %)	15 (31,3 %)	0,34	(0,19-0,60)	< 0,0001
ESTEATOSIS LEVE, n (%)	13 (25,5 %)	15 (31,3 %)			
ESTEATOSIS MODERADA- SEVERA, n (%)	5 (9,8 %)	18 (37,5 %)			
TRIGLICÉRIDOS MEDIOS (1º mes terapia), media (DE), mg/dl (Sólo genotipo CC)	101 (29)	147 (65)	0,97	(0,94-0,99)	0,027
RATIO DE INFECTIVIDAD, media (DE) (Sólo en genotipo CC)	2,5 (1,1)	4,7 (3,2)	0,51	(0,3-0,9)	0,020
VLDL basal, media (DE), mg/dl	15,8 (5,0)	19,1 (7,5)	0,92	(0,8-1,0)	0,036
METABOLISMO LIPÍDICO FAVORABLE, n (%)	41 (80,4 %)	17 (35,4 %)	7,4	(3,0-18,6)	< 0,0001
GENOTIPO CC + METABOLISMO LIPÍDICO FAVORABLE, n (%)	24 (85,7 %)	3 (27,3 %)	16,0	(2,9-87,3)	< 0,0001
GENOTIPO CT/TT + METABOLISMO LIPÍDICO FAVORABLE, n (%)	17 (73,9 %)	14 (37,8 %)	4,6	(1,5-14,6)	< 0,0001

RVS (respuesta virológica sostenida); IC (intervalo de confianza); VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad); DE (desviación estándar); mg/dl (miligramos/decilitro); LDL (lipoproteínas de baja densidad)

En la figura 11 se expone las diferencias estadísticamente significativas que se observaron en las concentraciones medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de terapia antiviral dual en pacientes que alcanzaron la respuesta virológica rápida, que fueron más elevadas sólo en el genotipo desfavorable de IL-28B que en aquellos que no la alcanzaron.

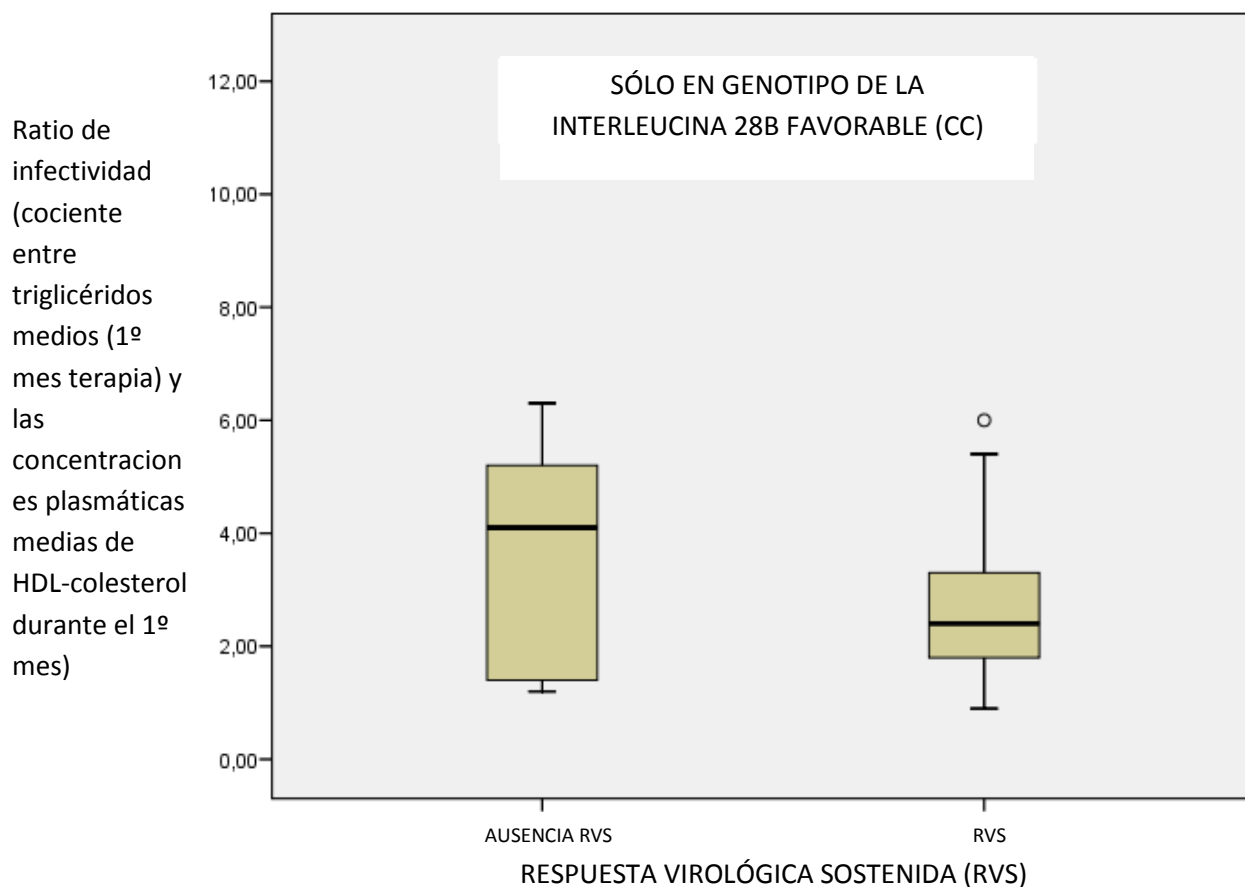
Figura 11. Diagrama de barras LDL-c media y tasas de respuesta virológica rápida (RVR)



LDL-c (lipoproteínas de baja densidad de colesterol); IL-28B CT/TT (genotipo de la Interleucina 28b desfavorable: CT o TT); LDL (lipoproteínas de baja densidad de colesterol); RVR (respuesta virológica rápida); mg/dl (miligramo/decilitro).

En la figura 12 se puede observar como los pacientes que tuvieron un ratio de infectividad menor durante el 1º mes de terapia antiviral dual, sólo en el genotipo favorable CC de la Interleucina 28B, presentaron mayores tasas de curación virológica que aquellos que no tuvieron valores elevados de esta variable.

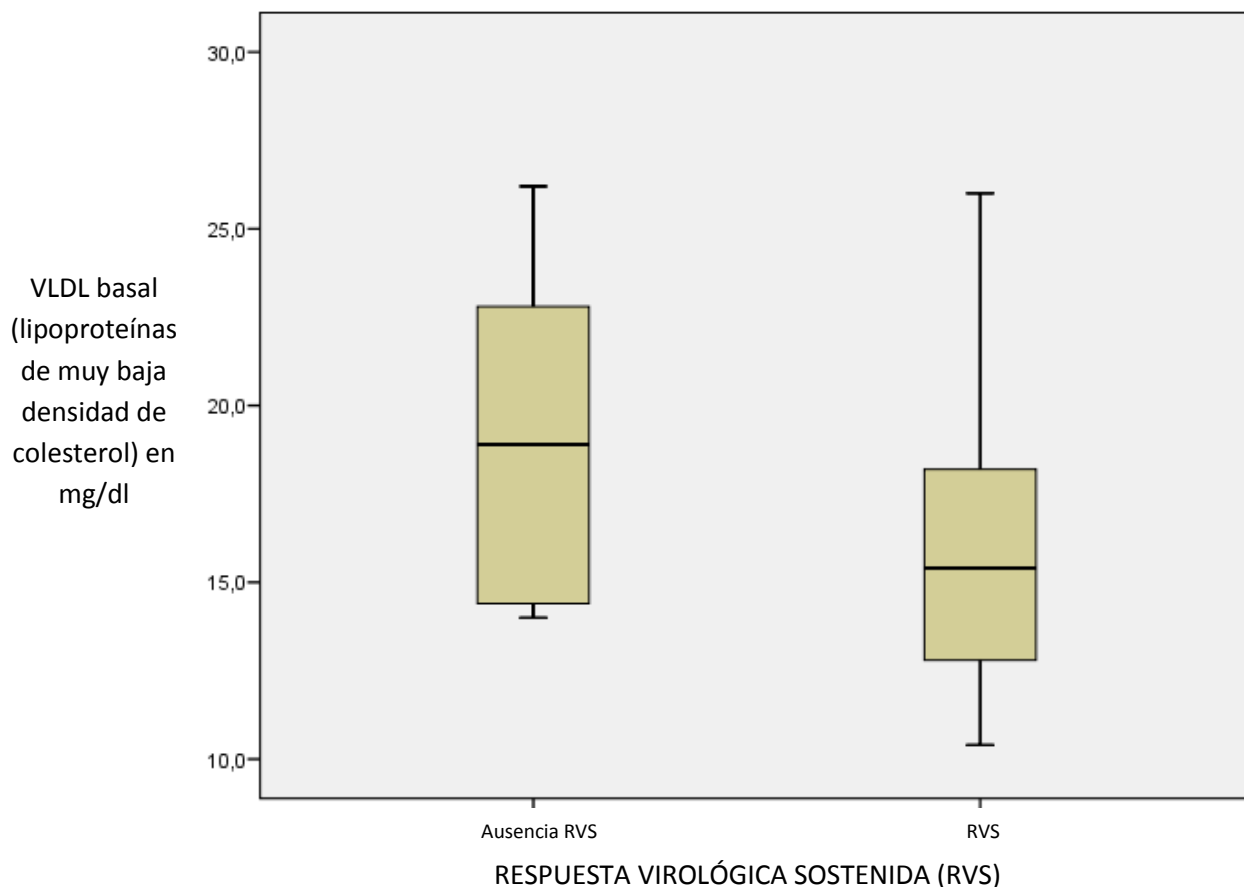
Figura 12. Diagrama de barras ratio infectividad y respuesta virológica sostenida (RVS).



RVS (respuesta virológica sostenida)

En la figura 13 se observa como los pacientes que presentaban unas concentraciones plasmáticas basales de la lipoproteínas de muy baja densidad del colesterol (VLDL) más elevadas presentaban unas menores tasas de RVS.

Figura 13. Diagrama de barras entre las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) basal y las tasas de respuesta virológica sostenida (RVS).



RVS (respuesta virológica sostenida); Baseline VLDL (concentraciones plasmáticas de lipoproteínas de muy baja densidad de colesterol basal); mg/dl (miligramo/decilitro)

6.5. NIVELES DE EXIGENCIA FIBRO-VIROLÓGICA

Para el punto de corte establecido para NEF 5 ($RV1 \geq 2,5 \log_{10}$ UI/ml), el área bajo la curva (AUROC) fue 0,84, IC 95% (0,7-0,9); $p = 0,0001$ con un sensibilidad para predecir la presencia de RVS del 98 % y una tasa de falsos positivos (1-especificidad) del 63%.

Sólo 7 pacientes cumplieron los requisitos exigidos en el NEF 5 (7%): de ellos sólo 1 alcanzó la RVS (14,2 %), mientras que para el punto de corte seleccionado para el NEF 4 ($RV1 \geq 1,4 \log_{10}$ si era empleada la dosis de inducción o $1,2 \log_{10}$, si ésta no era empleada), el AUROC resultante fue 0,88 con IC 95% (0,8-0,99); $p < 0,0001$, presentando este punto de corte en la curva ROC una sensibilidad para predecir curación del 88 % y una tasa de falsos positivos (1-especificidad) del 7 %. 32,3% (32/99 pacientes) fueron asignados al NEF 4: de ellos sólo 13 alcanzaron la RVS (40,6 %).

Para el punto de corte establecido para NEF 3 ($RV1 \geq 1,2 \log_{10}$), el AUROC correspondiente al NEF 3 fue de 0,92, IC 95 % (0,8-0,9); $p < 0,0001$, hallando una sensibilidad para predecir RVS del 92 % con una tasa de falsos positivos del 20 %. 27,2% (27/99 pacientes) fueron asignados al

NEF 3: de ellos 15 alcanzaron la RVS (55,5 %), mientras que para el punto de corte seleccionado para el NEF 2 ($RV1 \geq 0,8 \log_{10}$), el AUROC era también de 0,92, IC 95% (0,7-0,9); $p < 0,0001$; con una sensibilidad para predecir la RVS del 86 % (tasa de falsos positivos del 10 %). 17/99 pacientes (17,1%) fueron asignados al NEF 2: de ellos 10 alcanzaron la RVS (58,8 %).

Al NEF 1 fueron asignados 16 pacientes (16,1 %): se curaron todos menos 1 (RVS=93,7%). El AUROC correspondiente para NEF 1 fue 0,73; IC 95% (0,5-0,9); $p = 0,05$.

La tasa de RVPS hallada en cada Nivel de Exigencia Fibro-viroológica (NEF) fue, respectivamente: NEF 5 (2/7; 28,6%), NEF 4 (18/32; 56%), NEF 3 (12/27; 44,4%), NEF 2 (12/17; 70,6%) y NEF 1 (15/16; 93,7%): OR 1,6, IC 95% (1,1-2,5); $p < 0,016$. El área bajo la curva (AUROC) de la RVPS para predecir la RVS fue de 0,89, IC 95% (0,81-0,96); $p < 0,0001$.

Su capacidad para predecir la RVS fue significativamente superior tanto al genotipo IL28B, cuya AUROC fue del 0,69, IC 95% (0,5-0,8); $p < 0,001$, como a la presencia de RVR: AUROC de 0,75, IC (0,6-0,8); $p < 0,0001$.

Así observamos como en los NEF elevados (4 y 5) predominaban los pacientes que no alcanzaban la RVPS, por ello, se curaban menos. Sin embargo, los pacientes pertenecientes a NEF inferiores (3-1) la tasa de RVPS fue significativamente mayor, invirtiéndose la tendencia. Además estas diferencias se mantenían independientemente del genotipo ILE-28B.

En los pacientes con haplotipo IL-28B-CC , la tasa de RVPS fue significativamente mayor (34/39; 87,2%) que la presente en los genotipos CT o TT: 23/60 (38,3%): OR 2,3; IC 95% (1,6-3,2); $p < 0,0001$ y el valor RV1 también fue mayor en aquellos con presencia de la RVPS:(- 2,12 \pm 0,89 UI/ml), comparado con aquellos que no la obtuvieron: (- 0,65 \pm 0,50 UI/ml): OR 67, IC 95 % (11-386); $p < 0,0001$.

Por otra parte, cuando analizábamos la tasa de RVPS en los paciente que no se habían curado, observamos que ninguno (0/7) de los “respondedores nulos” alcanzaron la RVPS, mientras que esta tasa aumentaba al 50% (1/2) en aquellos con “breakthrough o recidiva intratratamiento”, mientras que en los “respondedores virológicos lentos” (viremia detectable al 6º mes) y en los “recidivantes”, la tasa de RVPS fue respectivamente, del 16,6% (2/12) y 19,2% (5/26), mientras que 49/52

(94,2%) de los pacientes que alcanzaron la curación presentaron la RVPS: OR 7,5, IC 95% (3,4-16,5); $p < 0,0001$.

Como podemos ver en la tabla 7 se exponen los 5 niveles de exigencia fibro-virológicas que diseñamos para asignar a los pacientes que fueron incluidos en nuestro estudio, dependiendo de su carga viral basal (CVB) y el grado de fibrosis hepática que tenían. Vemos como se curan de forma estadísticamente significativa más los pacientes pertenecientes a los niveles de exigencia fibro-virológica más bajos, mientras que es menor en los pacientes pertenecientes a los niveles más elevados: 4 y 5.

Por otra parte, en la tabla 8 exponemos 4 rangos de reducción virémica máxima alcanzada durante la 1ª semana de biterapia, observándose como las caídas más marcadas tuvieron lugar en los sujetos con genotipo favorable (IL-28B-CC), mientras que en los genotipos desfavorables y pacientes cirróticos predominaban las reducciones virémica más discretas.

En la tabla 9 se exponen las variables que estuvieron relacionadas de forma estadísticamente significativa en el análisis de regresión logística multivariante con la ausencia de la RVPS: los pacientes con una IP-10 basal elevada, un genotipo desfavorable IL-28B, un Fibro-virológica elevado (NEF 4 o 5).

Tabla 7. Valor de la variable RV1 (máxima reducción virémica durante la 1º semana de biterapia), según el Nivel de Exigencia Fibro-virológico (NEF)

NIVEL DE EXIGENCIA FIBRO-UIROLÓGICA (NEF)	RV1 (log ₁₀ UI/ml) CURADOS	RV1 (log ₁₀ UI/ml) NO CURADOS	OR (IC 95%)	P-value	TASA RVS	AUROC	Sensibilidad (%) / 1-Especificidad (%)
NEF 5 (n=7) CVB > 6 * 10 ⁶ UI/ml	-3.3 ± 1.1	-1.2 ± 0.48	3,2 (1,2-7,5)	0,014	1/7 (14,2%)	0,84	98 % / 63 %
NEF 4 (n=32) CVB (6 x 10 ⁶ - 3 x 10 ⁶ UI/ml) y/o Cirrosis hepática (F4)	-2.2 ± 0.7	-0.7 ± 0.5	7.5 (2.1-27.2)	0.002	13/32 (40,6%)	0,88	88 % / 7 %
NEF 3 (n=27) F0-F3 + CVB (2999999-850000 UI/ml)	-2.1 ± 0.6	-0.6 ± 0.5	46,6 (1,9-1103)	0,016	15/27 (55,5%)	0,92	92 % / 20 %
NEF 2 (n=17) F0-F3 + CVB (850000-100000 UI/ml)	-2.0 ± 1.3	-0.45 ± 0,25	21,6 (0,79-592)	0,07	10/17 (58,8%)	0,92	86 % / 10 %
NEF 1 (n=16) F0-F3 + (CVB <100000 UI/ml)	-2.0 ± 1.0	-0.85 ± 0.47	2,9 (0,5-16,8)	0,05	15/16 (93,7%)	0,73	70 % / 7 %

Variables categóricas expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje). Variables cuantitativas expresadas como media ± desviación estándar. IC 95% (intervalo de confianza al 95%), sólo para variables estadísticamente significativas. OR (Odds Ratio), sólo para variables estadísticamente significativas.

NEF (Nivel de Exigencia Fibro-virológica), RV1 (máxima reducción virémica respecto a la carga viral basal durante 1ª semana biterapia, bien 3º o 7º día), IMC (índice de masa corporal), CVB (carga viral basal), Log₁₀ (logaritmo decimal), pg/ml (picogramo/mililitro), HOMA-IR (Homeostasis Model of Assessment - Insulin Resistance), mg/dl (miligramo/decilitro), UI/ml (Unidades internacionales / mililitro), RNA (ácido ribonucleico), VHC (virus de la hepatitis C), P-valor (significación estadística), F0-F3 (fibrosis METAVIR F0-F3, no cirrótico)

En la tabla 8 se exponen como se distribuyó la reducción máxima de la viremia respecto a la basal que presentaron durante la 1ª semana de biterapia los pacientes que fueron incluidos en el estudio, dependiendo del genotipo de la Interleucina 28b que tuvieran y la distribución de rangos de la variable RV1 en los pacientes con cirrosis hepática (F4).

Tabla 8. Valor de la variable RV1 en función del genotipo IL-28B y grado de fibrosis.

REDUCCIÓN MÁXIMA VIREMIA 1ª SEMANA TERAPIA (RV1)	PACIENTES (n, %)	GENOTIPO CC (n, %)	GENOTIPO CT/TT (n, %)	METAVIR F4 (n, %)
CAÍDA > 2,5 log RNA-VHC	21 (21,2)	15 (71)	6 (28,5)	1 (4)
CAÍDA (< 2,5 – 1,4 log RNA-VHC)	28 (28,3)	16 (57)	12 (43)	5 (24)
CAÍDA (1,39 – 1,2 log RNA-VHC)	23 (23,2)	7 (30)	16 (69)	6 (28)
CAÍDA (1,1 y 0,8) log RNA-VHC	27 (27,3)	3 (11)	24 (89)	9 (43)

VARIABLES CATEGÓRICAS expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje). VARIABLES CUANTITATIVAS expresadas como media ± desviación estándar. IC 95% (intervalo de confianza al 95%), sólo para variables estadísticamente significativas. OR (Odds Ratio), sólo para variables estadísticamente significativas.

IMC (índice de masa corporal), CVB (carga viral basal), Log₁₀ (logaritmo decimal), pg/ml (picogramo/mililitro), HOMA-IR (Homeostasis Model of Assessment - Insulin Resistance), mg/dl (miligramo/decilitro).

En la tabla 9 se exponen las variables que resultaron estadísticamente significativas en el análisis de regresión logística multivariante relacionadas con la presencia de la respuesta virológica de la primera semana (RVPS). Podemos observar como los pacientes con niveles elevados de IP-10 basal, la presencia de un genotipo IL-28B CT/TT, un elevado aclaramiento de creatinina basal y la pertenencia a un NEFV elevado (4 o 5) se asociaron a peores tasas de RVS.

Tabla 9. Variables relacionadas con presencia de RVPS en análisis de regresión logística multivariante

VARIABLE	ODDS RATIO IC 95%	P-VALUE
IP-10 basal (pg/ml)	1,1 (1,0-1,2)	0,027
IL-28B genotype (CT/TT)	19,1 (4,9-73,5)	< 0,0001
Aclaramiento creatinina (ml/hora)	1,1 (1,0-1,2)	0,004
NEF altos (NEL 5 o 4)	2,3 (1,3-4,1)	0,005

Variables categóricas expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje). Variables cuantitativas expresadas como media \pm desviación estándar. IC 95% (intervalo de confianza al 95%), sólo para variables estadísticamente significativas. OR (Odds Ratio), sólo para variables estadísticamente significativas.

Abreviaturas: IMC (índice de masa corporal), CVB (carga viral basal), Log₁₀ (logaritmo decimal), pg/ml (picogramo/mililitro), HOMA-IR (Homeostasis Model of Assessment - Insulin Resistance), mg/dl (miligramo/decilitro).

6.6. NIVELES DE EXIGENCIA LIPÍDICA

En la tabla 10 se exponen los 5 niveles de exigencia lipídica que diseñamos para distribuir los pacientes que fueron incluidos en nuestros

estudios en función de 3 variables: la carga viral basal, el grado de fibrosis hepática y el valor del ratio de infectividad que presentaron los pacientes durante el 1º mes de biterapia antiviral.

Podemos observar como los pacientes pertenecientes a los niveles de exigencia lipídica elevados (5 y 4), que son pacientes cirróticos tuvieron menores tasas de metabolismo lipídico favorable (MLF) y menores tasas de curación (RVS).

Tabla 10. Niveles de exigencia lipídica o NEL

NEL n (%)	Pacientes según: * grado fibrosis * Carga viral basal *Ratio de infectividad	LDL media Necesaria (mg/dl)	Presencia de Metabolismo Lipídico Favorable (n=58) n (%)	Ausencia de Metabolismo Lipídico Favorable (n=41) n (%)	RVS n (%) 51 (51,5 %)
NEL 5 24(24,2 %)	Cirrosis hepática CVB > 3 x 10 ⁶ RI >3,2	≥ 110	8 (13,7 %)	16 (39 %)	6 (25 %)
NEL 4 20 (20,2 %)	Cirrosis hepática CVB > 3 x 10 ⁶ RI < 3,2	≥ 105	5 (8,6 %)	15 (36,6 %)	7 (35 %)
NEL 3 13 (13,1 %)	No cirróticos (F0-F3) CVB (2,9 x 10 ⁹ - 1x 10 ⁵) RI > 3,2	≥ 80	10 (17,2 %)	3 (7,3 %)	9 (69,2 %)
NEL 2 29 (29,2 %)	No cirróticos (F0-F3) CVB (2,9 x 10 ⁹ - 1x 10 ⁵) RI < 3,2	≥ 65	23 (39,6 %)	6 (14,6 %)	17 (58,6 %)
NEL 1 13 (13,1 %)	No cirróticos (F0-F3) CVB < 1 x 10 ⁵	≥ 45	12 (20,7 %)	1 (2 %)	12 (92,3 %)

Variables categóricas expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje).

IC 95% (intervalo de confianza al 95%), sólo para variables estadísticamente significativas.

OR (Odds Ratio), sólo para variables estadísticamente significativas

IMC (índice de masa corporal), CVB (carga viral basal), Log_{10} (logaritmo decimal), mg/ml (miligramo/mililitro), LDL (lipoproteínas de baja densidad), NEL (Nivel de exigencia lipídica), CVB (Carga viral basal), Cirróticos (Metavir F4), No cirróticos (Metavir F0-F3), RVS (curación virológica o respuesta virológica sostenida), RI (ratio de infectividad).

Partiendo de la hipótesis de que un paciente cirrótico (F4) es más difícil a priori de curar con biterapia que un sujeto no cirrótico (F0-F3), y que no es lo mismo intentar curar con biterapia un paciente con CVB muy alta ($\text{RNA-VHC} > 3 \times 10^6$) que a otro portador de una carga viral más baja, establecimos 5 “Niveles de Exigencia Lipídica (NEL)”.

En él que fueron distribuidos nuestros pacientes y que estaban basados en el grado de fibrosis hepática (Cirrosis versus F0-F3), carga viral basal (CVB con diferentes rangos de viremia pretratamiento) y una 3ª variable basada en cinética lipídica (ratio de infectividad elevado o bajo durante el 1º mes de biterapia), dependiendo de si el valor registrado de esta variable era mayor o igual a 3,2.

Así cada uno de los pacientes de nuestro estudio fue asignado a un determinado NEL en base a estas 3 variables. Se estableció una

concentración mínima media necesaria de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia distinta en cada uno de los niveles de exigencia lipídica. Si el paciente conseguía mantener durante ese periodo unas concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol al menos igual o superior al punto de corte de LDL-colesterol que se exigía para cada NEL, consideraríamos que este paciente había presentado durante el 1º mes de biterapia una cinética o “Metabolismo Lipídico Favorable (MLF)”.

En caso de que las concentraciones medias de LDL-colesterol durante este periodo hubieran sido inferiores a las exigidas para el NEL al que pertenecía dicho paciente, estableceríamos que éste sujeto no había presentado cinética lipídica favorable (ausencia de MLF).

Niveles 5 y 4 de Exigencia Lipídica (NEL 5 y 4):

En estos NEL fueron asignados los pacientes, que a priori, eran más difíciles de curar (cirróticos o F4) y/o CVB muy elevada (>3.000.000 UI/ml). Si presentaban, además un ratio de infectividad elevado durante el 1º mes de terapia eran asignados al Nivel 5 o NEL 5, mientras que si era bajo (<3,2), eran asignados al Nivel 4 o NEL 4.

Para que dichos pacientes alcanzaran lo que llamaríamos un “Metabolismo Lipídico Favorable (MLF)”, era necesario que mantuviesen

unos niveles medios de LDL-colesterol durante el 1º mes de terapia (mLDLc) más elevados para poderse curar, como reflejo de una actividad óptima de la lipoprotein lipasa, como mecanismo compensador y limitante de la infectividad viral a través de los receptores de LDL-colesterol. Así se estableció la necesidad de mantener durante el 1º mes de terapia unas concentraciones plasmáticas mínimas por encima de 110 mg/dl para (NEL 5) y de 105 mg/dl para (NEL 4).

Estos puntos de corte fueron obtenidos de la curva COR que asociaba las concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia con las tasas de curación virológica (RVS), que para el punto de corte establecido para NEL 5 (mLDLc > 110 mg/dl), el área bajo la curva (AUROC) fue 0,94 (p =0,01) con un sensibilidad del 100 % y una tasa de falsos positivos (1-especificidad) del 6%.

De nuestro estudio, 24/99 pacientes fueron asignados al NEL 5 (24,2 %): de ellos sólo 6 alcanzaron la RVS (25 %), mientras que para el punto de corte seleccionado para el NEL 4 (mLDLc > 105 mg/dl), el área bajo la curva (AUROC) fue 0,94 (p =0,01) con un sensibilidad también del 100 % y una tasa de falsos positivos (1-especificidad) del 6%. De nuestro estudio,

20/99 pacientes fueron asignados al NEL 4 (20,2 %): de ellos sólo 7 alcanzaron la RVS (35 %).

Para el Nivel de Exigencia lipídica 3 o 2 :

A este grupo fueron asignados los pacientes no cirróticos (F0-F3) con $CVB < 3 \times 10^6$, de forma que si tenían un ratio de infectividad elevado, eran asignados al NEL 3, y si éste era bajo, pertenecía al NEL 2: en ambos niveles la concentración media de LDL-colesterol que tendría que mantener el paciente para alcanzar el llamado MLF sería inferior a 100 mg/dl, estableciéndose como punto de corte para el NEL 3 un valor medio de mLDLc de al menos 80 mg/dl, mientras que para el NEL 2, un valor mLDLc de al menos 65 mg/dl.

El punto de corte establecido para NEL 3 (mLDLc > 80 mg/dl), el área bajo la curva (AUROC) fue 0,73 ($p = 0,02$) con un sensibilidad del 85 % y una tasa de falsos positivos (1-especificidad) del 50%. De nuestro estudio, 13/99 pacientes fueron asignados al NEL 3 (13,1 %): de ellos 9 alcanzaron la RVS (69,2 %), mientras que para el punto de corte seleccionado para el NEL 2 (mLDLc > 65 mg/dl), el área bajo la curva (AUROC) fue 0,70 ($p = 0,05$) con un sensibilidad también del 95 % y una

tasa de falsos positivos (1-especificidad) del 78 %. De nuestro estudio, 29/99 pacientes fueron asignados al NEL 2 (29,3 %): de ellos 17 alcanzaron la RVS (58,6 %)

En el nivel 1 (NEL 1) fueron asignados aquellos sujetos no cirróticos (F0-F3) con carga viral basal muy baja (RNA-VHC < 100000 UI/ml), independientemente del valor del ratio de infectividad. Para que el paciente alcanzara un MLF se estableció un valor medio de mLDLc de al menos 45 mg/dl. Al NEL 1 fueron asignados 13 pacientes (13,1 %), se curaron todos menos 1 (RVS =92,3%).

6.7. METABOLISMO LIPÍDICO FAVORABLE

La tasa de Metabolismo Lipídico Favorable (MLF) hallada en cada Nivel de Exigencia Lipídica (NEL) fue, respectivamente: NEL 5 (8/24; 33,3 %), NEL 4 (5/20; 25%), NEL 3 (10/13; 76,9%), NEL 2 (23/29; 79,3%) y NEL 1 (12/13; 92,3%): OR 2,3, IC 95% (1,6-3,3); $p < 0,0001$.

Así observamos como en los niveles de exigencia lipídica elevados (4 y 5) predominaban los pacientes que no alcanzaban un metabolismo o cinética lipídica favorable, por ello, se curaban menos. Sin embargo, los pacientes pertenecientes a niveles de exigencia lipídica inferiores (3- 1) la tasa de presencia de MLF fue mayor, invirtiéndose la tendencia a curarse

con mayor probabilidad: presencia de metabolismo lipídico favorable (MLF) en 41/51 (80,4 % en el grupo RVS frente al 35,4% (17/48) (grupo sin RVS): OR 7,4, IC 95% (3,0-18,6); $p < 0,0001$. Además estas diferencias se mantenían independientemente del genotipo de la ILE-28B que tuviera el paciente.

Se confirmó que los pacientes que habían presentado un metabolismo lipídico favorable (MLF) mantenían unas concentraciones plasmáticas medias durante el 1º mes de biterapia superiores de forma estadísticamente significativa (media 104 mg/dl, DE = 25) a las que se registraron en paciente que tuvieron una cinética lipídica desfavorable, en la que no alcanzaron el umbral de LDL-colesterol establecido para su NEL (media 73 mg/dl, DE = 19); OR 1,1; IC 95% (1,04-1,09); $p < 0,0001$.

Además, observamos que los pacientes que tenían un genotipo favorable de la IL-28B (CC) presentaron con mayor frecuencia un metabolismo lipídico favorable (MLF) durante el 1º mes de terapia de forma estadísticamente significativa que aquellos con genotipo desfavorable: presencia de un MLF: (27/39, 69,2 %) si genotipo CC frente al grupo CT/TT (27/60, 45 %): OR 2,5; IC 95 % (1,1-6,0), $p = 0,03$.

En la tabla 11 la relación del metabolismo lipídico en pacientes infectados crónicamente por el VHC genotipo 1 y el grado de esteatosis hepática (ausencia de la misma) frente a un grado de esteatosis hepática moderada-severa.

Tabla 11. Relación entre el metabolismo lipídico y esteatosis hepática.

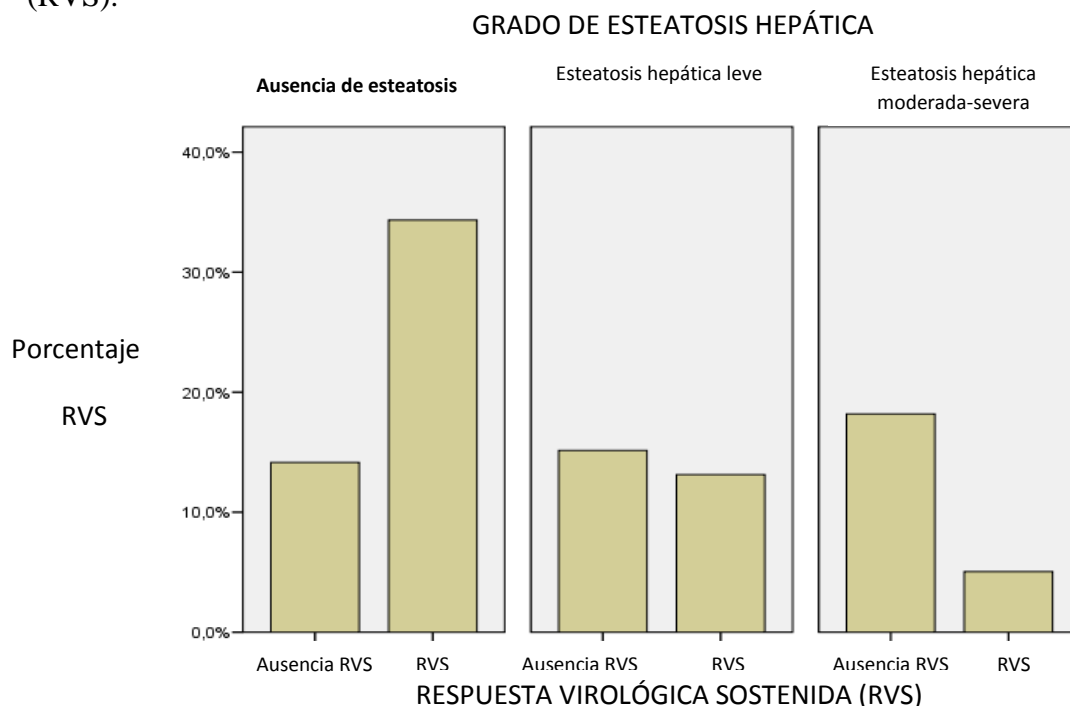
	Ausencia Esteatosis hepática	Esteatosis Hepática Moderada- severa	Odds Ratio	IC 95%	Valor P
VLDL basal, media (DE), mg/dl	15,0 (4,3)	21,1 (7,9)	1,1	(1,0-1,2)	0,005
Ratio infectividad (1º mes de terapia), media (DE)	2,9 (2,8)	4,5 (3,0)	1,1	(1,0-1,1)	0,042
Ratio de infectividad elevado (RI > 3,2), n (%)	13 (27,1%)	13 (56,5%)	1,9	(1,1-4,4)	0,048
HDL-colesterol medio (1º mes terapia) Media (DE), mg/dl (Sólo genotipo CT/TT)	50 (19)	40 (12)	0,85	(0,7-0,9)	0,033
Genotipo CC, n (%)	26 (54,2 %)	5 (21,7 %)	1,3	(1,1-1,5)	0,013
Genotipo CT/TT, n (%)	22 (45,8 %)	18 (78,3 %)	-	-	0,754
RVS, n (%)	33 (68,8 %)	5 (21,7 %)	0,2	(0,1-0,6)	< 0,0001
Ausencia RVS, n (%)	15 (31,3%)	18 (78,3 %)	0,5	(0,2-0,9)	< 0,0001

Variables categóricas expresadas en n (valor numérico) y % (porcentaje). Variables cuantitativas expresadas como media (desviación estándar). IC 95% (intervalo de confianza al 95%). OR (Odds Ratio).

IMC (índice de masa corporal), CVB (carga viral basal), Log_{10} (logaritmo decimal), pg/ml (picogramo/mililitro), ml/h (milímetro/minuto), HOMA-IR (Homeostasis Model of Assessment - Insulin Resistance), mg/dl (miligramo/decílitro), LDL (lipoproteínas de baja densidad), RVS (respuesta virológica sostenida), RI (ratio de infectividad), VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), HDL (lipoproteínas de alta densidad).

Como podemos ver en la figura 14, los pacientes que presentaron un grado de esteatosis hepática moderada o severa presentaron mayores tasas de fracaso terapéutico, comparado con el grupo de pacientes con ausencia de la misma.

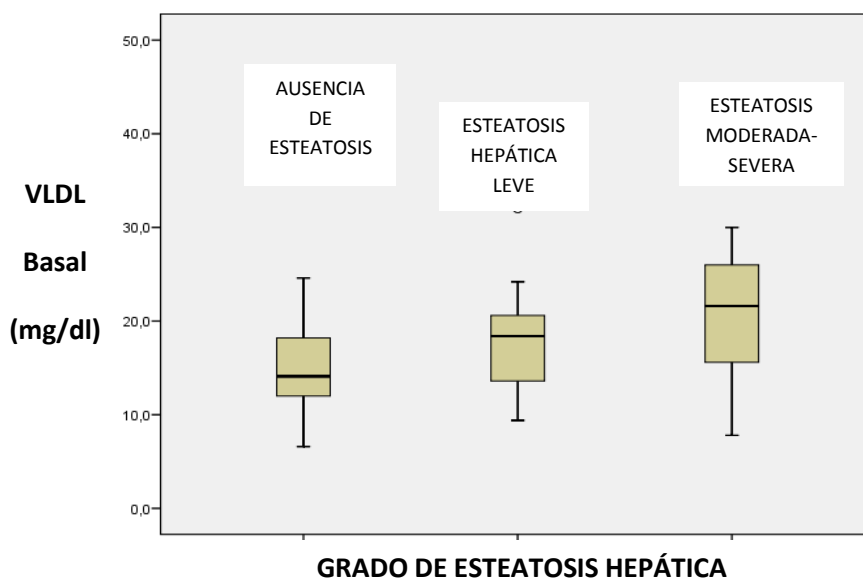
Figura 14. Influencia del grado de esteatosis y las tasas de respuesta virológica sostenida (RVS).



RVS (respuesta virológica sostenida).

Como podemos ver en la figura 15, en los pacientes que tenían un mayor grado de severidad de esteatosis hepática, las concentraciones plasmáticas basales o pretratamiento de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), eran mayores que la de aquellos que presentaban una esteatosis hepática leve o ausente. Por tanto, el grado de esteatosis hepática podría modular el grado de secreción de lipovirpartículas infectadas al plasma, lo que explicaría que los pacientes con esteatosis hepática moderada o severa tuvieran probablemente una mayor secreción de lipovirpartículas y esto, a su vez explicara, al menos en parte, que se curaran menos.

Figura 15. Relación entre las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) basal y grado de esteatosis hepática.



VLDL (concentraciones plasmáticas de lipoproteína de muy baja densidad de colesterol basal); mg/dl (miligramo/decilitro)

6.8. CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE RIBAVIRINA

El peso basal medio fue de 76.4 ± 15 kg. La dosis de Ribavirina más prescrita fue de 1200 mg/día (54.5%). Mientras un 43% de los sujetos tenía un aclaramiento de creatinina (CrCl) menor de 116 ml/h, un 21% tenía un CrCl mayor de 140 ml/h.

El aclaramiento de creatinina basal medio fue de 121 ± 31 mililitro / hora. Dado que la Ribavirina puede producir en los pacientes hemolisis y generar anemia durante el tratamiento, se registraron los valores medios tanto de la hemoglobina basal (14.8 ± 1.4 gramos /decílitro) y el valor medio del volumen corpuscular medio basal (VCM) de 90.7 ± 7.1 fentolitros.

La determinación del pH urinario medio basal de nuestra muestra de pacientes fue de 5.68 ± 0.74 . En todos se realizó un urocultivo para descartar que la muestra estuviera contaminada o el paciente presentara infección del tracto urinario. En ese caso, se extraía una segunda muestra para su análisis en las próximas 24 horas.

Partiendo del hecho que teníamos como objetivo alcanzar unas concentraciones plasmáticas valle de Ribavirina estables al mes de biterapia elevadas de $15 \mu\text{mol/L}$, calculamos en cada paciente, antes de

iniciar la terapia antiviral la dosis óptima diaria de Ribavirina (DODR), empleando la fórmula diseñada por Lindahl (FL).

Para ello, primero calculamos el aclaramiento de Ribavirina y posteriormente la DODR, con objeto de determinar si existía infradosificación respecto a la dosis diaria de Ribavirina realmente prescrita a los pacientes según ficha técnica (1000 o 1200 mg/día), dependiendo sólo del peso corporal. En ese caso, determinaríamos el grado de infradosificación respecto a la dosis establecida por la FL. El aclaramiento de Ribavirina medio basal fue de 17.9 ± 4 .

Como podemos ver en tabla 12, a partir de un aclaramiento de creatinina basal mayor de 140 ml/hora y un grado de infradosificación respecto a la FL de al menos 600 mg/día en biterapia, el hecho de tener unas menores C_{valle} RBV se encontraba asociado a unas menores tasas de RVS. Además, cuando comparábamos la dosis real de Ribavirina que el paciente, en realidad estaba recibiendo, con la dosis que establecía la FL, observamos que 43/99 de los sujetos (43.4%) estaban correctamente dosificado o con una infradosificación inferior a 200 mg/día, 35/99 (35.3%) infradosificados 400 mg/día y hasta 21/99 (21.2%) al menos 600 mg/día.

Aquellos con un grado de infradosificación respecto a la FL mayor de 400 mg/día tenían un aclaramiento de creatinina medio mayor (122 ± 8 ml/h) frente a aquellos que estaban correctamente dosificados (92 ± 12 ml/h): odds ratio (OR) 1.4; intervalo de confianza al 95% (IC 95%) (1.1-1.6); ($p < 0.0001$). Si el grado de infradosificación respecto a la FL era de al menos 600 mg/día, estas diferencias se hacían más significativas: (153.8 ± 29 ml/hora): OR 1.6, IC 95% (1.3-2.0); $p < 0.0001$.

Relación concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de biterapia y tasas de respuesta

La mediana de la C_{valle} de Ribavirina en la semana 4 fue de 1.86 (1.53-2.43) $\mu\text{g/ml}$. Alcanzaron la RVS el 52.5 % de los pacientes: genotipo CC (56 %) frente CT/TT (44%). De los 48 pacientes que no se curaron, la mayoría tenían un genotipo desfavorable (CT/TT: 79 %): OR (Odds Ratio) 1.7, intervalo de confianza (IC) al 95% (1.3-2.5); $p < 0.0001$. Respondedores nulos: 7/99 (7.1 %), respondedores parciales: 12/99 (12.1%), recidiva intratratamiento: 2/99 (2%) y recidivantes: 26/99 (26.3 %).

La tasa de RVR fue del 39%, siendo más frecuente en el genotipo

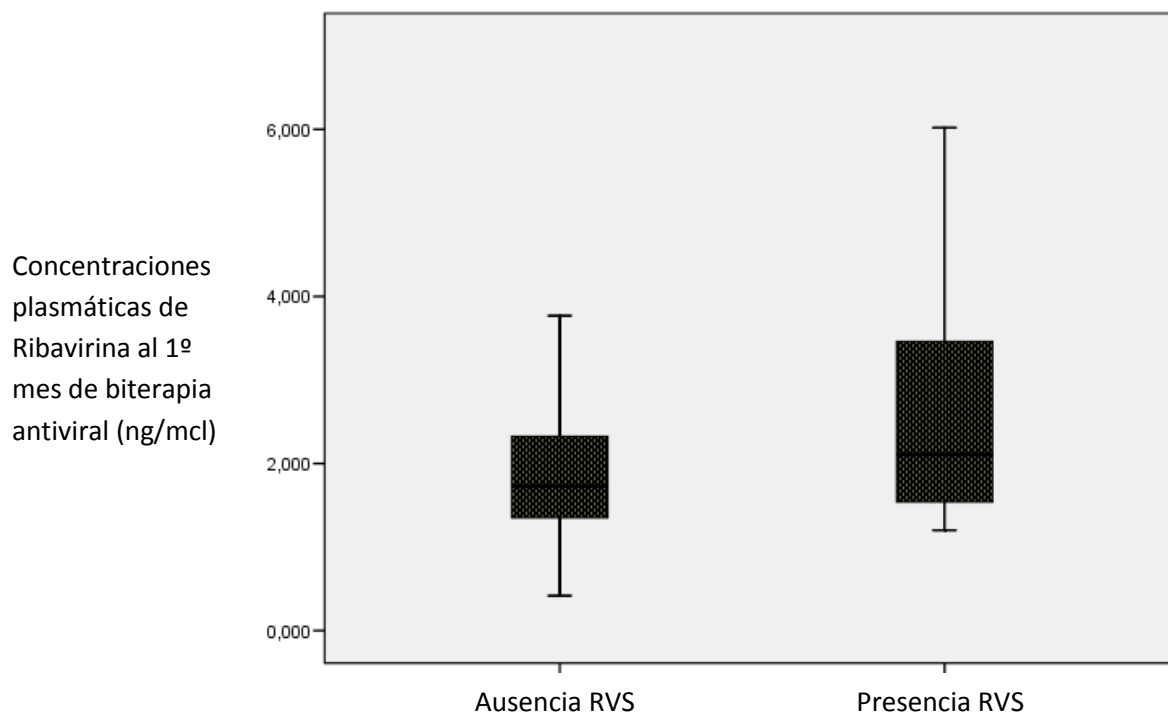
CC (61.5%) frente a CT/TT (38.5 %): OR 1.9, IC 95% (1.3-3.0); $p < 0.0001$.

Las tasas de curación fueron mayores en pacientes con menor fibrosis hepática (F0-F2: 44/70; 62.8%) frente a (F3-F4: 9/29; 31 %): OR 2.9, IC 95% (1.4-5.9); $p = 0.001$; siendo también mayores en sujetos no cirróticos (F0-F3: 46/78, 59 %) frente a F4 (5/21, 23.8 %): OR 4.7, IC 95% (1.7-13); $p = 0.001$.

Aunque, de forma global, mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de biterapia no se asociaron por poco ($p = 0.067$) a mayores tasas de RVS, cuando analizábamos exclusivamente los pacientes según el genotipo IL-28B, sí observamos que los sujetos con genotipo IL-28B desfavorable (CT o TT) se curaban menos cuando se alcanzaban unas concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de biterapia menores.

En la figura 16 se puede observar como los pacientes que tenían un genotipo de la Interleucina 28b desfavorable (CT o TT), si alcanzaban unas concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de biterapia más bajas se curaban menos.

Figura 16. Diagrama de barras entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina y las tasas de RVS en genotipo IL-28B-CT/TT



RVS (respuesta virológica sostenida); ng/ml (nanogramo/microlitro)

Lo mismo ocurría en los pacientes con menor grado de fibrosis hepática (F0-F2), menor inflamación (A0-A1), en aquellos sin resistencia insulínica (HOMA-IR < 2), una edad menor de 40 años, cuando el grado de infradosificación respecto a la fórmula de Lindahl (FL) era de al menos 600 mg/día, así cuando el incremento del VCM al 3º mes de biterapia era inferior a 6 fl, o si el pH urinario al 1º mes de biterapia era menor de 6. El único

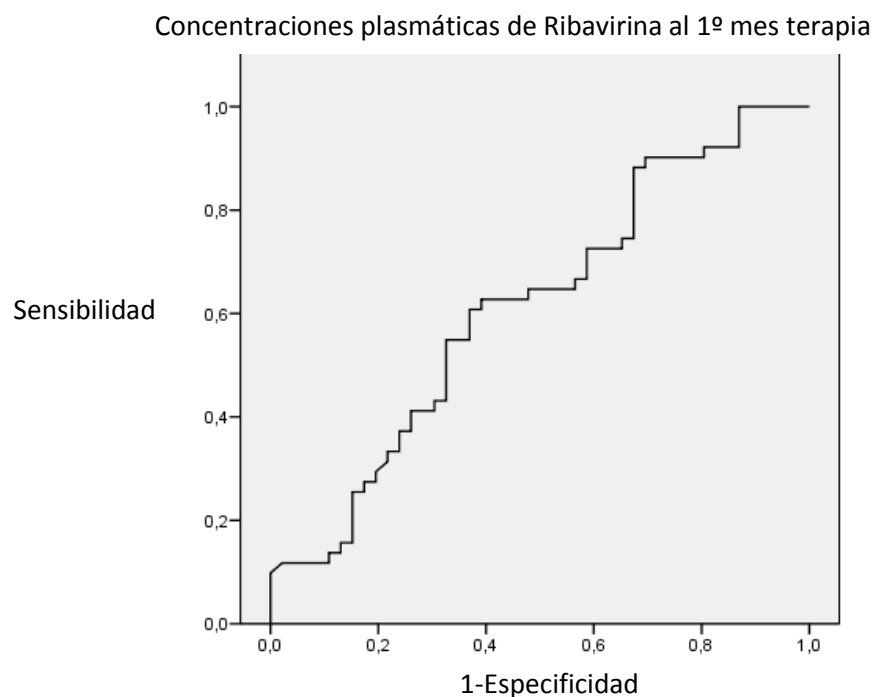
factor de los anteriores asociado a mayores tasas de RVR si el paciente alcanzaba mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina fue una edad menor de 40 años.

También se asociaron a mayores tasas de curación si el paciente presentaba anemia ($Hb < 10$ g/dl), evento que ocurrió en 58.5%, independientemente del genotipo IL-28B que tuviera, siendo crucial que los genotipos desfavorables de la IL-28B desarrollaran anemia para que alcanzaran la RVR: presencia RVR en genotipo CT/TT (13/15: 86.7%) frente a ausencia RVR (25/45: 55.6%); OR 5.2, IC 95% (1.0-25.7); $p = 0.03$, algo que no era significativo para genotipo CC.

El tipo de respuesta obtenida también estuvo condicionada por el grado de infradosificación respecto a la FL: 71.4 % de los respondedores nulos estaban infradosificados respecto a la FL al menos en 600 mg/día, encontrándose correctamente dosificados sólo un 28.6%. Sólo un 25% de los respondedores parciales estaban correctamente dosificados respecto a lo que establecía la FL, mientras que los recidivantes tan sólo un 11% estaban correctamente dosificados, encontrándose infradosificados 400 mg/día (48%) y 600 mg/día (41%): ($p < 0.0001$).

En la figura 17 se expone la curva COR resultante entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina al alcanzar el 1º mes de biterapia y las tasas de respuesta virológica sostenida (RVS). El mejor punto de corte de C_{valle} de Ribavirina en semana 4 que discriminaba entre RVS y ausencia de curación fue de 1.95 $\mu\text{g/ml}$, con un 60% de sensibilidad y una tasa de falsos positivos (1-especificidad del 33%), área bajo la curva = 0.63, $p < 0.05$, mientras que para el desarrollo de anemia fue de 1.85 $\mu\text{g/ml}$, con un 63% de sensibilidad y una tasa de falsos positivos del 33%, área bajo la curva = 0.66, $p = 0.007$.

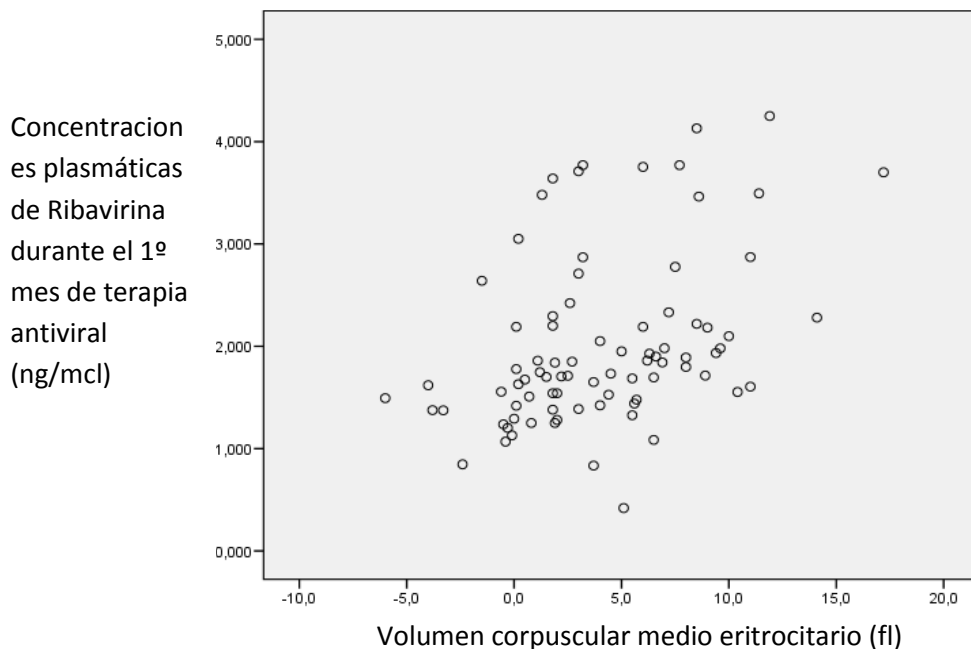
Figura 17. Area bajo la curva de las concentraciones plasmáticas de Ribavirina al 1º mes de biterapia y las tasas de respuesta virológica sostenida (RVS).



6.9. CONCENTRACION PLASMÁTICA DE RIBAVIRINA Y RELACIÓN VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO ERITROCITARIO Y PH URINARIO

En la figura 18 podemos observar como aquellos sujetos con incrementos del VCM al 3° mes de biterapia de al menos 6 fentolitros se asociaron, no solamente a mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina, sino además a mayores tasas de anemia y RVS, encontrándose un coeficiente de correlación de Pearson de 0.53: ($p < 0.01$).

Figura 18. Correlación entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de biterapia y el incremento del volumen corpuscular medio eritrocitario a los 3 meses de biterapia.

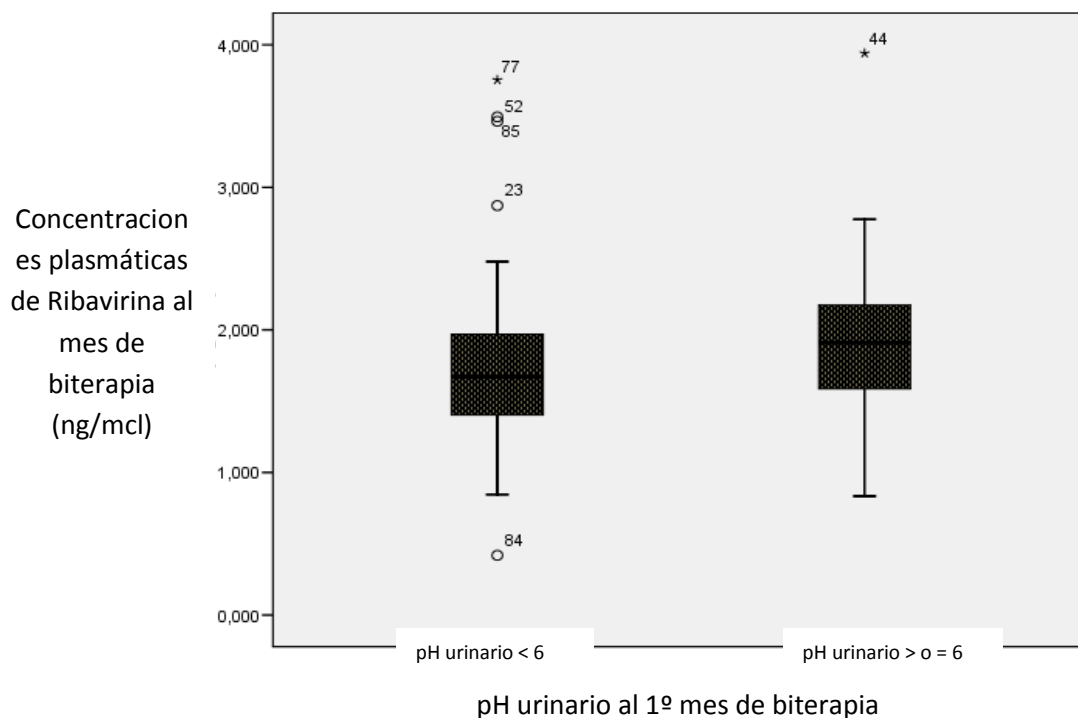


VCM (volumen corpuscular medio); fl (fentolitros); ng/mcl (nanogramos/microlitros)

Los pacientes que al 3º mes de biterapia presentaron un incremento del VCM mayor de 6 fentolitros, tanto si eran excluidos o no los tratados con Epoetina, se asociaron a mayores tasas de anemia (20/29: 69%) que aquellos con incrementos inferiores a 6 fentolitros (23/55: 41.8%): OR 3.1, IC 95% (1.2-8.0); $p = 0.023$. Si se analizaban todos los pacientes, la significación era aún mayor ($p=0.001$).

Sin embargo, aunque un pH urinario mayor de 6 al mes de biterapia estaba asociado a mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de terapia, tal como podemos ver en la figura 19, éste no se asoció a mayores tasas de anemia ni de respuesta virológica sostenida (RVS).

Figura 19. Diagrama de barras entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes y el pH urinario al mes de terapia.



En la tabla 12 podemos observar cómo se curaron menos aquellos pacientes que presentaron un aclaramiento de creatinina mayor. Además, las concentraciones plasmáticas de Ribavirina alcanzadas al mes de biterapia fueron menores en los pacientes que tuvieron basalmente un aclaramiento de creatinina mayor de 140 ml/hora.

En los pacientes que tuvieron un genotipo de la IL-28B desfavorable (CT/TT), el tener unas concentraciones plasmáticas de Ribavirina menores se asoció a menores tasas de curación, algo que no se ponía de manifiesto en el genotipo CC.

Tabla 12. Análisis univariante entre las concentraciones plasmáticas Ribavirina y curación virológica

	RVS (n=52)	Ausencia RVS (n=47)	OR (IC 95%)	P
Aclaramiento de creatinina basal (CrCl), (mililitro/hora)	110 ± 25	132 ± 33	0.97 (0.95-0.99)	0.001
Concentraciones Ribavirina (ng/mcl) (Si CrCl basal > 140 ml/h)	3.0 ± 0.8	1.8 ± 0.7	5.3 (1.3-22.5)	0.022
Concentraciones plasma Ribavirin (ng/mcl)	2.3 ± 0.9	1.9 ± 0.8	1.5 (0.9-2.5)	0.073
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Sólo en genotipo IL-28B CT/TT)	2.5 ± 1.2	1.9 ± 0.8	1.7 (1.0-3.1)	0.05
CrCl basal < 116 ml/h (n = 43), n (%)	32 (61.5)	11 (23.4)	0.9 (0.5-1.7)	0.816
CrCl basal 116-139 ml/h (n = 35), n (%)	14 (26.9)	21 (44.7)	1.3 (0.4-4.1)	0.577
CrCl basal > 140 ml/h, (n = 21), n (%)	6 (11.5)	15 (31.9)	5.3 (1.3-22.5)	0.022
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Sólo si METAVIR F0-F2)	2.2 ± 1.0	1.6 ± 0.5	4.4 (1.4-13.4)	0.009
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Si METAVIR A0-A1)	2.2 ± 0.8	1.7 ± 0.6	2.6 (1.1-6.5)	0.032
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Si HOMA-IR < 2)	2.4 ± 1.1	1.7 ± 0.6	3.1 (1.0-10.2)	0.05
Edad < 40 years	2.5 ± 0.9	1.5 ± 0.6	6.3 (1.4-29.4)	0.02
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Si grado de infradosificación ≥ 600 mg/día)	2.5 ± 0.8	1.8 ± 0.6	3.2 (1.0-9.9)	0.044
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Si grado de infradosificación ≥ 400 mg/día)	2.2 ± 1.1	1.9 ± 0.8	1.3 (0.6-3.0)	0.483
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Si grado de infradosificación 200 mg/day o correcta dosificación)	2.2 ± 1.0	2.1 ± 1.3	1.1 (0.4-2.6)	0.834
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/mcl) (Si incremento del VCM > 6 fl al 3° mes de terapia)	2.8 ± 1.1	2.2 ± 0.7	2.1 (1.0-4.8)	0.044
Concentraciones plasma Ribavirina (ng/μl) (Si increment del MCV > 8 fl al 3° mes de biterapia)	3.1 ± 1.1	2.3 ± 0.7	2.5 (1.0-7.0)	0.037
Presencia de anemia, n (%), (n = 58)	36 (69.2)	22 (46.8)	2.5 (1.1-5.6)	0.029
Presencia de anemia, n (%) (Sólo en METAVIR F0-F2) (n = 44)	33 (75)	11 (42.3)	4.1 (1.4-11.5)	0.006
Presencia de anemia, n (%) (Sólo en genotipo IL-28B CT/TT) (n = 60)	20/23 (87)	18/37 (48.6)	7.0 (1.8-27.8)	0.003

Las variables categóricas se presentan como n (%) y valor de P.

Las variables continuas se expresan como media (desviación estándar) y su valor de P.

RVS (respuesta virológica sostenida); ausencia RVS (ausencia de RVS o curación virológica); CrCl (Aclaramiento de Creatinina); ml (mililitro); h (hora); HOMA-IR (Homeostasis model of assesment of insulin resistance);pg (picogramo); dl (decilitro); IL-28B (Genotipo de la Interleucina 28b); VCM (volumen corpuscular medio eritrocitario); IC (intervalo de confianza); OR (odds ratio), ng/ml (nanogramos/mililitro), fl (fentolitro).

En la tabla 13 exponemos los factores que encontramos asociados a la variable “concentraciones plasmáticas valle de Ribavirina al mes de biterapia”, dependiendo del punto de corte analizado: (2; 2.5 y 3.0 ng/ml).

Podemos observar en ella como los varones alcanzaban unas concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes más bajas, así como si eran más altos. El aclaramiento de Creatinina y Ribavirina condicionaba las concentraciones plasmáticas de Ribavirina alcanzada también.

Fue un dato muy llamativo el encontrar que el grado de fibrosis se encontraba estrechamente relacionado con las concentraciones plasmáticas de Ribavirina alcanzada al mes de biterapia en los pacientes con menor grado de fibrosis (F0-F2), siendo menos relevante en los pacientes con mayor grado de fibrosis (F3-F4), lo que pone de manifiesto que los primeros eran los que más se podían beneficiar de alcanzar unas concentraciones plasmáticas de Ribavirina mayores, y por tanto, de monitorizar el pH urinario al mes y de los cambios de VCM al 3º mes de biterapia,

Tabla 13. Análisis univariante para 3 puntos de cortes de concentraciones plasmáticas de Ribavirina

Punto de corte de concentración plasmática de Ribavirina 2.0 ng/ml al 1º mes de biterapia				
	≥ 2.0 ng/ml (n=43)	< 2.0 ng/ml (n=56)	OR (IC 95 %)	P
Varón, n (%)	23 (34.4)	44 (65.6)		
Mujer, n (%)	20 (62.5)	12 (37.5)	3.2 (1.3-7.7)	0.010
Altura (cm)	167.2 ± 9.8	171.4 ± 7.6	1.0 (1.0-1.0)	0.020
IMC (Kg/m ²)	26.4 ± 6	26.7 ± 4	0.9 (0.9-1.0)	0.740
Aclaramiento Ribavirina (ml/h)	17.2 ± 4.2	18.5 ± 4.3	0.9 (0.8-1.0)	0.130
Aclaramiento Creatinina (ml/h)	116.1 ± 30.5	125.4 ± 31.6	0.9 (0.9-1.0)	0.150
pH urinario basal	5.86 ± 0.76	5.55 ± 0.70	1.8 (1.0-3.2)	0.040
Fibrosis hepática (F0-F2), n (%)	25 (36.2)	44 (63.8)		
Fibrosis hepática (F3-F4), n (%)	18 (60)	12 (40)	2.6 (1.0-6.3)	0.03
Hemoglobina basal (g/dl)	14.2 ± 1.2	15.3 ± 1.3	0.5 (0.3-0.7)	0.000
VCM basal (fl)	89 ± 7	91 ± 3	0.9 (0.9-1.0)	0.180
Genotipo IL-28B (CT or TT), n (%)	25 (53.1)	22 (46.9)		
Genotipo IL-28B (CC), n (%)	18 (34.6)	34 (65.4)	0.9 (0.4-2.1)	0.82
Incremento del VCM al 3º mes (fl)	6.0 ± 4.6	3.1 ± 3.8	1.1 (1.0-1.3)	0.004
pH urinario al 1º mes	6.21 ± 0.59	5.92 ± 0.58	2.2 (1.0-4.8)	0.045
Punto de corte de concentraciones plasmáticas de Ribavirina 2.5 ng/ml al 1º mes de biterapia				
	≥ 2.5 ng/ml (n=24)	< 2.5 ng/ml (n=75)	OR (IC 95 %)	P
Ausencia de cirrosis, n (%)	14 (18)	64 (82)		
Cirrosis, n (%)	10 (47.6)	11 (52.4)	3.6 (1.3-10.4)	0.016
Fibrosis hepática (F0-F2), n (%)	12 (17.4)	57 (82.6)		
Fibrosis hepática (F3-F4), n (%)	12 (40)	18 (60)	3.2 (1.2-8.5)	0.022
Varón / Mujer, n (%)	11 (16.4) / 13 (41)	56 (83.6) / 19 (59)	3.5 (1.3-9.4)	0.012
Altura (cm)	165 ± 9	171 ± 8	1.0 (1.0-1.0)	0.007
HOMA-IR > 4 (Si / No), n (%)	10(41.6) / 14(18.6)	14 (58.4) / 61 (81.4)	3.0 (1.1-8.4)	0.031
Hemoglobina basal (g/dl)	14.1 ± 1.3	15.1 ± 1.3	0.6 (0.4-0.8)	0.005
Incremento del VCM al 3º mes (fl)	6.1 ± 4.9	3.6 ± 4.1	1.1 (1.0-1.3)	0.045
Incremento del VCM > 8 fl al 3º mes, (Si / No), n (%)	10 (40) / 14 (18.9)	15 (60) / 60 (81.1)	3.3 (1.0-10.3)	0.037
Punto de corte de concentraciones plasmáticas de Ribavirina 3.0 ng/ml al 1º mes de biterapia				
	≥ 3.0 ng/ml (n=19)	< 3.0 ng/ml (n=80)	OR (IC 95 %)	P
Cirrosis (No / Si), n (%)	9 (11.7) / 10 (47.6)	68 (88.3) / 11 (52.4)	9.9 (2.7-36.4)	0.001
Fibrosis hepática (F0-F2 / F3-F4), n (%)	9 (13) / 10 (33.3)	60 (87) / 20 (66.7)	3.4 (1.1-9.9)	0.027
HOMA-IR basal	5.3 ± 5.4	2.9 ± 3.1	1.1 (1.0-1.3)	0.04
Altura (cm)	163 ± 8	171 ± 8	1.0 (1.0-1.0)	0.002
HOMA-IR > 4 (Si / No), n (%)	9 (37.5) / 10 (13.3)	15 (62.5) / 65 (86.7)	3.8 (1.3-11.6)	0.013
Hemoglobina basal (g/dl)	14.1 ± 1.3	15.1 ± 1.3	0.6 (0.4-0.8)	0.021
Incremento del VCM (3º Mes) (fl) *	7.0 ± 5.0	3.6 ± 4.1	1.2 (1.0-1.4)	0.014
Incremento del VCM > 6 fl (3º Mes) * (Si / No), n (%)	11 (29.7) / 8 (13)	26 (70.3) / 54 (87)	3.6 (1.1-12.4)	0.039
Incremento VCM > 8 fl (3º mes) * (Si / No), n (%)	10 (38.4) / 9 (12)	16 (61.6) / 64 (88)	5.8 (1.7-20.4)	0.003
HOMA-IR 1º mes biterapia	5.5 ± 6.1	3.2 ± 2.5	1.2 (1.0-1.3)	0.032

ng/ml (nanogramo/microlitro); HOMA (Homeostasis model assessment); cm (centímetro); VCM (volumen corpuscular medio eritrocitario); IMC (índice de masa corporal); kg (kilogramo); m (metro); ml/h (mililitro/hora); IL-28B (Genotipo de la Interleucina 28b); IC (intervalo de confianza).

En la tabla 14 se exponen las variables que resultaron estadísticamente significativas en el análisis de regresión logística multivariante relacionadas con cada uno de los puntos de cortes que seleccionamos para la variable “concentraciones plasmáticas de Ribavirina al 1º mes de biterapia”.

Podemos observar como tanto el grado de fibrosis hepática como el incremento del volumen corpuscular medio eritrocitario (VCM) al 3º mes de biterapia son variables estadísticamente significativas relacionadas con las concentraciones plasmáticas de Ribavirina del 1º mes de biterapia, independientemente del punto de corte seleccionado para ésta última.

El pH urinario al mes de terapia también fue un factor significativo en el análisis multivariante cuando el punto de corte seleccionado es igual o superior a 2 nanogramos /microlitro.

Tabla 14. Análisis multivariante de los 3 niveles de concentraciones plasmáticas de Ribavirina

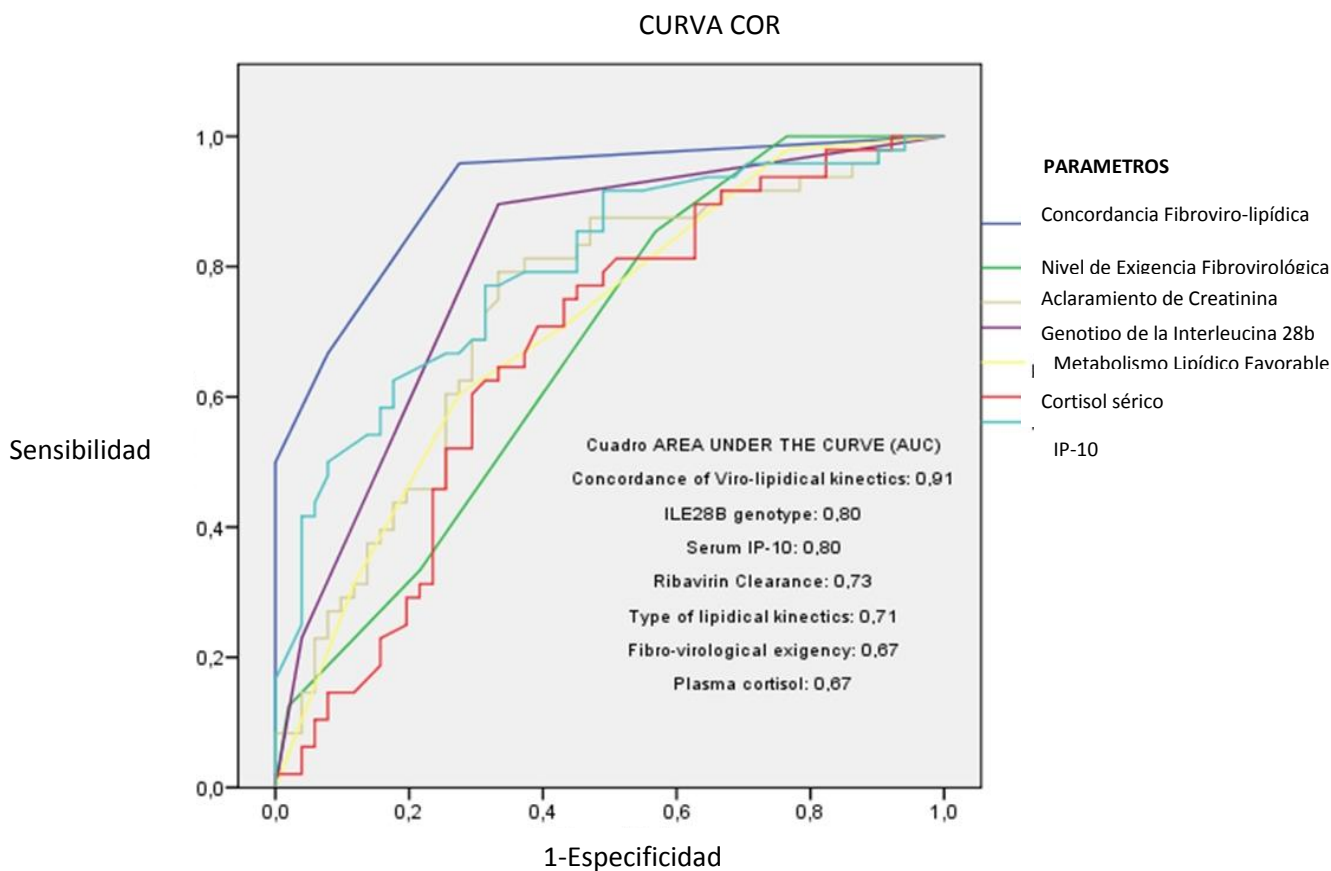
Punto de corte de concentraciones plasmáticas Ribavirina 2.0 ng/mcl en el 1º mes de biterapia		
	Odds Ratio (IC 95 %)	Valor de P
Sexo	0.9 (0.1-0.6)	0.010
Fibrosis Hepática (F0-F2 / F3-F4)	7.3 (1.1-46.8)	0.035
Reducción de la viremia al mes de biterapia respect a la basal (Log ₁₀ RNA-VHC)	0.5 (0.3-0.9)	0.016
Incremento del VCM al 3º mes de biterapia (fl) **	1.3 (1.1-1.6)	0.003
Punto de corte de concentraciones plasmáticas Ribavirina 2.5 ng/mcl al 1º mes de biterapia		
	Odds Ratio (IC 95 %)	Valor de P
Fibrosis hepática (METAVIR F0-F2 / F3-F4)	8.2 (2.0-33.7)	0.003
Incremento del VCM al 3º mes (fl) **	1.2 (1.0-1.4)	0.044
pH urinario > 6 al 1º mes de terapia	5.1 (1.3-20.7)	0.021
Punto de corte de concentraciones plasmáticas Ribavirina 3.0 ng/mcl al 1º mes de biterapia		
	Odds Ratio (IC 95 %)	Valor de P
Fibrosis hepática (METAVIR F0-F2 / F3-F4)	8.2 (2.0-33.7)	0.003
Incremento del VCM al 3º mes (fl) **	1.2 (1.0-1.4)	0.04
pH urinario > 6 al 1º mes	5.1 (1.3-20.7)	0.021

ng/mcl (nanogramo/microlitro); HOMA (Homeostasis model assessment); cm (centímetro); VCM (volumen corpuscular medio eritrocitario); IMC (índice de masa corporal); kg (kilogramo); m (metro); ml/ h (mililitro/hora); IL-28B (Genotipo de la Interleucina 28b); IC (intervalo de confianza); Log₁₀ (logaritmo decimal), RNA-VHC (viremia o carga viral de la hepatitis C)

6.10. ANÁLISIS MULTIVARIANTE DEL MODELO PREDICTIVO: CURVA COR Y ÁREA BAJO LA CURVA

En la tabla 15 podemos ver los 2 modelos obtenidos en el análisis de regresión logística multivariante, que servirán para la selección de las variables empleadas en las diferentes escalas predictivas y la curva COR resultante, que se expone en la figura 20.

Figura 20. Curva COR del modelo predictivo para el diseño de la herramienta diagnósticas



Concordance of viro-lipidical kinetics (presencia simultánea de respuesta virológica de la primera semana y metabolismo lipídico favorable); IL-28B (genotipo de la Interleucina 28b); serum (sérico); Ribavirin clearance (aclaramiento de Ribavirina); Type of lipidical kinetics (metabolismo lipídico favorable); Fibro-virological exigency (Nivel de Exigencia Fibro-virológica);

Tabla 15. Modelos multivariados asociados a la presencia de respuesta virológica sostenida

VARIABLES	MODELO 1		MODELO 2	
	Odds ratio (IC 95%)	Valor de P	Odds Ratio (IC 95%)	Valor de P
Presencia RVPS y MLF	91 (6-1432)	0.001	96 (5 - 1703)	0.002
Cortisol sérico basal (µg/dl)	1.4 (1.0 - 2.00)	0.032	1.52 (1.04 - 2.18)	0.031
Asignación a NEF bajo (NEF 1-3)	4 (1.1 - 15)	0.041	4.15 (1.0 - 16.79)	0.046
Aclaramiento de la creatinina (ml/h)	1.12 (1.03 - 1.21)	0.005		
IP-10 sérica (pg/ml)	1.02 (1.00 - 1.03)	0.014	1.02 (1.00-1.03)	0.015
Genotipo CC de la Interleucina-28b	8 (1.1 - 60)	0.044	7.52 (1.03 - 55)	0.046
Presencia de Metabolismo Lipídico Favorable	78.3 (1.5 - 4016)	0.03	69 (1.31 - 3640)	0.036
Aclaramiento de la Ribavirina (ml/h)	-		2.4 (1.3 – 4.38)	0.006
Sensibilidad (%)	94.1		92.1	
Especificidad (%)	93.8		93.7	
Valor predictivo positivo (%)	94.1		94.0	
Valor predictivo negativo (%)	93.8		91.8	

RVPS (Respuesta virológica de la Primera Semana); MLF (metabolismo lipídico favorable); dl (decilitro); NEF (Nivel de Exigencia Fibro-virológica); ml/h (mililitro/hora); pg (picogramo).

En la tabla 16 mostramos la estructura de las 3 escalas predictivas. La “Escala Basal” se diseñó con 4 variables basales (cortisol e IP-10 plasmáticos, genotipo IL-28B y aclaramiento de creatinina), cuyos puntos de cortes se exponen en suplemento 2, así como las puntuaciones asignadas en función del valor de cada variable.

En la “Escala Viroológica”, cada paciente fue asignado a uno de los 5 Niveles de Exigencia Fibro-viroológicos (NEF), en función de su grado de fibrosis hepática y viremia basal (CVB). Aquel que alcanzaba un valor RV1 igual o superior al establecido en su Nivel de Exigencia Fibro-viroológica alcanzaría la Respuesta Viroológica de la Primera Semana (RVPS), obteniendo una puntuación positiva, mientras que si ésta no era alcanzada, la puntuación obtenida era negativa.

Posteriormente nuestros pacientes fueron asignados a su correspondiente Nivel de Exigencia Lipídica (NEL), en función del grado de fibrosis hepática, viremia basal y valor del ratio de infectividad, de forma que si el valor de la variable mLDLc durante el 1º mes era al menos igual o superior al establecido en el Nivel de Exigencia Lipídica al que había sido asignado, dicho sujeto presentaría un Metabolismo Lipídico Favorable, obteniendo, así, una puntuación positiva, mientras que si era inferior al establecido, era puntuado negativamente.

Tabla 16. Escalas predictivas basal, virológica y lipídica basada en puntuaciones

PARTE 1: BASELINE SCALE

PUNTUACIÓN PARTE 1

A) IP-10 SÉRICA

- | | |
|--------------------------------|-------------|
| a) Si IP-10 \leq 409 pg / ml | (+2 puntos) |
| b) Si IP-10 = 410-599 pg / ml | (-1 punto) |
| c) Si IP-10 > 600 pg / ml | (-2 puntos) |

B) GENOTIPO DE LA INTERLEUCINA-28B (ILE-28B)

- | | |
|----------------------------------|-------------|
| a) Si Genotipo ILE-28B (CC) | (+2 puntos) |
| b) Si Genotipo ILE-28B (CT o TT) | (-2 punto) |

C) CORTISOL SÉRICO (microgramos/decilitro)

- | | |
|--|-------------|
| a) Si Cortisol \leq 12,9 microgramos / decilitro | (+1 puntos) |
| b) Si Cortisol = 13-17,9 microgramos/decilitro | (-1 punto) |
| c) Si Cortisol \geq 18 microgramos/decilitro | (-2 puntos) |

D) ACLARAMIENTO DE CREATININA

- | | |
|--|--------------|
| a) Si Aclaramiento de creatinina \leq 115,9 mililitro / hora | (+ 2 puntos) |
| b) Si Aclaramiento de creatinina = 116-139 mililitro / hora | (- 2 puntos) |
| c) Si Aclaramiento de creatinina \geq 140 mililitro / hora | (- 4 puntos) |

PARTE 2: VIROLOGIC SCALE

PUNTUACIÓN PARTE 2

NIVELES DE EXIGENCIA FIBRO-VIROLÓGICA

RV1 = máxima reducción de la carga viral (\log_{10} UI / ml) al 3º día o 7º día de terapia antiviral.

RVPS = Respuesta Virológica de la Primera Semana.

NIVEL 5: CARGA VIRAL BASAL > 6 x 10⁶ UI/ml)

- | | |
|--|-----------------------------|
| * Si RV1 < 2,5 \log_{10} UI / ml respecto a la carga viral basal: | (- 5 puntos): RVPS |
| * Si RV1 \geq 2,5 \log_{10} UI / ml respecto a la carga viral basal: | (+ 5 puntos): Ausencia RVPS |

NIVEL 4: CARGA VIRAL BASAL entre 5.999.999-3.000.000 UI/ml o F4 (CIRROSIS)

* Si RV1 < 1,4 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(- 5 puntos): RVPS
* Si RV1 ≥ 1,4 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(+ 5 puntos): Ausencia RVPS
NIVEL 3: CARGA VIRAL BASAL entre 2.999.999 – 850.000 UI/ml y F0-F3 (AUSENCIA DE CIRROSIS)	
* Si RV1 < 1,2 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(- 4 puntos): RVPS
* Si RV1 ≥ 1,2 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(+4 puntos): Ausencia RVPS
NIVEL 2: CARGA VIRAL BASAL entre 849.999 – 100.000 UI/ml y F0-F3 (AUSENCIA DE CIRROSIS)	
* Si RV1 < 0,8 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(- 4 puntos): RVPS
* Si RV1 ≥ 0,8 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(+ 4 puntos): Ausencia RVPS
NIVEL 1: CARGA VIRAL BASAL < 100000 IU/ml y F0-F3 (AUSENCIA DE CIRROSIS)	
* Si RV1 < 0,5 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(- 4 puntos): RVPS
* Si RV1 ≥ 0,5 log ₁₀ UI / ml respecto a la carga viral basal:	(+ 4 puntos): Ausencia RVPS
PARTE 3: LIPID SCALE	PUNTUACIÓN PARTE 3 <input type="checkbox"/>
NIVELES DE EXIGENCIA LIPÍDICA (NEL)	
NEL 5: Este nivel se aplicará a pacientes con:	
* CIRROSIS (F4) + RATIO DE INFECTIVIDAD ALTO (RI ≥ 3,2)	
* AUSENCIA DE CIRROSIS + RATIO INFECTIVIDAD ALTO (RI ≥ 3,2) + CARGA VIRAL BASAL ≥ 3.000.000 UI/ml	
A) Si el valor medio de LDL-c durante el 1º mes de terapia (mLDL-c) ≥ 110 mg/dl	(+ 5 puntos): MLF
B) Si el valor medio de LDL-c durante el 1º mes de terapia (mLDL-c) < 110 mg/dl	(- 5 puntos): Ausencia MLD
NEL 4: Este nivel se aplicará a pacientes con:	
* CIRROSIS (F4) + Ratio de infectividad BAJO (RI < 3,2) + Carga viral basal < 3.000.000 UI / ml	
* AUSENCIA DE CIRROSIS + Ratio infectividad BAJO (RI < 3,2) + Carga viral basal ≥ 3000000 UI / ml	
A) Si el valor de mLDL-c es ≥ 105 mg/dl durante el 1º mes de terapia:	(+ 4 puntos): MLF
B) Si el valor de mLDL-c es < 105 mg/dl durante el 1º mes de terapia:	(- 4 puntos): Ausencia MLF
NEL 3: Este nivel se aplicará a pacientes con::	
* FIBROSIS F0-F3 + Ratio de infectividad ALTO (RI ≥ 3,2) + Carga viral basal entre 2.999.999 -100.000 UI / ml	
A) Si mLDL-c ≥ 80 mg/dl durante el 1º mes de terapia:	(+ 3 puntos): MLF
B) Si mLDL-c < 80 mg/dl durante el 1º mes de terapia:	(- 3 puntos): Ausencia MLF

NEL 2: Este nivel se aplicará a pacientes con:

* **FIBROSIS F0-F3 + Ratio de infectividad BAJO (RI < 3,2) + Carga viral basal entre 2.999.999 -100.000 UI / ml**

- A) Si **mLDL-c \geq 65 mg/dl** durante el 1º mes de terapia: **(+ 3 puntos): MLF**
B) Si **mLDL-c < 65 mg/dl** durante el 1º mes de terapia: **(- 3 puntos): Ausencia MLF**

NEL 1: Este nivel se aplicará a pacientes con:

* **FIBROSIS F0-F3 + Ratio de infectividad BAJO (RI < 3,2) + Carga viral basal < 100000 UI/ml**

- A) Si **mLDL-c \geq 45 mg/dl** durante el 1º mes de terapia **(+ 2 puntos):MLF**
B) Si **mLDL-c < 45 mg/dl** durante el 1º mes de terapia **(- 2 puntos): Ausencia MLF**

MLF = Metabolismo Lipídico Favorable)

RI = Ratio de infectividad)

mLDLc = concentraciones medias de LDL-colesterol durante 1º mes (3º, 7º, 14º y 30º día de biterapia)

PARTE 4: TOMA DE DECISIONES

PUNTUACIÓN TOTAL PARTES 1,2,3

Si la puntuación obtenida en ambas escalas (**ESCALA BASAL y ESCALA CINÉTICA**) está comprendida:

A) ENTRE (-4) y (-18) PUNTOS: SUSPENDER terapia al alcanzar la **1ª SEMANA** de terapia: **INICIAR TRIPLE TERAPIA**

B) ENTRE (-3) y (+17) PUNTOS: MANTENER BITERAPIA hasta el 1º mes de terapia. **CALCULAR** puntuación de la **ESCALA LIPÍDICA:**

* Si la puntuación de las 3 **ESCALAS** entre **(+10 punto) y (+22 puntos): MANTENER BITERAPIA (24 SEMANAS).**

* Si la puntuación de las 3 **ESCALAS** entre **(+1 punto) y (+9 puntos): MANTENER BITERAPIA (48 SEMANAS).**

* Si la puntuación de las 3 **ESCALAS** entre **(0 punto) y (-9 puntos): SUSPENDER biterapia. Iniciar TRIPLE TERAPIA de 1ª generación (BOCEPREVIR O TELAPREVIR).**

* Si la puntuación de las 3 **ESCALAS** entre **(-10 puntos) y (-20 puntos): SUSPENDER biterapia. Iniciar TRIPLE TERAPIA de 2ª generación (SIMEPREVIR O SOFOSBUVIR).**

pg/ml (picogramos/mililitro); IL-28B (genotipo de la Interleucina 28b); RV1 (máxima reducción de la carga viral en log₁₀ UI / ml al 3º día o 7º día de terapia antiviral); RVPS (Respuesta virológica de la Primera Semana); NEL (Nivel de Exigencia Lipídica); RI (ratio de infectividad); mLDLc (concentración plasmática media de lipoproteínas de baja densidad de colesterol durante el 1º mes de biterapia).MLF (metabolismo lipídico favorable); mg/dl (miligramo/decilitro).

6.11. DISEÑO DE HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA

El rango de puntuaciones posibles en la primera escala (Baseline scale o Escala Basal) estaba comprendido entre +7 puntos y -10 puntos. El rango de puntuaciones posibles en la segunda escala predictiva (Virologic scale o Escala Viroológica) estaba comprendido entre +5 y -5 puntos.

La suma de puntuaciones de estas 2 primeras escalas (Basal + Viroológica) generaría la primera regla de parada, al establecer qué pacientes no se podrían curar con biterapia antiviral, lo que permitiría que se beneficiaran de suspenderla al final de la 1ª semana de tratamiento, lo que supondría un ahorro de recursos sanitarios y evitar someter al paciente a potenciales acontecimientos adversos relacionados directamente con la terapia antiviral y/o estimulantes de la médula ósea, así como potenciales visitas médicas.

Aquellos pacientes que conseguían superar la 1ª regla de parada, continuaban la biterapia antiviral hasta alcanzar la 4ª semana, siendo necesario determinar las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, LDL-colesterol y HDL-colesterol en los días 14 y 30 de tratamiento, que unidos a los valores obtenidos en el día 3º y 7º de terapia, nos permitiría

obtener las concentraciones plasmáticas medias durante el 1º mes de biterapia, para así determinar el valor del ratio de infectividad y el valor mLDLc (concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol que había presentado dicho paciente durante el 1º mes de tratamiento).

Así conoceríamos si el paciente había alcanzado o no un Metabolismo Lipídico Favorable (MLF). Este dato generaría la 2ª regla de parada, definiendo qué pacientes podrían beneficiarse de suspender la biterapia al final de 1º mes de tratamiento (4º semana), la cual sería ineficaz para curarlos, evitando así costes y acontecimientos adversos potencialmente evitables.

Aquellos pacientes con puntuaciones positivas podrían continuar la biterapia durante 24 (biterapia reducida) o 48 semanas (biterapia estándar), dependiendo de que sus puntuaciones hubiesen sido muy positivas o no, respectivamente. En el primer de los supuestos, el paciente no sólo se beneficiaría de tener que evitar un 3º fármaco (triple terapia), sino que además se beneficiaría de un acortamiento de la duración de la terapia antiviral a la que tendría que ser sometido, generando de nuevo un ahorro potencial de recursos y evitar someter al paciente a acontecimientos adversos producidos por la triple terapia, lo que probablemente mejoraría

la adherencia al tratamiento en estos pacientes.

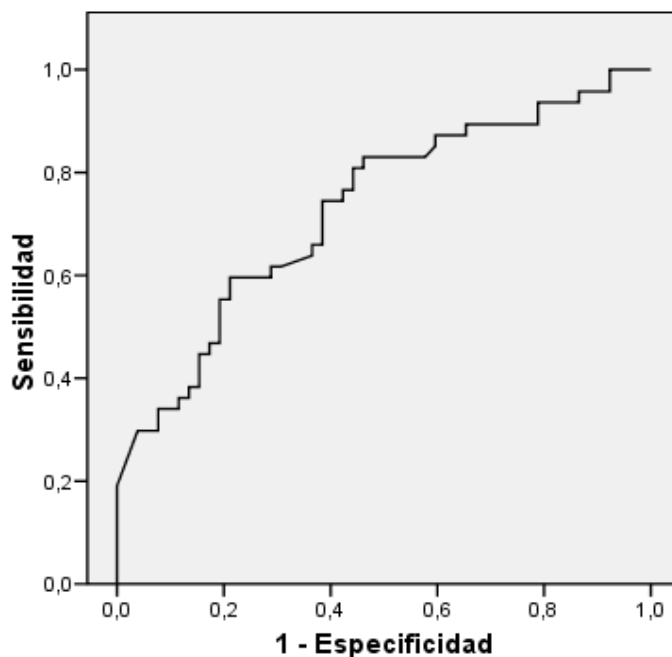
6.11.1. SELECCIÓN DE VARIABLES Y PUNTOS DE CORTE

Para la Escala Basal o Baseline Scale seleccionamos 4 variables: IP-10 plasmática, cortisol plasmático, genotipo de la Interleucina 28b (IL-28B) y aclaramiento de creatinina. A continuación exponemos los puntos de cortes que seleccionamos para cada una de estas variables en sus respectivas curvas ROC resultantes.

Seleccionamos como punto de corte para la variable IP-10 basal los valores de 409.9 pg/ml y 600 pg/ml, con objeto de priorizar la detección de los pacientes que no se iban a curar con biterapia. Ambos tuvieron un valor de sensibilidad y 1-especificidad (tasas de falsos positivos) respectivamente, en el primer caso de 0.50 y 0.19, mientras que para el valor 600 pg/ml, fueron de 0.30 y 0.06.

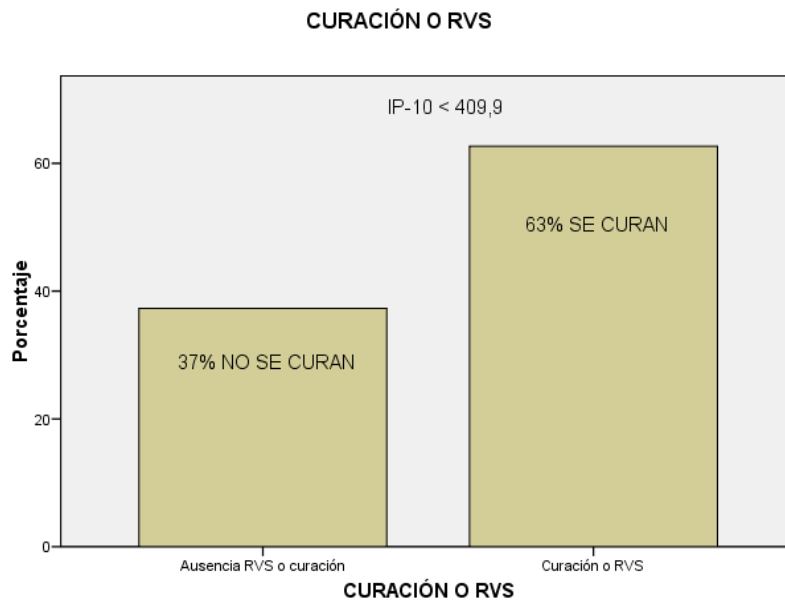
En la figura 21 podemos observar la curva COR resultante para la variable IP-10 para predecir la ausencia de curación. En ella podemos observar un área bajo la curva (AUROC) de 0.73 con un intervalo de confianza al 95% (0.63-0.83); $p < 0.0001$.

Figura 21. Curva COR para la variable basal IP-10.



En la figura 22 podemos observar el diagrama de barras comparativo para el punto de corte inferior seleccionado de la curva COR de la variable IP-10 de 409.9 picogramos/mililitro o menos, como predominan en él los pacientes que consiguen alcanzar la curación.

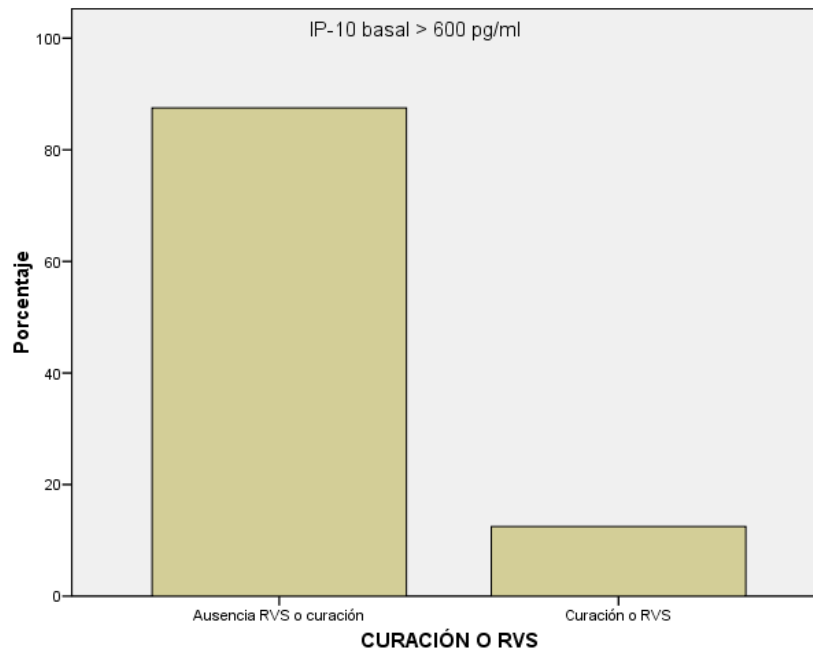
Figura 22. Diagrama de barras para IP-10 menor de 409.9 picogramos/mililitros



RVS (respuesta virológica sostenida)

Sin embargo, como podemos ver en la figura 23, para el punto de corte IP-10 > 600 pg/ml de la Escala Basal, condición que cumplían 16 pacientes, la mayoría no conseguían curarse (14/16; 87,5%) frente a 2/16, que conseguían curarse (12,5%), lo que indica una inversión de la tendencia evidenciada en la figura previa.

Figura 23. Diagrama de cajas comparativo entre las tasas de RVS para el punto de corte de IP-10 mayor de 600 picogramos/mililitro.



pg/ml (picogramos/mililitro); RVS (respuesta virológica sostenida).

A continuación en la tabla 17 exponemos los puntos de corte para la variable IP-10 con sus características de sensibilidad y 1-especificidad.

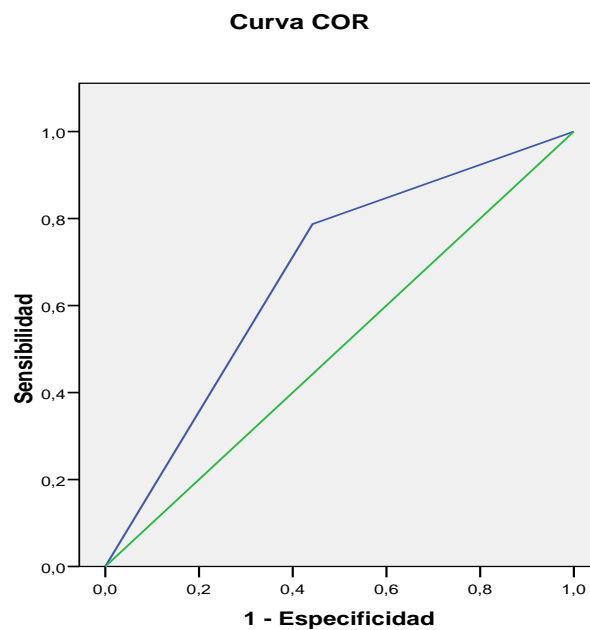
Tabla 17. Curva COR para la variable IP-10.

PUNTO DE CORTE IP-10 (pg/ml)	Sensibilidad NO CURACIÓN	1-Especificidad	IC 95 %	AUROC (Valor de P)
< 409,9	0,51	0,19	0,63-0,83	0,73 (p<0,0001)
410-599	0,62	0,15		
≥ 600	0,30	0,06		

pg/ml (picogramos/mililitro); IC (intervalo de confianza); AUROC (Área bajo la curva).

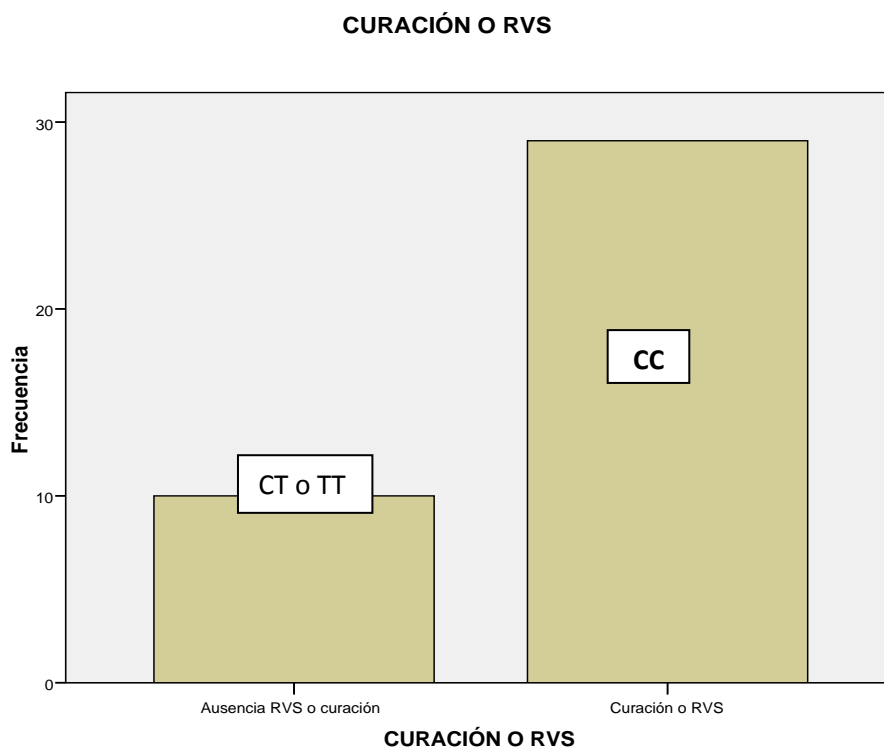
En la figura 24 podemos ver la curva COR de la variable genotipo de la Interleucina 28B (IL-28B) para predecir la ausencia de curación virológica. La curva ROC resultante para la predicción de ausencia de RVS por la variable presencia de genotipo desfavorable (CT o TT) de la Interleucina 28b (IL-28B) tuvo un AUROC de 0.753 con un intervalo de confianza (0.65-0.85); $p < 0.0001$.

Figura 24. Curva COR para la variable genotipo IL-28B



Por otro lado, en la figura 25 podemos observar como la presencia de un genotipo IL-28B favorable (CC) se asociaron a mayores tasas de curación (29/39; 74,4%), mientras que 10/39 (25,6%) no consiguieron curarse.

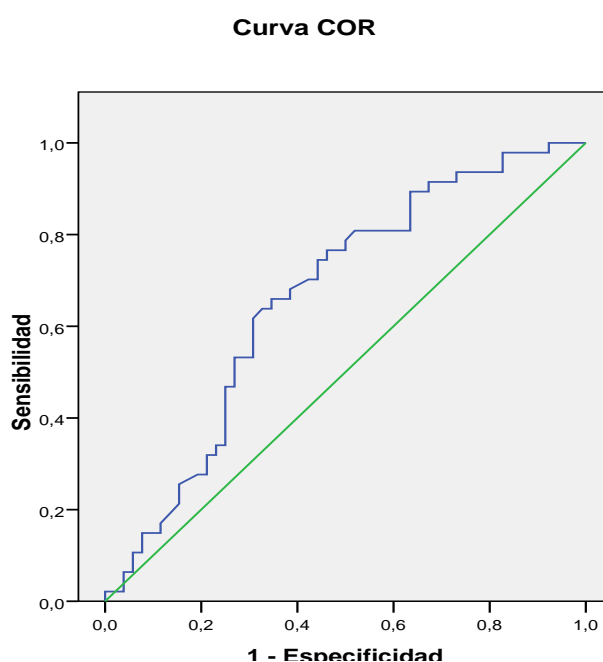
Figura 25. Diagrama de barras para la variable genotipo de la Interleucina 28b (IL-28B): genotipo CC frente a genotipos desfavorables (CT o TT).



CC (Genotipo de la Interleucina 28b); CT o TT (genotipo de la Interleucina 28b CT o TT); RVS (respuesta virológica sostenida)

En la figura 26 presentamos la curva COR para la variable cortisol basal (mcg/ml) para predecir ausencia de curación. Su área bajo la curva fue de 0.67.

Figura 26. Curva COR para la variable cortisol basal



En la tabla 18, se pueden ver los 3 puntos de cortes seleccionados en la curva COR correspondiente a la variable cortisol basal, así como sus características.

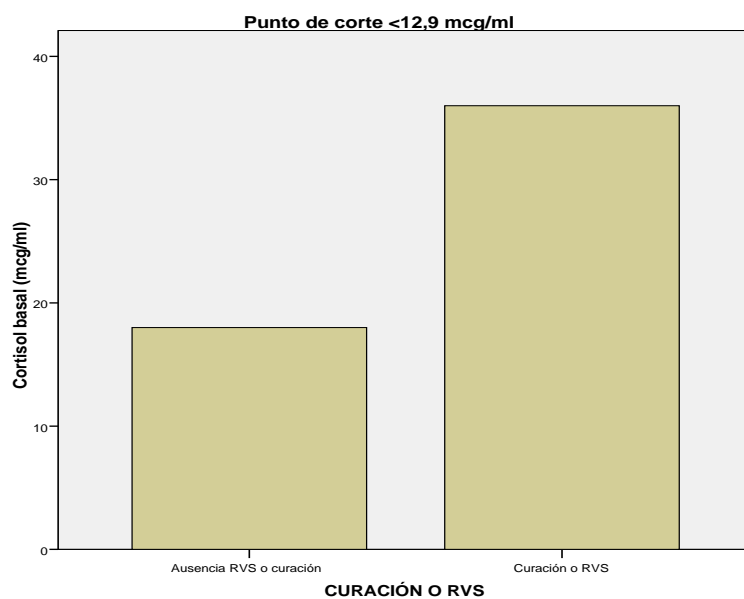
Tabla 18. Curva COR para la variable cortisol basal.

PUNTO DE CORTE Cortisol (mcg/ml)	Sensibilidad NO CURACIÓN	1-Especificidad	IC 95%	AUROC (P -value)
≤ 12,9	0,36	0,32	0,56-0,77	0,67 (p<0,005)
13,0-17,9	0,57	0,25		
≥ 18	0,77	0,15		

mcg (microgramos); IC (intervalo de confianza); AUROC (área bajo la curva).

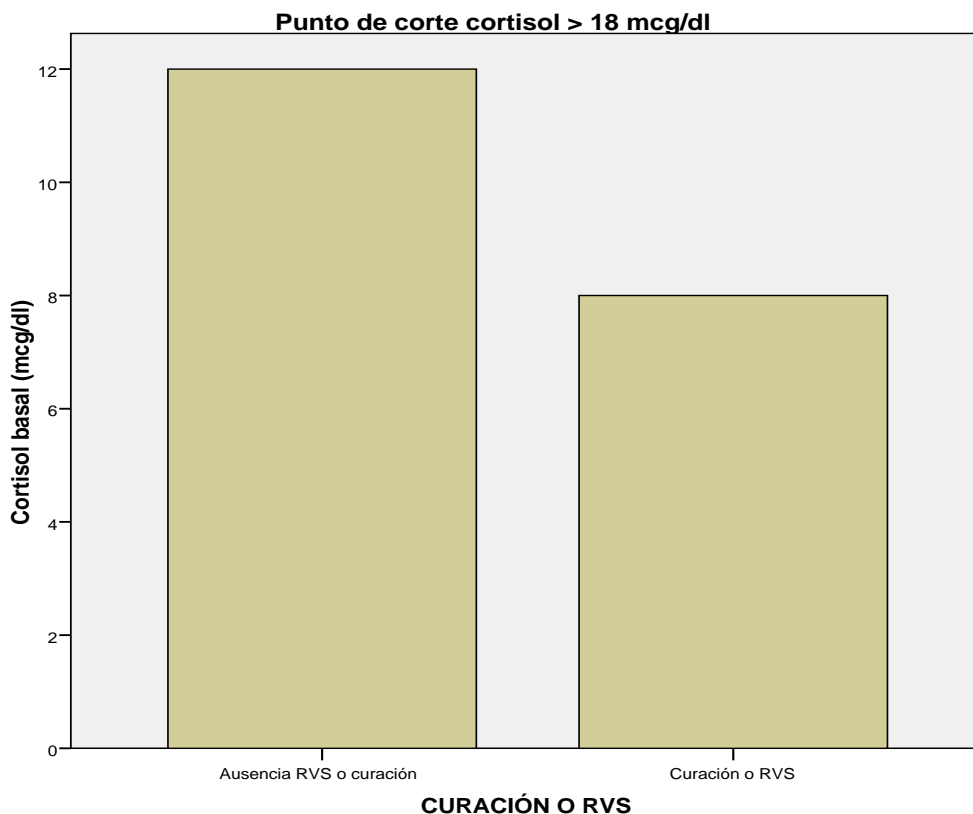
En la figura 27 se puede observar como los pacientes con cortisol basal inferior a 12.9 microgramos/decílitro se curaban más que aquellos que lo tenían más elevado.

Figura 27. Diagrama de barras correspondiente al punto de corte inferior de cortisol basal igual o inferior a 12,9 microgramos/mililitro



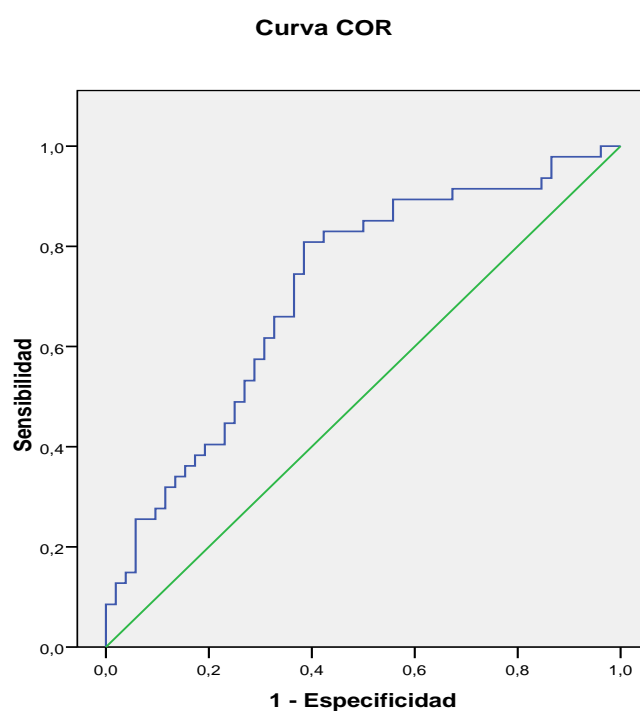
Mientras que aquellos pacientes que tenían un cortisol basal elevado (valor mayor de 18 microgramos/decilitro), se curaban menos que aquellos con un valor basal inferior a este punto de corte, tal como se puede observar en la figura 28: para el punto de corte >18 mcg/dl: (n=20): 12/20 de los pacientes (60%) no alcanzaron la curación frente a 8/20 (40%), que sí se curaron.

Figura 28. Análisis para el punto corte cortisol > 18 mcg/dl



En la figura 29 se puede observar la curva ROC resultante para la variable aclaramiento de creatinina basal, con su AUROC resultante.

Figura 29. Curva COR para la variable aclaramiento de Creatinina



En la tabla 19 se exponen los puntos de corte seleccionados en la curva COR resultante para la variable aclaramiento de Creatinina, la cual presenta un área bajo la curva de 0.71.

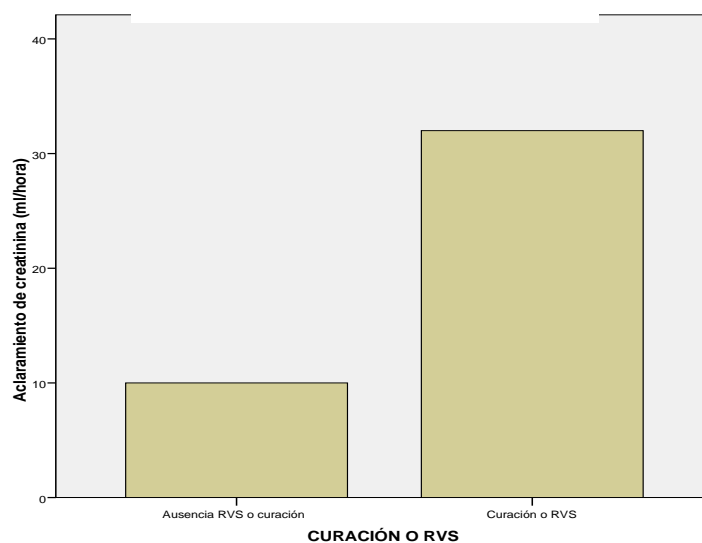
Tabla 19. Selección de puntos de corte para la variable aclaramiento de creatinina de la Escala Basal de la curva COR.

PUNTO CORTE Aclaramiento de creatinina (ml/hora)	Sensibilidad NO CURACIÓN	1-Especificidad	IC 95%	AUROC (P -value)
≤ 115,9	0,22	0,36	0,61-0,81	0,71 (p<0,0001)
116-139	0,55	0,25		
≥ 140	0,70	0,11		

ml/h (mililitro/hora); IC (intervalo de confianza); AUROC (área bajo curva)

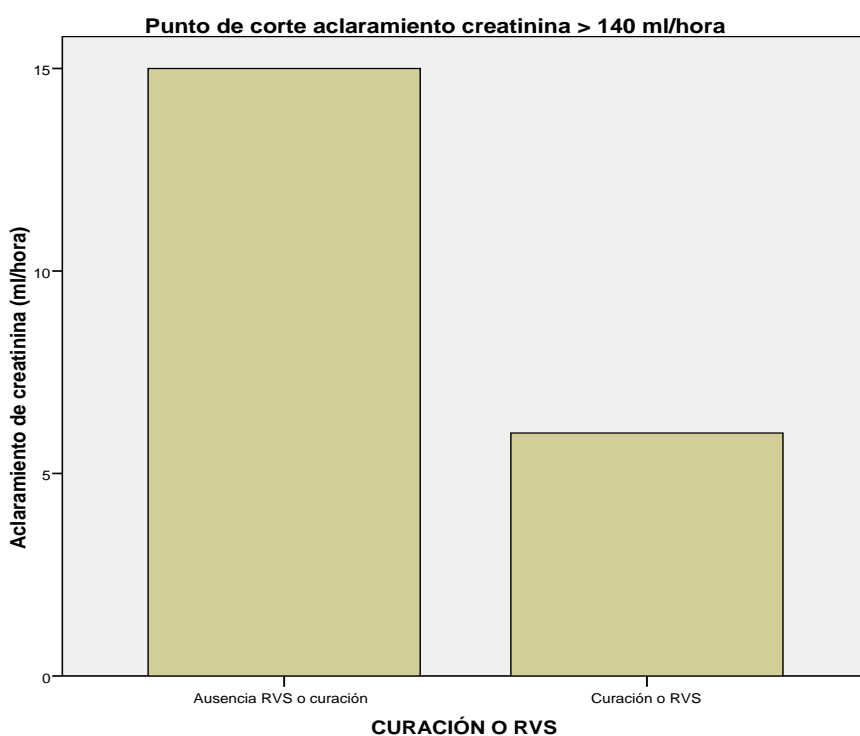
En la figura 30 se expone la influencia en las tasas de curación en el punto de corte aclaramiento de creatinina ≤ 115.9 ml/hora: 32/42 pacientes en este punto de corte se curaron (76,2%), mientras que 10/42 (23,8%) no se curaron.

Figura 30. Tasas de curación para aclaramiento de creatinina ≥ 115.9 ml/hora



A continuación en la figura 31 mostramos los resultados con el otro punto de corte seleccionado (aclaramiento de creatinina ≥ 140 ml/hora): 15/21 pacientes (71,4%) no alcanzaron la curación, mientras que sólo 6/21 (28,6%) se curó en este punto de corte.

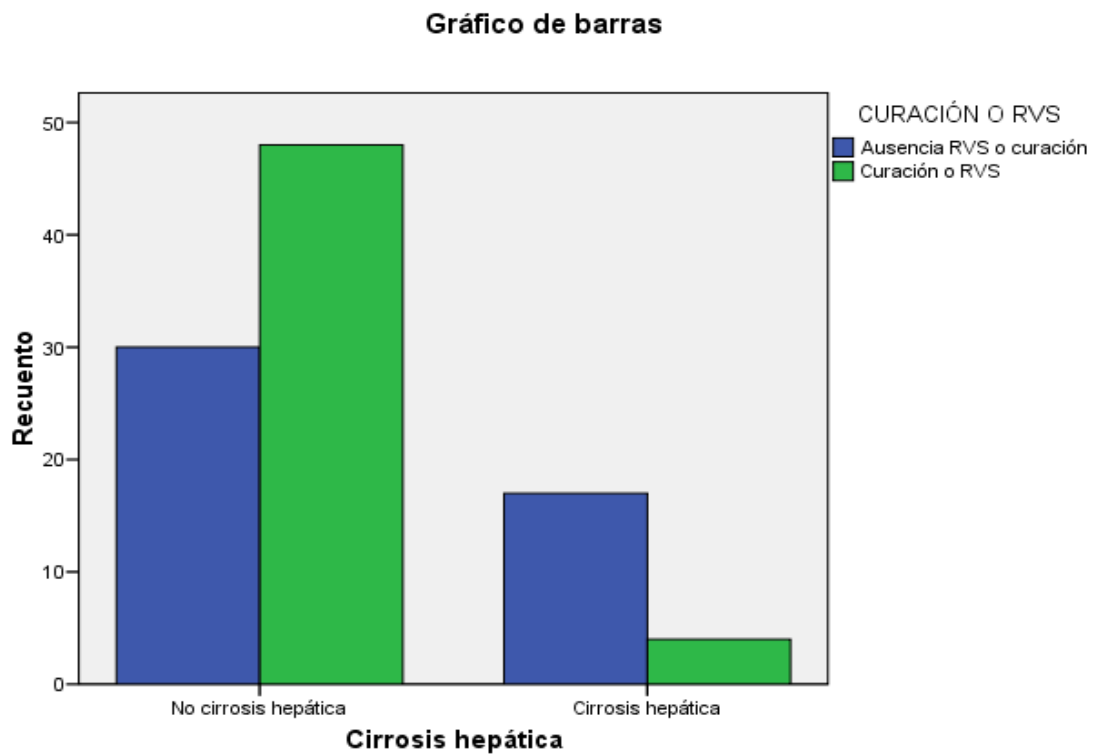
Figura 31. Tasas de curación en el punto de corte aclaramiento de creatinina ≥ 140 ml/hora:



Para el diseño de la Escala Viroológica o Virologic Scale, tuvimos en cuenta variables como la fibrosis hepática, en especial como impactaba en las tasas de RVS un grado de fibrosis hepática avanzado (cirrosis hepática o F4).

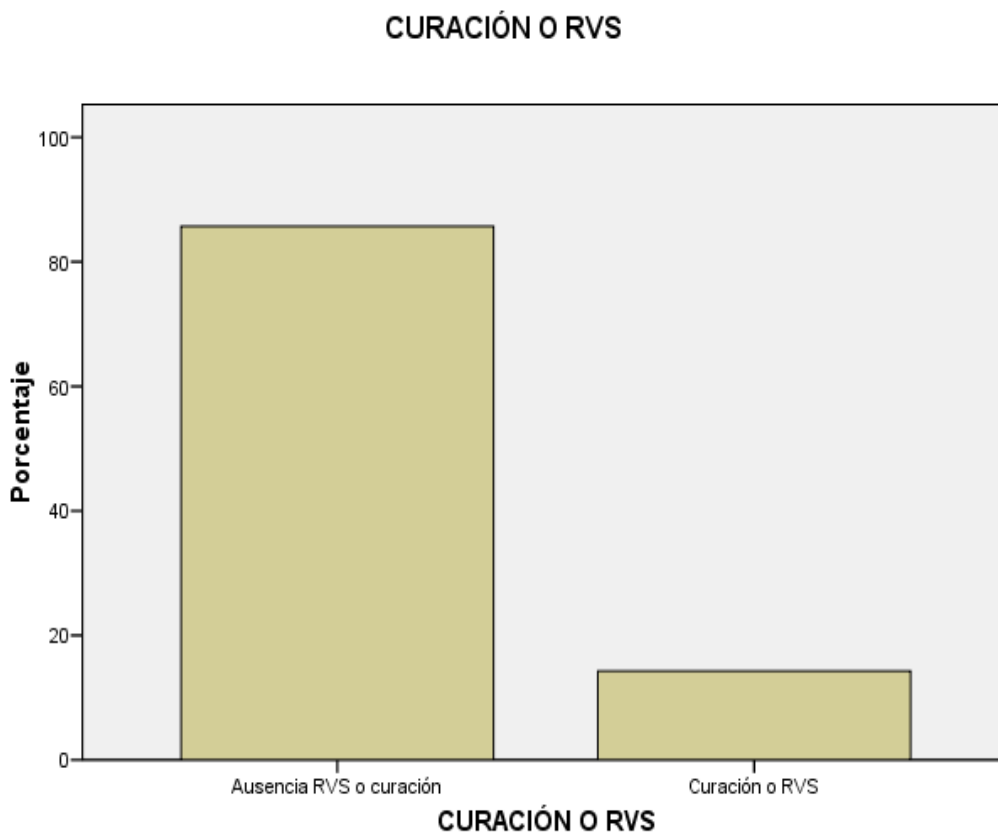
Exponemos, a continuación, en la figura 32, la influencia que tuvo la presencia de cirrosis hepática sobre las tasas de curación o RVS: 4/21 pacientes cirróticos se curaron (19%) frente a 48/78 (61,5%) de los pacientes F0-F3 o no cirróticos.

Figura 32. Influencia de la presencia de cirrosis hepática (F4) sobre las tasas de curación.



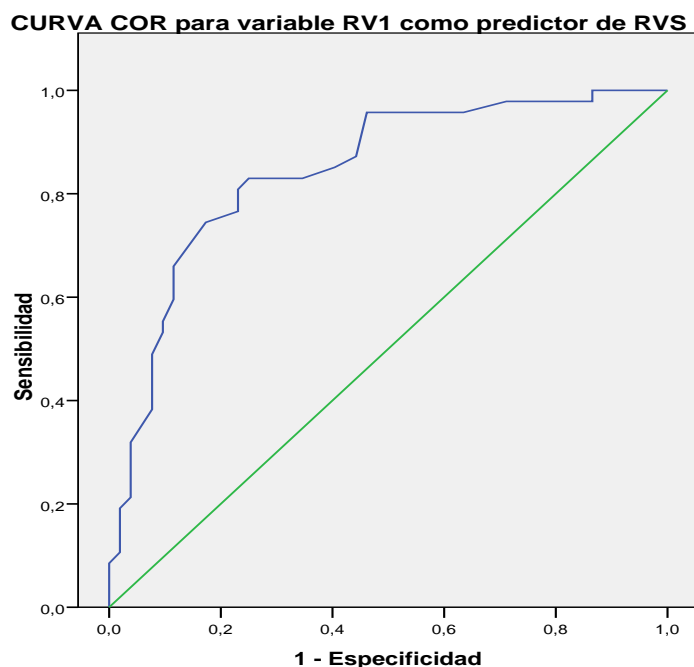
La otra variable que tuvimos en cuenta para el diseño de los 5 Niveles de Exigencia Fibro-virológicos, que conformarían la Escala Virológica fue la carga viral basal (CVB): en la figura 33 se puede observar como influyó en las tasas de curación una carga viral basal muy elevada mayor de 6 millones de unidades por mililitro.

Figura 33. Influencia del punto de corte de carga viral basal (CVB) ≥ 6000000 UI/ml en las tasas de curación, a tener en cuenta en el diseño Escala Virológica: 6/7 pacientes (86%) no se curaron.



A continuación en la figura 34 se exponen la curva COR y AUROC para la variable RV1 (máxima reducción virémica alcanzada durante la 1ª semana de biterapia, bien al 3º día o 7º día) como predictor de RVS.

Figura 34. Curva COR para la variable RV1 (m máxima reducción virémica alcanzada durante la 1º semana de biterapia, bien al 3º o 7º día).



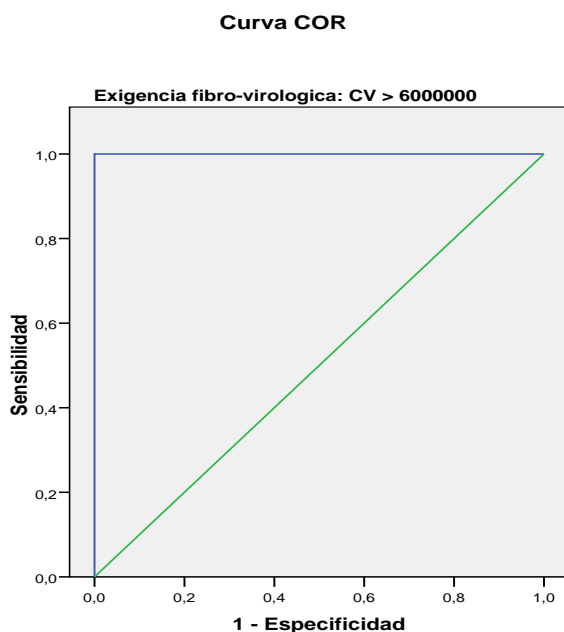
RVS (respuesta virológica sostenida); RV1 (reducción virémica máxima durante la 1ª semana terapia).

En la tabla 7 se establecieron los 5 niveles de exigencia fibro-virológicas existentes con sus correspondientes curvas COR para sus puntos de corte para la variable RV1.

Se diseñaron 5 Niveles de Exigencia Fibro-virológica (NEF). Para el NEF 5, se seleccionaron pacientes muy difíciles de curar a priori, que tenían una CVB mayor de 6000000 UI/ml, independientemente del grado de fibrosis hepática que tuvieran (cirrótico o no).

La curva COR resultante para la variable RV1 (máxima reducción virémica alcanzada durante la 1ª semana, bien al 3º día o 7º día de terapia antiviral, en el NEF 5 se presenta en la figura 35.

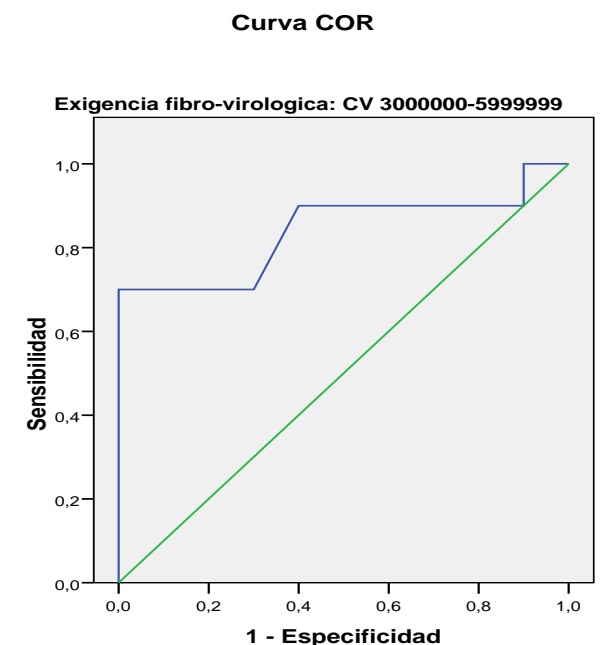
Figura 35. Curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológica 5 (NEF 5).



NEF (Nivel de Exigencia Fibro-virológica); RV1 (Reducción virémica máxima alcanzada durante 1ª semana de biterapia, bien al 3º o 7º día).

En la figura 36 y 37 presentamos las curvas ROC para la variable RV1 en pacientes que fueron asignados al Nivel de Exigencia Fibro-virológica 4, que eran aquellos que presentaban una carga viral basal comprendida en 5999999 UI/ml y 3000000 UI/ml (figura 36), o bien, se trataba de pacientes cirróticos (figura 37).

Figura 36: Curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológica 4, con viremia basal comprendida entre los 3 millones y 5999999 UI/ml.

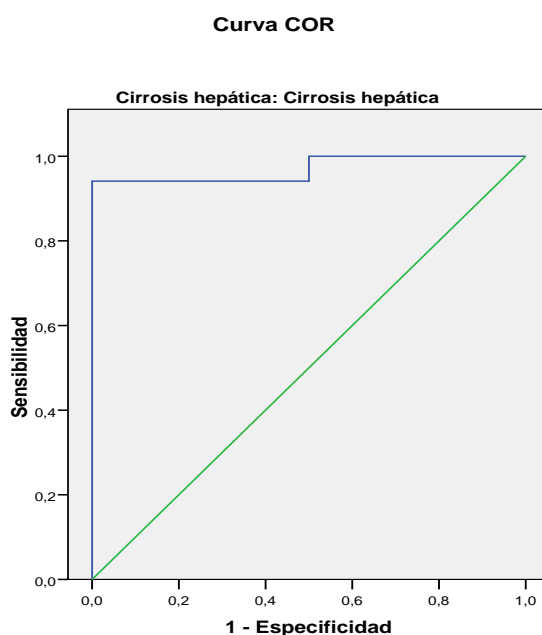


Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

CV (carga viral)

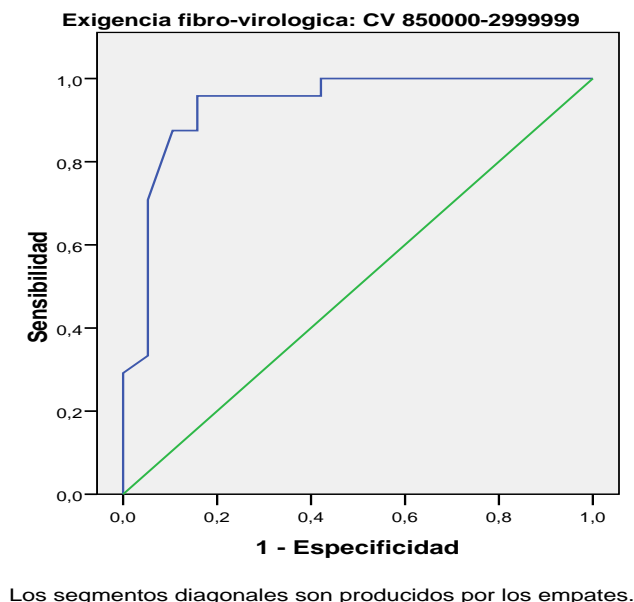
En la figura 37 se expone la curva COR que resultó para los pacientes cirróticos que fueron asignados también al Nivel de Exigencia Fibro-virológica 4. Se trata también de pacientes más difíciles de curar a priori.

Figura 37. Curva COR para la variable RV1 en pacientes cirróticos pertenecientes al Nivel de Exigencia Fibro-virológica 4



En la figura 38 presentamos la curva ROC resultante para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológica 3 (NEF 3), en la que se asignaron pacientes no cirróticos (F0-F3) con carga viral basal entre 2999999 UI/ml y 850000 UI/ml.

Figura 38. Curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-viroológica 3

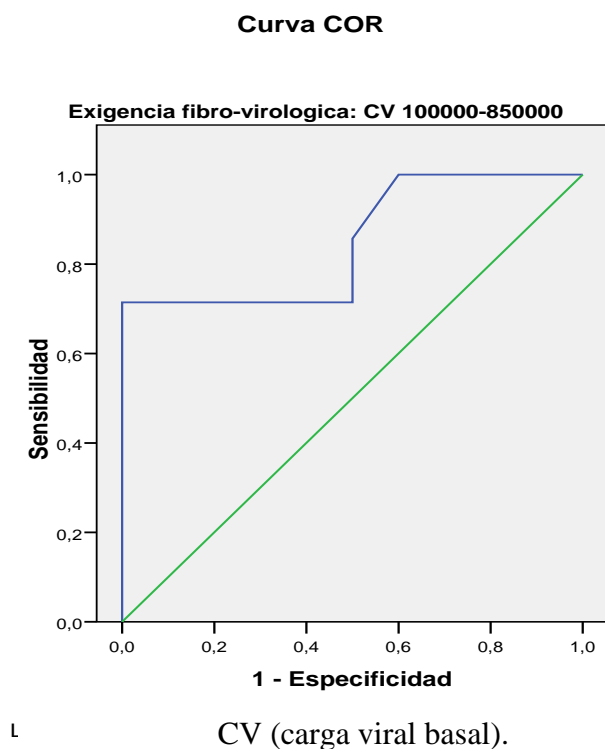


CV (carga viral basal); RV1 (reducción virémica máxima durante la 1º semana de biterapia).

En el Nivel de Exigencia Fibroviroológica 2 se asignaron los pacientes no cirróticos (F3-F0) con carga viral basal comprendida entre 850000 UI/ml y 100000 UI/ml. Aquí de forma significativa se incrementan las tasas de RVS respecto a los niveles fibroviroológicos más elevados, presentados anteriormente.

En la figura 39, se expone la curva COR resultante para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-viroológica 2.

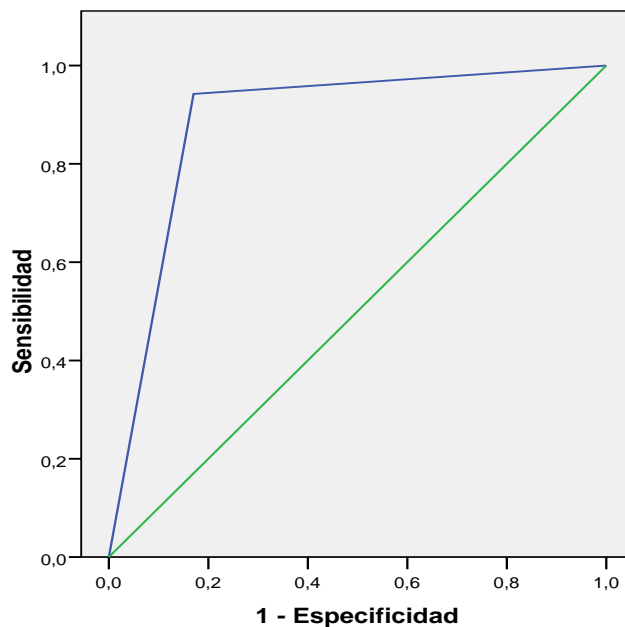
Figura 39. Curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológica 2.



La curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológico 1 no procede, ya que se curaron todos los pacientes, no siendo posible realizar esta estimación.

A continuación en la figura 40 presentamos la curva COR con AUROC de la variable Respuesta Virológica de la Primera Semana (RVPS) como predictor de la RVS: AUROC 0.89; IC 95% (0,81-0,96); $p < 0,0001$. Se trata de un potente predictor de RVS en un estadio muy precoz del tratamiento antiviral (1ª semana de biterapia)

Figura 40. Curva COR para la variable Respuesta Viroológica de la Primera Semana (RVPS).

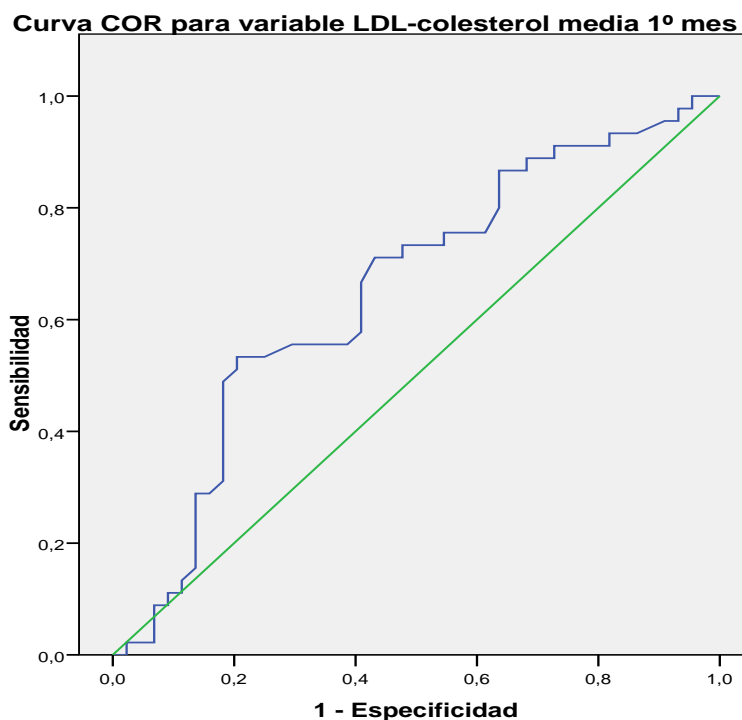


A continuación comentaremos los diferentes puntos de corte seleccionados para la variable mLDLc (concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de terapia antiviral, el cual se obtuvo de su determinación en los días 3º, 7º, 14º y 30º de tratamiento), en cada uno de los Niveles de Exigencia Lipídico (NEL) diseñados.

Las variables tenidas en cuenta para el diseño de los 5 NEL fueron el grado de fibrosis hepática (cirrosis hepática o no), carga viral basal (CVB) y el valor del ratio de infectividad superior o igual a 3,2 o inferior a 3,2.

De forma global, exponemos en la figura 41 la curva COR resultante para la variable concentraciones plasmáticas medias de lipoproteínas de baja densidad del colesterol durante el 1º mes de biterapia (mLDLc) para predecir la presencia de RVS.

Figura 41. Curva COR con AUROC de la variable LDL-colesterol media durante el 1º mes de terapia como predictor de RVS AUROC 0.65: IC 95% (0.53-0.76); $p < 0,014$.



Los pacientes que pertenecían a los niveles de exigencia lipídica más elevados precisaban mayores concentraciones medias de LDL-colesterol.

En la tabla 20 se presentan los diferentes puntos de corte que seleccionamos en la curva COR de la variable mLDLc (concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de terapia) en los 5 Niveles de Exigencia Lipídica (NEL) que diseñamos para asignar a nuestros pacientes.

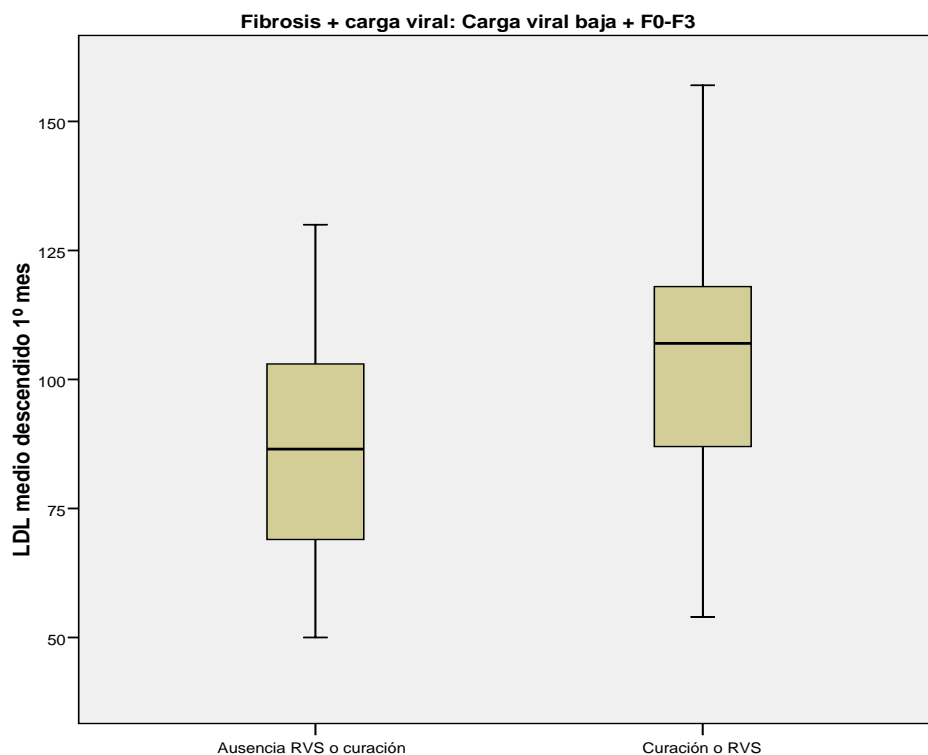
Tabla 20. Curvas COR para cada uno de los diferentes Niveles de Exigencia Lipídico (NEL).

NIVELES EXIGENCIA LIPÍDICA	AUROC	P VALUE	PUNTO CORTE LDL (mg/dl)	SENS/ 1-ESP RVS	CURADO/ NO CURADO
NEL 5	0,94	0,01	110	1,0 / 0,06	6 / 14
NEL 4	0,94	0,01	105	1,0 / 0,06	3 / 17
NEL 3	0,73	0,017	85	0,85 / 0,50	13 / 30
NEL 2	0,70	0,05	65	0,95 / 0,78	20 / 14
NEL 1	NO PROCEDE		45		12 / 0

AUROC (Área bajo la curva); LDL (concentraciones plasmáticas medias de lipoproteínas de baja densidad de colesterol durante el 1º mes de biterapia); mg/dl (miligramos/decilitro); SENS (sensibilidad); ESP (especificidad).

Los pacientes que durante el 1º mes de terapia antiviral dual presentaron mayores concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol alcanzaron mayores tasas de curación o RVS, tal como se puede ver en figura 42 (pacientes pertenecientes al NEL 2, que son pacientes no cirróticos, con CVB comprendida entre 850000 UI/ml y 100000 UI/ml).

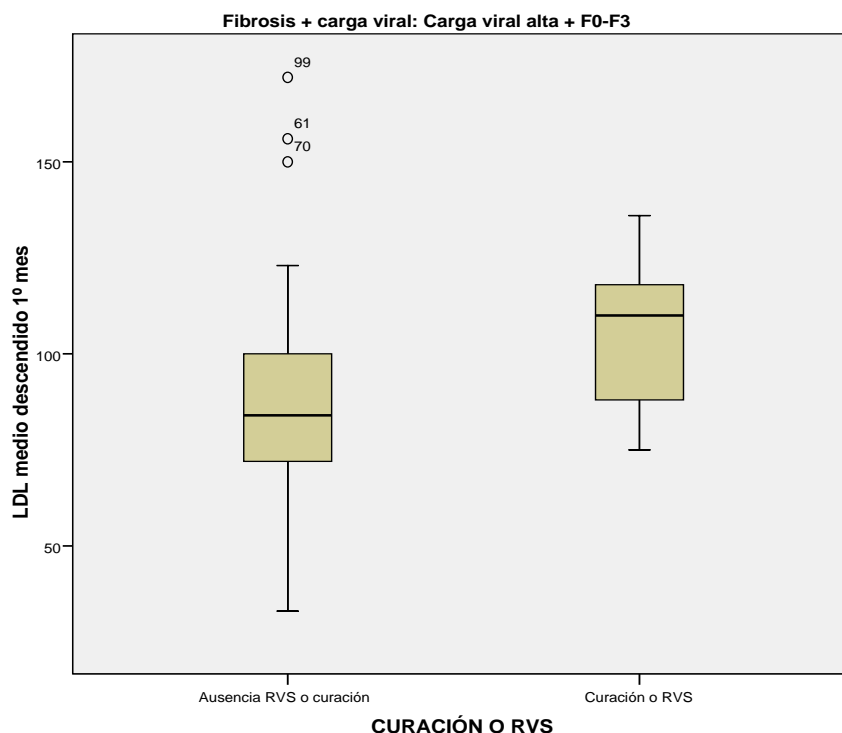
Figura 42. Diagrama de cajas para la variable mLDLc de los pacientes curados frente a los no curados en el Nivel de Exigencia Lipídica 2.



RVS (respuesta virológica sostenida); mLDLc (concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia); F0-F3 (ausencia de cirrosis).

En la figura 43 se presenta como se mantiene la misma tendencia de que se siguieran curando más aquellos pacientes no cirróticos (F0-F3) con carga viral basal (CVB) más elevada, comprendida entre 850000 UI/ml y 2999999 UI/ml, que conseguían mantener durante el 1º mes de terapia antiviral unas concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol mayores.

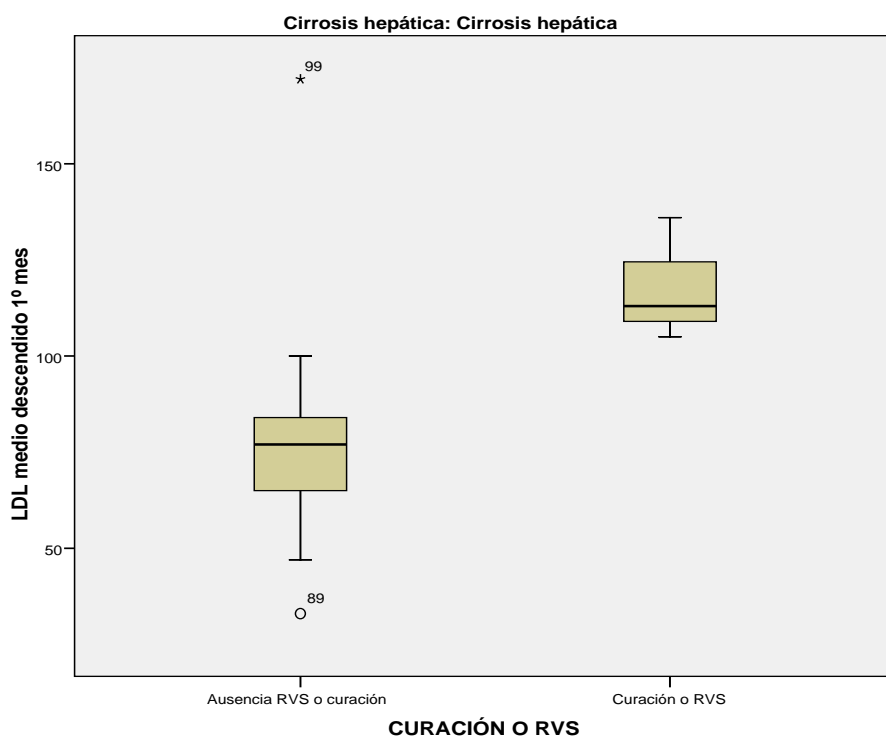
Figura 43. Diagrama de barras para la variable mLDLc en el Nivel de Exigencia Lipídica 3 (NEL 3).



RVS (respuesta virológica sostenida); LDL (concentraciones plasmáticas medias de lipoproteínas de baja densidad de colesterol durante el 1º mes de biterapia).

Estas diferencias fueron más significativas en pacientes pertenecientes a los Niveles de Exigencia Lipídica elevados 4 y 5, que eran a los que se asignaban los pacientes cirróticos, tal como podemos ver en la figura 44.

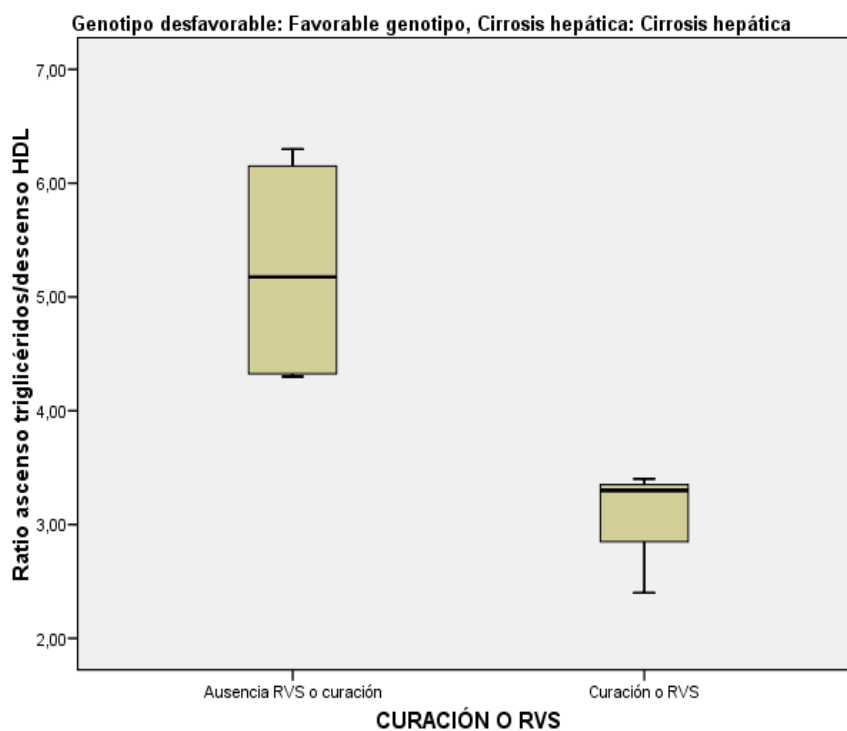
Figura 44. Diagrama de barras para la variable mLDLc en pacientes cirróticos (NEL 4 y NEL 5).



RVS (respuesta virológica sostenida); LDL (concentraciones plasmáticas medias durante el 1º mes de biterapia); NEL (Nivel de Exigencia Lipídica)

En la figura 45 se expone como los pacientes que tenían un genotipo CC de la Interleucina 28b si tenían un ratio de infectividad elevado, con un valor mayor de 3,2, se curaban menos, especialmente si se trataba de pacientes cirróticos, que eran los que eran asignados a los NEL 4 y 5..

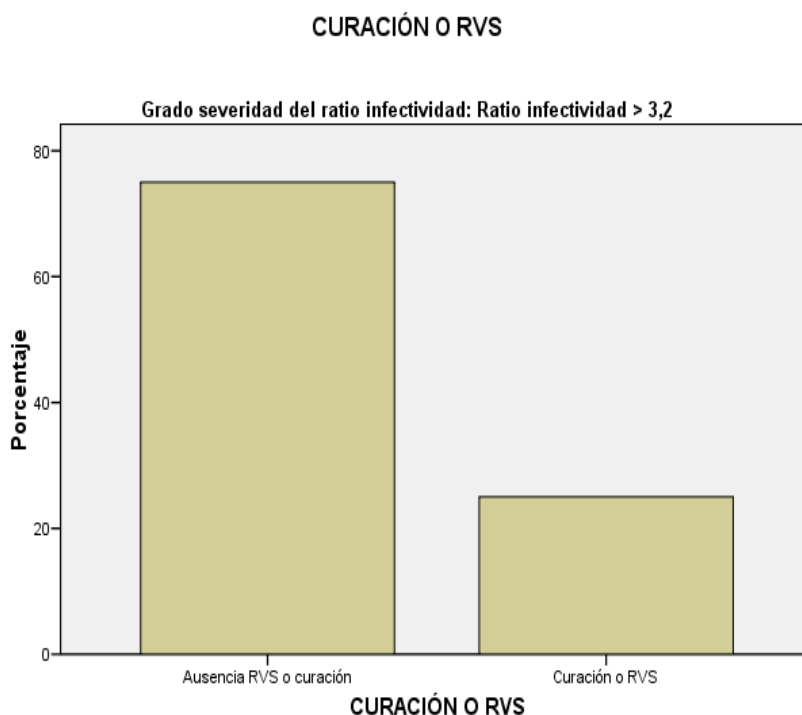
Figura 45. Relación entre la variable ratio de infectividad durante el 1º mes de biterapia y tasas de curación en pacientes cirróticos con genotipo de la Interleucina 28b CC.



HDL (lipoproteínas de alta densidad de colesterol); RVS (respuesta virológica sostenida).

En la figura 46 podemos observar como se mantiene esta tendencia, incluso en pacientes no cirróticos (F0-F3) con genotipo CC de la Interleucina 28b: aquellos sujetos no cirróticos (F0-F3) con un ratio de infectividad elevado ($RI \geq 3.2$), carga viral basal (CVB) > 3000000 UI/ml y presencia de un genotipo favorable de la Interleucina 28b (CC) se curaron menos.

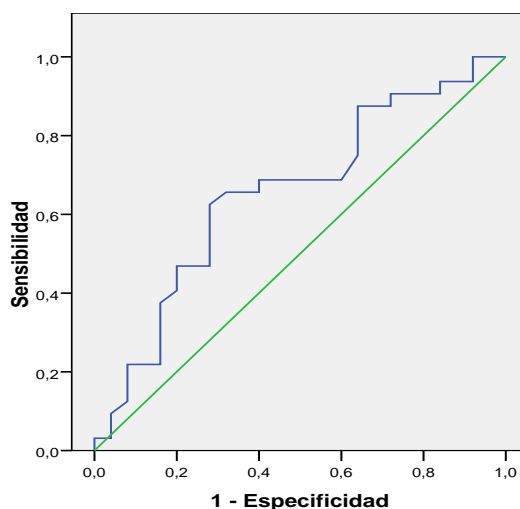
Figura 46. Menores tasas de curación para los pacientes con un ratio de infectividad durante el 1º mes de biterapia elevado ($RI > 3,2$), a pesar de tener un genotipo CC de la Interleucina 28b.



RVS (respuesta virológica sostenida);

A continuación en la figura 47 exponemos la curva ROC para la variable ratio de infectividad bajo (valor menor de 3.2) para predecir la presencia de RVS en los pacientes con genotipo favorable de la Interleucina 28b (CC):

Figura 47. Curva COR en genotipo CC para un ratio de infectividad bajo (RI < 3.2).

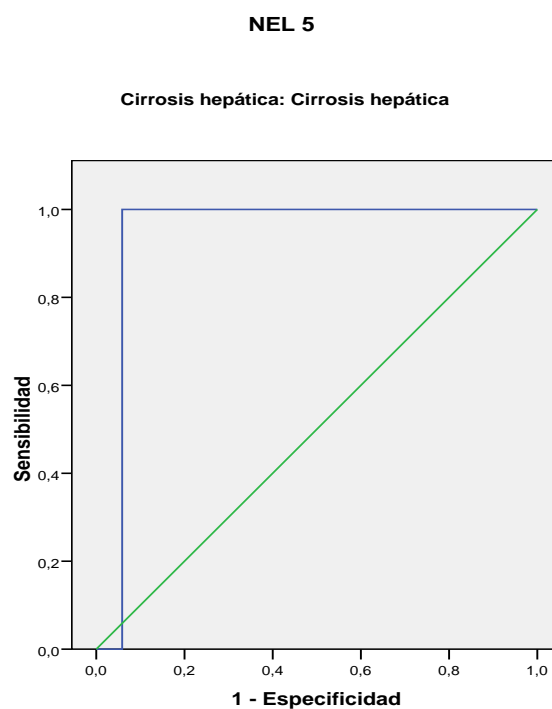


Los segmentos diagonales son producidos por los empates.

RI (ratio de infectividad).

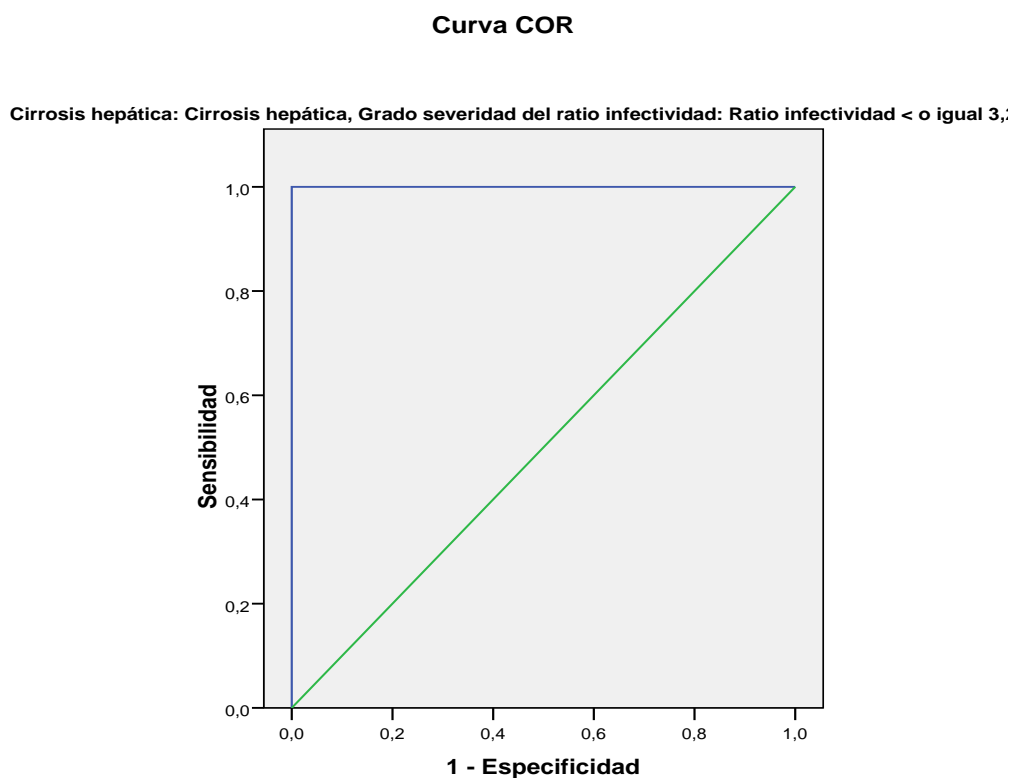
En la figura 48 se puede observar la curva COR resultante para la variable mLDLc durante el 1º mes de biterapia para el Nivel de Exigencia Lipídico 5 (cirróticos con ratio de infectividad elevado).

Figura 48. Curva COR para la variable mLDLc en el Nivel de Exigencia Lipídico 5



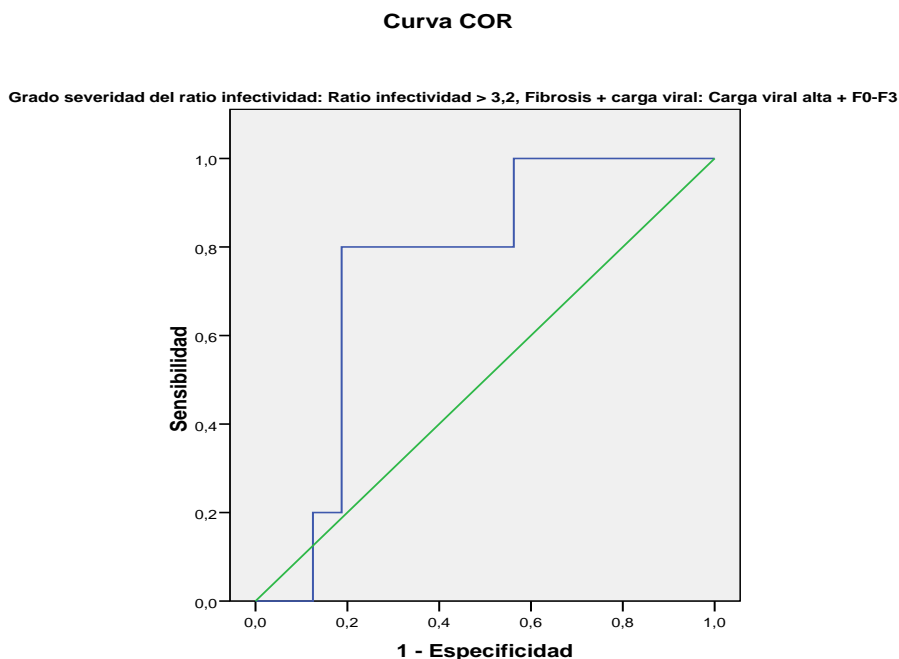
En la figura 49 se expone la curva COR para la variable “concentraciones plasmáticas medias de lipoproteínas de baja densidad de colesterol durante el 1º mes de biterapia” (mLDLc) para el Nivel de Exigencia Lipídica 4 (cirróticos con ratio de infectividad bajo). Se trata de un subgrupo de pacientes, al igual que los pertenecientes al Nivel de Exigencia Lipídica 5, más difícil de curar a priori.

Figura 49. Curva COR para la variable mLDLc en el Nivel de Exigencia Lipídico 4.



A continuación en la figura 50 exponemos la curva COR para la variable “concentraciones plasmáticas medias de lipoproteínas de baja densidad de colesterol durante el 1º mes de biterapia” (mLDLc) para los Niveles de Exigencia Lipídica 3. Se trata de un Nivel de Exigencia Lipídica en el que las tasas de RVS comienzan a incrementarse conforme descendemos de nivel.

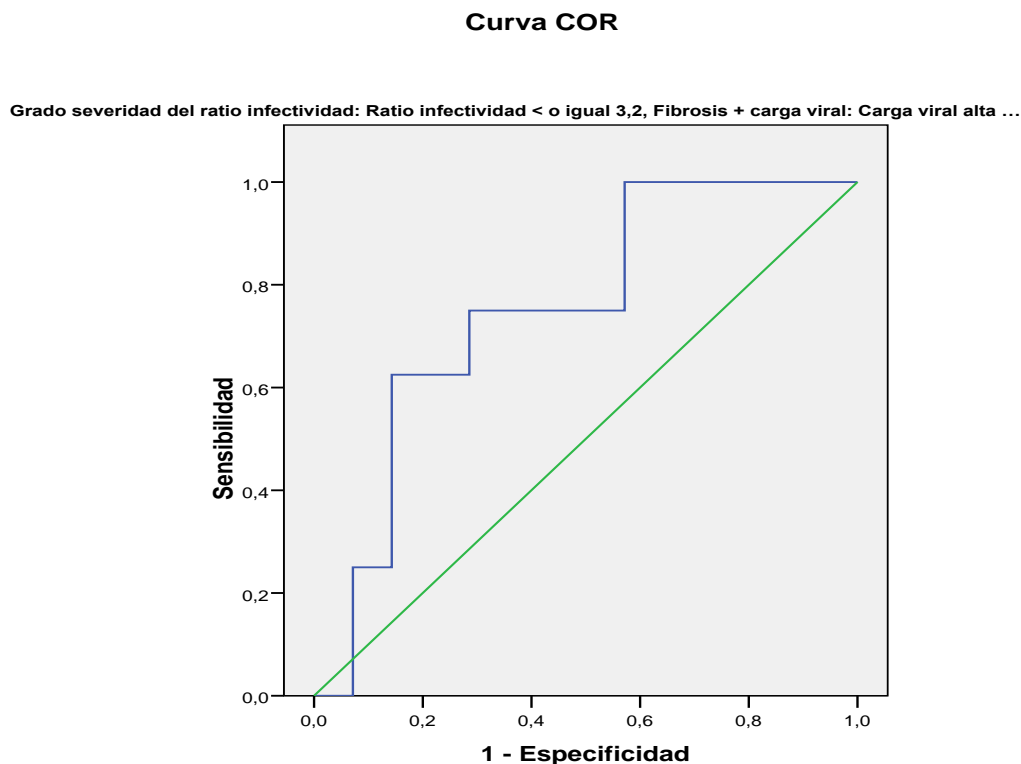
Figura 50. Curva COR para la variable “concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia (mLDL) en el Nivel de Exigencia Lipídica 3



F0-F3 (ausencia de cirrosis hepática)

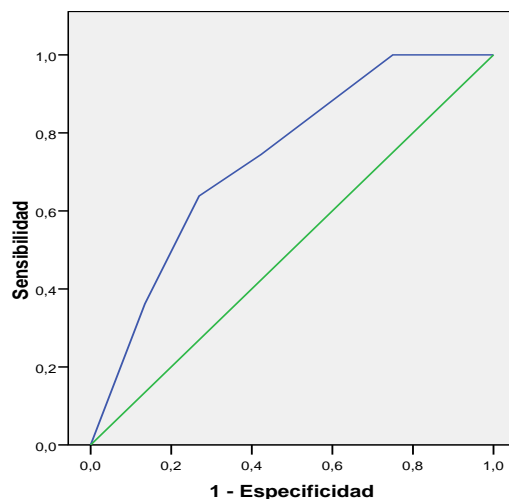
En la figura 50 exponemos la curva COR para la variable “concentraciones plasmáticas medias de lipoproteínas de baja densidad de colesterol durante el 1º mes de biterapia” (mLDLc) para los Niveles de Exigencia Lipídica 2. No procede diseño curva ROC, al haberse curado todos los pacientes pertenecientes al Nivel de Exigencia Lipídica 1.

Figura 51. Curva COR para la variable mLDL en el Nivel de Exigencia Lipídica 2.



En la figura 52 vamos a mostrar la curva COR y AUROC correspondiente a la variable presencia de un Metabolismo Lipídico Favorable (MLF) como predictor de curación virológica, siempre que el paciente hubiera conseguido mantener las concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de biterapia exigidas para el Nivel de Exigencia Lipídica al que pertenecía: AUROC 0.73; IC 95% (0.63-0.83); $p < 0.0001$.

Figura 52. Curva COR para la variable Metabolismo Lipídico Favorable (MLF).



6.11.2. ASIGNACIÓN DE PUNTUACIONES

En la tabla 16 se expuso como fue la distribución de asignación de puntuaciones para cada una de las variables que fueron seleccionadas para el diseño de las 3 escalas predictivas.

La escala basal o Baseline Scale, que usaba 4 variables basales, tenía un rango de puntuaciones máximo comprendido entre +7 puntos y -10 puntos.

Dado que los pacientes que tenían una IP-10 basal más elevada se curaban menos, pues los pacientes con un valor superior a 600 pg/ml recibirían la puntuación más negativa, mientras que si era inferior a 409.9 pg/ml, serían puntuados positivamente con + 2 puntos.

Lo mismo ocurría con las variables cortisol y aclaramiento de creatinina basales, de forma que los pacientes que tenían valores elevados, al estar asociados a peores tasas de RVS, se le asignaba puntuaciones negativas, que eran máximas si el cortisol basal era mayor de 18 microgramos/decilitro (-2 puntos) o si el aclaramiento de creatinina basal era superior a 140 ml/hora (-4 puntos).

El genotipo de la Interleucina 28b favorable (CC), dado que era un factor predictor independiente de buena respuesta, si el paciente lo presentaba era puntuado positivamente con +2 puntos.

Para el caso de la Escala Viroológica o Virologic Scale (rango de puntuaciones comprendida entre -5 puntos y + 5 puntos), se diseñaron 5 niveles de exigencia fibro-viroológica, de los cuales los niveles más elevados 5 y 4, incluían los pacientes más difíciles a priori de curar (cirróticos o con carga viral basal muy elevada, mayor de 3000000

UI/ml), por lo que si presentaban la Respuesta Viroológica de la Primera Semana, al haber presentado bien al 3° o 7° día de terapia dual una reducción virémica máxima respecto a la basal igual o superior al valor exigido en el nivel de exigencia al que pertenecía dicho paciente, era puntuado con una puntuación de + 5 puntos, mientras que si esta respuesta no era alcanzada, se le puntuaba con -5 puntos.

Para el caso de los niveles de exigencia fibro-viroológica más bajo (NEF 3,2 o 1), en los que eran asignados los pacientes no cirróticos o con carga viral inferior a 3000000 UI/ml, si alcanzaban la RVPS recibían una puntuación de +4 puntos, y si ésta no era obtenida durante la 1ª semana de terapia dual, la puntuación asignada sería negativa de -4 puntos.

En el caso de la Escala Lipídica o Lipid Scale (rango de puntuaciones comprendida entre -5 puntos y +5 puntos), también se diseñaron 5 Niveles de Exigencia Lipídica, siendo asignados los pacientes más difíciles de curar a los NEL elevados (4 o 5).

Si el paciente conseguía mantener unas concentraciones plasmáticas de LDL-colesterol durante el 1° mes de terapia al menos igual o superior al valor exigido (superiores a 100 mg/dl), estos paciente conseguían alcanzar un metabolismo lipídico favorable, asignándoles una

puntuación positiva de + 4 o +5 puntos, que en el caso de pacientes pertenecientes a niveles de exigencia lipídica más bajos (3 y 2), la puntuación positiva asignada era menor (+3 puntos), siendo en el NEL 1 de sólo +2 puntos, por ser los pacientes con mayores posibilidades a priori de curarse. En caso contrario, se les asignaba una puntuación negativa, al no haber presentado un metabolismo lipídico favorable.

6.11.3. OBTENCIÓN DE PUNTUACIONES SEGÚN EL TIPO DE RESPUESTA

En la tabla 21 se puede observar los rangos de puntuaciones que obtuvieron los pacientes incluidos en nuestro estudio, y su distribución, dependiendo de si alcanzaban o no la RVS, estableciendo las diferencias entre pacientes recidivantes, respondedores parciales o nulos. El rango de puntuaciones que era posible obtener cuando se sumaban las 2 primeras escalas (Basal y Viroológica) estaba comprendido entre +13 puntos y -15 puntos.

El rango de puntuaciones que era posible obtener cuando se sumaban las 3 escalas (Basal + Viroológica + Lipídica) estaba comprendido entre +18 puntos y -20 puntos. La asociación de las

puntuaciones de estas escalas fueron analizadas para ver su relación con las tasas de RVS, con objeto de valorar si podían ser empleadas para la generación de posibles reglas de parada.

6.11.4. PODER PREDICTIVO DEL MODELO

En la tabla 21 se puede observar el poder predictivo de cada una de las escalas predictivas, observándose como conforme se iban obteniendo las puntuaciones de los pacientes incluidos en el estudio en las diferentes escalas, las tasas de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN) se iban modificando, obteniéndose la máxima potencia predictiva cuando se calculaban las puntuaciones de las 3 escalas (basal, virológica y lipídica).

Mientras que sensibilidad de las 3 escalas era similar en torno al 90%, sin embargo se puede observar que la especificidad va incrementándose, pasando de un sensibilidad en la escala basal de casi un 80% a un 95.8% cuando se había obtenido las puntuaciones de las 3 escalas predictivas.

Lo mismo ocurría con las tasas de valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN), que mientras que usando sólo las puntuaciones en la escala basal, la tasa de valor predictivo positivo era

de 82.1%, ésta ascendía cuando empleábamos las 3 escalas hasta un 96%, siendo las tasas de valor predictivo negativo con las 3 escalas de un 92%.

Tabla 21. Puntuaciones y poder predictivo de las 3 escalas pronosticas en función del tipo de respuesta alcanzada

ESCALAS PREDICTIVAS	Presencia RVS	Ausencia RVS	IC 95%	Valor de P	Nulos	Parciales	Recidivantes
ESCALA BASAL							
Rango puntuaciones (+7)-(-10) puntos							
Sensibilidad 90.2% (Predicción incorrecta: 5)							
Especificidad 79.2% (Predicción incorrecta: 10)							
VPP 82.1% (Predicción incorrecta: 10)	3.0 ± 2.8	(-3.3 ± 2.9)	2.1 (1.6-2.9)	< 0.0001	(-4.8 ± 3.7)	(-2.5 ± 2.4)	(-2.9 ± 3.3)
VPN 88.3% (Predicción incorrecta: 5)							
<i>PRIMERA REGLA DE PARADA</i>							
ESCALA BASAL + ESCALA VIROLÓGICA							
Rango de puntuaciones (+13)-(-15) puntos							
Sensibilidad 91.7% (Predicción incorrecta: 5)							
Especificidad 94.1% (Predicción incorrecta: 3)	7.7 ± 3.7	(-6.2 ± 4.9)	1,6 (1.3-1.9)	< 0.0001	(-9.3 ± 3.6)	(-5.4 ± 5.1)	(-5.1 ± 6.2)
VPP 92.3% (Predicción incorrecta: 4)							
VPN 93.6% (Predicción incorrecta: 3)							
<i>SEGUNDA REGLA DE PARADA</i>							
ESCALA BASAL + ESCALA VIROLÓGICA + ESCALA LIPÍDICA							
Rango puntuaciones (+18)-(-20) puntos							
Sensibilidad 92.2 % (Predicción incorrecta: 4)							
Especificidad 95.8 % (Predicción incorrecta: 2)	10.4 ± 4.7	(-7.0 ± 6.0)	1.9 (1.3-2.9)	< 0.0001	(-12.6 ± 5.5)	(-6.6 ± 4.9)	(-5.5 ± 6.6)
VPP 95.9 % (Predicción incorrecta: 2)							
VPN 92 % (Predicción incorrecta: 4)							

VPP (valor predictivo positivo); VPN (valor predictivo negativo); RVS (respuesta virológica sostenida); IC (intervalo de confianza)

6.11.5. PRIMERA REGLA DE PARADA

Procedimos a realizar los cálculos de puntuaciones de las diferentes escalas predictivas de forma individualizada y observamos que aquellos pacientes que obtuvieron una puntuación suma en las “Escala Basal” y “Viroológica” negativa de (-4) puntos o más, ninguno de estos pacientes (25.2%) alcanzaron la RVS.

En base a esto, generamos la 1ª regla de parada, que clasificaba a estos pacientes como de “riesgo elevado de fracaso terapéutico” (64.5% de los cirróticos). Éstos podrían haberse beneficiado de suspender la biterapia al final de la 1ª semana, siendo por tanto, candidatos a triple terapia.

6.11.6. SEGUNDA REGLA DE PARADA

Los restantes (74,8%), con una puntuación suma de ambas escalas comprendida entre (-3) puntos y cualquier puntuación positiva continuaron la biterapia hasta alcanzar el 1º mes, para la obtención del valor mLDLc (puntuación de la Escala Lipídica). Si la puntuación total obtenida con las 3 escalas era de 0 puntos o negativa (rango 0 a -20 puntos), observamos que ninguno de estos sujetos consiguió alcanzar la RVS (27.2%), por lo que

podrían haberse beneficiado de suspender la biterapia al final del 1º mes (2ª regla de parada), siendo catalogados también como de “riesgo elevado de fracaso”, mientras que si la puntuación obtenida era positiva (entre +1 y +18 puntos; 47,4% de nuestra muestra), la biterapia era suficiente para alcanzar la RVS en el 94% de ellos (riesgo bajo y medio de fracaso).

Alcanzaron puntuaciones muy positivas (al menos +10 puntos) en la suma de las 3 escalas en el 56.4% (22/39) de los pacientes con RVR, en el 62.5% (20/32) de los pacientes no cirróticos (F0-F3) que alcanzaron RVR y en 77.7% (14/18) de los sujetos con genotipo IL-28B-CC, no cirróticos, con CVB < 600000 UI/ml y que alcanzaron además una RVR, siendo significativamente menor el número de sujetos con puntuaciones muy positivas ($\geq +10$ puntos) si no habían alcanzado la RVR (8/60: 13.3%), o si aunque ésta hubiera sido alcanzada se trataba de un paciente cirrótico (1/7:14.2%).

Ningún paciente (0/13) obtuvo una puntuación mayor o igual a 10 puntos, si además de tener una cirrosis y un genotipo CT/TT, no conseguía alcanzar la RVR, pese a tener una CVB baja.

6.11.7. PROPUESTA DE ALGORITMO TERAPEÚTICO

En base a los resultados obtenidos en nuestra cohorte de estimación, diseñamos una propuesta de algoritmo terapéutico que podría ser aplicado en la práctica clínica con los pacientes diagnosticados de hepatitis crónica C genotipo 1 (figura 53).

Los pacientes que habían obtenido una puntuación negativa de al menos -4 puntos al sumar la puntuación obtenida en las escalas basal y virológica, serían catalogados como “pacientes con riesgo elevado de fracaso terapéutico” con biterapia, por lo que gracias a la 1ª regla de parada, podrían beneficiarse de suspender el tratamiento al final de la 1ª semana, siendo candidatos a triple terapia antiviral.

Esto generaba un ahorro potencial de recursos sanitarios (terapia antiviral ineficaz, visitas médicas, empleo de Epoetina alfa y/o Filgastrim), así como de acontecimientos adversos.

Los pacientes que la puntuación obtenida en ambas escalas predictivas (basal + virológica) tenían una puntuación comprendida entre -3 puntos y +13 puntos, debían continuar la terapia antiviral dual para ver si podían curarse con ella, o era mejor suspenderla al final de la 4ª semana, momento en el que obtendríamos la puntuación de la escala lipídica. Los pacientes que obtuvieran una puntuación positiva comprendida entre +1

punto y +18 puntos, podrían beneficiarse de realizar un regimen terapéutico dual, evitando los acontecimientos adversos relacionados con la triple terapia y el incremento de costes que supondría su empleo.

Además, aquellos pacientes que además de beneficiarse de sólo una biterapia, si la puntuación era al menos de +10 puntos o más (máximo +18 puntos) podrían beneficiarse de un acortamiento de la duración de la biterapia (24 semanas en lugar de las 48 semanas convencionales para el genotipo 1: “pacientes con bajo riesgo de fracaso terapéutico”. Los demás pacientes que hubieran tenido una puntuación positiva con las 3 escalas comprendida entre +1 punto y +9 puntos, serían candidatos a terapia dual durante 48 semanas: “pacientes con riesgo medio de fracaso terapéutico”.

Por el contrario, aquellos pacientes que la puntuación total de las 3 escalas era de 0 o negativa (rango de puntuaciones hasta -20 puntos) podrían beneficiarse de la 2ª regla de parada, permitiendo suspenderla al final de la 4ª semana, siendo considerados como “pacientes con alto riesgo de fracaso terapéutico”.

Los pacientes que obtendrían una puntuación en la suma de las 3 escalas predictivas comprendida entre 0 y -9 puntos, serían candidatos a un regimen de triple terapia menos potente, basado en Telaprevir o

Boceprevir.

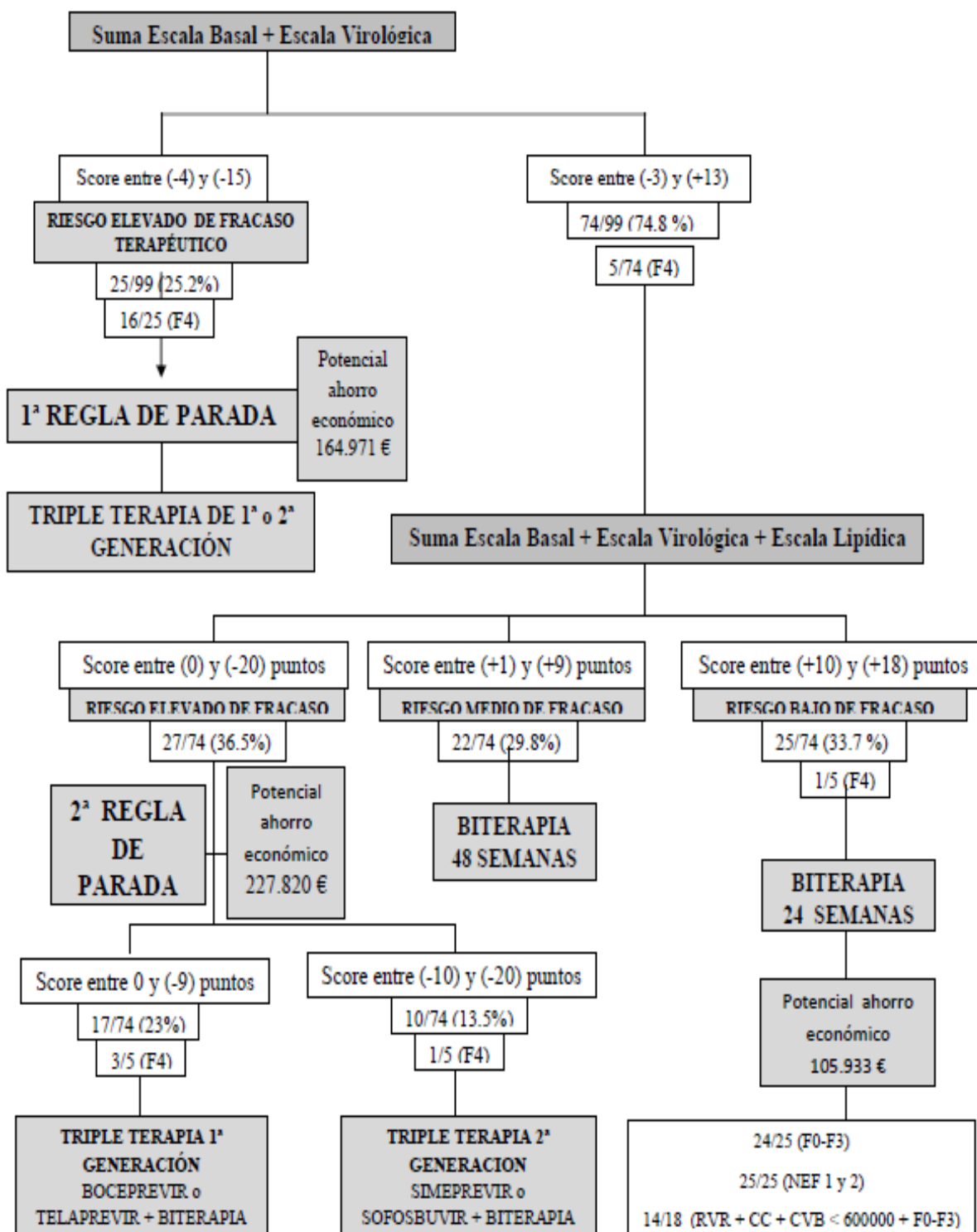
Sin embargo, los pacientes con las puntuaciones más negativas, con un rango comprendido entre -10 puntos y -20 puntos, serían candidatos a un regimen de triple terapia más potente, basado en el empleo de Sofosbuvir, Faldaprevir o Simeprevir.

A continuación en la figura 53 se expone el algoritmo terapéutico que proponemos, para que pueda ser aplicado en la práctica clínica como herramienta de ayuda a la toma de decisiones para pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.

Para su aplicación los pacientes tendrían que ser sometidos a un regimen de terapia dual durante al menos 1 semana, para valorar si se puede beneficiar de la primera regla de parada (cálculo de puntuaciones de las 2 primeras escalas, basal y virológica).

En otros casos será necesario tratarlos durante 3 semanas más para calcular la puntuación de la escala lipídica y ver si se puede beneficiarse de la 2ª regla de parada.

Figura 53. Propuesta de algoritmo terapéutico basado en puntuaciones de las 3 escalas predictivas de nuestra herramienta diagnóstica, así como los potenciales ahorros económicos que podría haber generado en nuestra muestra.



6.11.8. CALCULADORA EXCEL PARA TOMA DE DECISIONES

Diseñamos una calculadora Excel para la obtención automática de las puntuaciones de las 3 escalas predictivas. Primero se introducen los valores de las variables de la Escala Basal (IP-10 plasmática basal en picogramos/mililitro, cortisol basal plasmático en microgramos/decilitro, el genotipo de la Interleucina 28b (favorable o CC frente a desfavorable, CT o TT) y el valor de aclaramiento de creatinina basal en mililitro/minuto, el cual puede ser obtenido de la página web de la Sociedad Española de Nefrología. Para su determinación tendremos que saber edad, sexo, altura, peso y valor de creatinina.

A continuación para obtener la puntuación de la Escala Viroológica (2ª escala predictiva), necesitaremos introducir la viremia basal en Unidades internacionales/mililitro, especificar si el paciente es cirrótico o no y como 3ª variable el valor de RV1 (la reducción virémica máxima alcanzada durante la 1ª semana de terapia dual en UI/ml respecto a la basal, bien al 3º o 7º día, resultante de la diferencia en logaritmo decimal máxima existente respecto a la carga viral basal).

Una vez introducidos todas las variables exigidas en la 1ª escala (Basal) y en la 2ª escala (Viroológica), a la derecha aparecerá la primera

regla de parada (First Futility Rule o Primera Regla de Parada).

Si el paciente tiene una puntuación en este momento comprendida entre -4 puntos y -14 puntos, la calculadora le indicará al clínico que suspenda biterapia, siendo el paciente candidato a triple terapia antiviral.

Si el paciente tuviera en esta primera regla de parada una puntuación comprendida entre -3 y +13 puntos, debería continuar la biterapia durante 3 semanas más para poder obtener las variables necesarias para calcular la puntuación de la 3ª escala (Escala Lipídica) de la calculadora.

Se calculará el ratio de infectividad. Para ellos tendremos que calcular las concentraciones plasmáticas medias de triglicéridos y HDL-colesterol, que se analizarían en los días 3º, 7º, 14º y 30º de terapia. El cociente de las concentraciones plasmáticas medias nos daría el ratio de infectividad con un decimal.

También calcularemos las concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes de terapia (3º, 7º, 14º y 30º día de terapia) y su valor medio lo introduciremos también en la calculadora.

Habremos además observado que al introducir si el paciente era cirrótico y la viremia basal en la escala previa virológica aparecerá. Para

obtener los resultados de las 3 escalas, una vez que hayamos introducido los valores, tendremos que picar en score de cada escala especificado como NO DATA.

Si el paciente obtiene una puntuación total de las 3 escalas de 0 o negativa (hasta -9 puntos) se indicará que se debe suspender la biterapia, siendo el paciente candidato a triple terapia de 1ª generación (Boceprevir o Telaprevir).

Si el paciente obtuviera una puntuación en la calculadora comprendida entre -10 puntos y -20 puntos, se especificará en la calculadora que se suspenda la biterapia, considerando que el paciente es candidato a triple terapia de 2ª generación (Sofosbuvir, Simeprevir o Faldaprevir).

Si la puntuación del paciente fuera positiva con rango comprendido entre +1 puntos y +9 puntos, la calculadora recomendará continuar con la biterapia durante 44 semanas más (regimen de 48 semanas), ya que se habría consumido ya 4 semanas de biterapia. Si por el contrario, la puntuación obtenida estaba comprendida entre +10 puntos y +18 puntos, también recomendará continuar con biterapia, pero esta vez reducida durante 20 semanas (regimen de 24 semanas de biterapia).

6.11.9. SOLICITUD DE PATENTE

La Oficina de Transferencia de Tecnología del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en representación del Servicio Andaluz de Salud, ha tramitado una solicitud de patente para esta herramienta diagnóstica en la Oficina Española de Patentes y Marcas de Madrid (España): solicitud nº P201330522 y referencia P-06315.

6.12. COSTES DIRECTOS GENERADOS POR LA TERAPIA

En la tabla 22 se van a exponer a continuación los diferentes costes reales empleados para tratar a los 99 pacientes de nuestro estudio en concepto de terapia antiviral, visitas médicas, empleo de Epoetina alfa (14 pacientes) y Filgastrim (6 pacientes). En ella se especifican el coste unitario, el coste medio generado por cada paciente y el coste total que se empleó.

Las fuentes empleadas para la obtención del coste unitario fue el Servicio de Documentación y Dirección Económica-Administrativa del Hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva.

Tabla 22. Costes generados durante el tratamiento antiviral

	Coste unitario (€)	Coste medio (€) / paciente	Coste total (€)
Terapia antiviral 48 semanas	10116	7999 ± 2209	791883
Visitas médicas	175	1160 ± 385	111888
Epoetina alfa durante 4 semanas, (14 pacientes)	1576	5714 ± 5488	79998
Filgastrim durante 4 semanas, (6 pacientes)	274	1187 ± 1105	7127
Coste total (€) 48 semanas	-	16060 ± 9187	990896

€ (euros).

6.13. COSTES DE VARIABLES EMPLEADAS EN LA HERRAMIENTA

El coste por paciente para la obtención de las puntuaciones de las 3 escalas fue tan sólo de 160 €: 3.89 € (cortisol), 25 € (IP-10), 25 € (IL-28B), 0.21 € (aclaramiento de creatinina), 100 € (cargas virales 3º y 7º día) y 5.76 € (4 determinaciones LDL-colesterol, triglicéridos y HDL-colesterol).

6.14. CÁLCULOS DEL AHORRO POTENCIAL QUE GENERARÍA

El ahorro potencial generado con la 1ª y 2ª regla de parada, si éstas hubieran sido aplicadas, hubiera sido respectivamente, de 164,971 € (7,112 ± 4,527 €/paciente) y de 227,820 € (5,430 ± 6,990 €/paciente), lo que suponía un ahorro total en nuestra muestra (99 pacientes) de 392,791 €.

A esto habría que sumar el ahorro generado en aquellos sujetos que podrían haberse beneficiado de una biterapia reducida por haber obtenido una puntuación muy positiva (mayor de +10 puntos): (25.2%), excluyendo los pacientes cirróticos (1/25), pudiendo ser, por tanto, el ahorro total de 498,724 €.

Un 47.4% de nuestros pacientes se hubieran beneficiado de curarse sólo con biterapia, evitando el sobre coste y los efectos secundarios presentes con la triple.

CAPÍTULO VII

DISCUSIÓN

7.1. APORTACIONES RELEVANTES DEL ESTUDIO

Los resultados de nuestro estudio permiten rechazar la hipótesis nula (objetivo principal). Las principales aportaciones de nuestro trabajo son las siguientes:

1. En nuestro estudio hemos visto que la biterapia antiviral sigue siendo igual de eficaz en algunos subgrupos que la triple terapia, siendo nuestros resultados similares a la de otros estudios, lo que valida, aún más, el algoritmo terapéutico actual de la AEMPS^{87,88}.
2. La posibilidad de contar en práctica clínica de una nueva herramienta diagnóstica de ayuda a la toma de decisiones para pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1, basada en puntuaciones, que permite decidir cuál es la terapia antiviral más eficaz y costo-eficiente en fases muy precoces, al contar con un elevado poder predictivo (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo superiores al 90%).
3. Hemos encontrado que la cinética viral de la 1ª semana de terapia antiviral (presencia de Respuesta Viroológica de la Primera Semana) y la cinética lipídica durante el 1º mes de tratamiento (presencia de Metabolismo Lipídico Favorable) son predictores independientes de las RVS.

4. Hemos observado que en pacientes con genotipo desfavorable de la Interleucina 28b (CT o TT) es fundamental alcanzar mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina que en el genotipo CC, las cuales podremos monitorizar controlando los cambios en el volumen corpuscular medio durante el 1º trimestre de terapia y el cambio en el pH urinario al mes^{84,131}.
5. El cortisol constituye una variable independiente de RVS que no se ha publicado en estudios previos en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.
6. La introducción de esta nueva herramienta diagnóstica permitiría un significativo ahorro económico de recursos sanitarios públicos, evitando además someter a los pacientes a acontecimientos adversos, mejorando el perfil de seguridad y eficacia de nuestros pacientes.
7. Es uno de los modelos predictivos de respuesta con mayor valor predictivo negativo. Este es un matiz diferencial clave respecto a otras herramientas pronósticas de respuesta publicadas en la literatura. Entre los modelos predictivos más relevantes, destacamos los de un grupo que incluyó variables como la IP-10, genotipo IL-

28B, presencia de RVR¹⁶⁴. En otros se incluyeron variables como la IP-10, viremia basal (CVB) y el índice de masa corporal¹⁶⁵, destacando en coinfectados el “índice Prometheus”, basado en 4 variables¹⁶⁶.

También destacamos árboles de decisión, en el que incluyeron factores como la esteatosis hepática, LDL-colesterol, edad, gammaglutamil transpeptidasa y glucosa basal¹⁶⁷, mientras que en otros la toma de decisiones giró en torno a exclusivamente variables genéticas (polimorfismos IL-28B y el polimorfismo genético Programmed Cell Death-1, PD-1)¹⁶⁸.

7.1.1. CINÉTICA VIRAL DE LA PRIMERA SEMANA DE TERAPIA

Registramos la caída máxima virémica alcanzada en 2 momentos muy precoces, cuyo registro es fundamental para estimar el grado de sensibilidad viral al interferón: el 3º día (cuando el interferón pegilado alfa-2a alcanza su máxima concentración) y al 7º día (antes de la 2ª dosis).

Observamos cómo la variable RV1 se encontraba estrechamente relacionada con el genotipo IL-28B⁷⁷, presencia de RVR, el grado de fibrosis y/o esteatosis hepáticas, así como el tipo de respuesta alcanzada (recidivante, parcial o nulo).

Para discriminar qué pacientes tenían una cinética viral favorable

durante esta semana, diseñamos 5 Niveles de Exigencia Fibro-virológica (NEF), a los cuales eran asignados nuestros pacientes, en función de sus características basales (fibrosis y CVB).

Dependiendo de que fuese alcanzado o no el valor RV1 correspondiente al NEF al que había sido asignado, el paciente alcanzaría o no la RVPS, respuesta virológica de nueva creación dotada de una sensibilidad, especificidad, VPP y VPN elevados (94.2%, 82.9%, 85.9% y 92.8%), que la convierten en un predictor independiente de RVS muy potente con alto VPN, algo que se echaba de menos en variables predictivas como RVR o genotipo IL-28B^{87,88}, protagonistas insustituibles en los algoritmos terapéuticos validados.

El empleo de una 1ª dosis de inducción (PDI) respecto a la estándar no sirvió para discriminar mejor el grado de sensibilidad viral al interferón, lo que difiere de los resultados obtenidos en otros estudios¹⁰⁴. La presencia de la RVPS, por si misma, independientemente de que se usara o no una primera dosis de inducción de interferón pegilado, mantenía su capacidad predictiva.

De los estudios que emplearon una primera dosis de inducción destacamos el realizado por Buti et al¹⁰⁴, donde el patrón cinético alcanzado durante las primeras horas era distinto, dependiendo del tipo de

respuesta virológica alcanzada. Sin embargo, en nuestro estudio observamos que el poder predictivo no radicaba en emplear una primera dosis de inducción (PDI), sino en analizar la cinética viral, seleccionando la reducción virémica máxima alcanzada como momento de máxima sensibilidad viral al interferón.

En los regímenes terapéuticos basados en interferón, el grado de sensibilidad viral a dicho fármaco, va a seguir constituyendo un factor crítico. Destacamos, además de la biterapia, las combinaciones con inhibidores de la proteasa¹⁴⁸ (Telaprevir^{150,152}, Boceprevir^{149,151}, Faldaprevir o Simeprevir¹⁵³), inhibidores de la NS5A (Daclastavir), o análogos nucleósidos inhibidores de la RNA polimerasa (Sofosbuvir¹⁵⁴).

En todos estos casos, las posibilidades de curación pasan porque exista una buena sensibilidad viral al interferón administrado, algo que podría conocerse analizando la cinética viral de la 1ª semana, especialmente en respondedores nulos. Al ser terapias con mayor potencia antiviral que la biterapia, los puntos de cortes exigidos para la variable RV1 para que se alcance la RVPS, probablemente serían mayores.

Es conocido que en las terapias basadas en interferón existen 2 fases

cinéticas tras la administración de interferón: una fase de rápida caída virémica (1ª 24-48 horas), seguida de una 2ª fase, con reducción virémica más lenta ^{101,102}.

El poder pronóstico de los cambios cinéticos durante esta 1ª fase fueron analizados en un estudio, donde una reducción virémica al 2º día inferior o igual a $0.8 \log_{10}$ de haber administrado el interferón pegilado alfa-2b tenía un VPN del 95%, mientras que si ésta era mayor o igual a $2.5 \log_{10}$, su VPP era del 93% ¹⁵⁵.

La presencia de RVR y un genotipo CC de la IL-28B constituyen variables dotadas de un alto VPP, pero carecen del suficiente VPN para tomar decisiones clínicas, lo que las invalida como “reglas de parada” ^{156,157}.

La Respuesta Viroológica de la Primera Semana (RVPS), al estar dotada de un VPN superior al 90%, podría constituir una nueva “regla de parada” a tener en cuenta en futuros algoritmos terapéuticos, especialmente en subgrupos con peor respuesta al tratamiento (cirróticos, genotipo 1a, respondedores nulos, genotipos IL-28b CT/TT).

Además aquellos pacientes que presenten la RVPS podrían beneficiarse de una reducción de la duración de la terapia, especialmente en

pacientes no cirróticos. En nuestra herramienta diagnóstica la cinética viral de la primera semana se analiza en la 2ª escala (Escala Viroológica o Virologic Scale).

7.1.2. CINÉTICA LIPÍDICA DURANTE EL 1º MES DE TERAPIA

En nuestro estudio hemos encontrado la existencia de mayores tasas de curación en los pacientes con LDL-colesterol basal más elevados, aunque la significación, a diferencia de otros estudios, sólo fue obtenida en los pacientes con fibrosis hepática significativa (F3-F4), así como la presencia de unas menores tasas de curación en los pacientes con cifras de triglicéridos más elevadas^{162,163}.

La cinética lipídica durante el 1º mes de terapia antiviral parece modular las tasas de curación de los pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.

Aquellos sujetos que conseguían mantener unos niveles de LDL-colesterol medios lo suficientemente elevados durante las primeras semanas de tratamiento antiviral presentaron mayores tasas de curación, al comportarse éstos como factores limitantes de la infectividad viral a través de los receptores de estas moléculas lipídicas, en especial en los pacientes más difíciles de curar (cirróticos y/o con alta carga viral basal).

Ninguno de los pacientes con genotipo IL-28B desfavorable (CT o TT) que presentaron un grado de esteatosis hepática moderada-severa alcanzaron la RVR. La densidad de proteínas virales asociadas a las lipoviropartículas segregadas en pacientes sin esteatosis o esteatosis leve probablemente va a ser menor que la que presentan los sujetos con grados moderados o severos de esteatosis, comportándose estos conglomerados esteatósicos como potenciales reservorios virales.

Por otra parte, en nuestro estudio la existencia de diferentes niveles de exigencia lipídica o dicho de otra forma, la necesidad de mantener unas determinadas concentraciones plasmáticas media de LDL-colesterol durante el 1º mes de terapia antiviral, dependiendo del grado de fibrosis hepática, carga viral basal y el valor del ratio de infectividad de ese paciente podría ser responsable de diferencias significativas en las tasas de curación de los pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.

Partiendo del hecho de que los pacientes pertenecientes a Niveles de Exigencia Lipídica altos (cirróticos y/o presencia CVB muy elevada) consiguieron alcanzar unas menores tasas de Metabolismo lipídico favorable frente a aquellos sujetos sin cirrosis o CVB menor (NEL bajos), es un hallazgo, que podría explicar por qué estos últimos se curasen más

fácilmente que los primeros.

Por tanto, la evaluación del metabolismo cinético lipídico durante las primeras semanas de tratamiento antiviral con biterapia en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1 pone de manifiesto que las condiciones basales de la que parten estos pacientes (el tipo de genotipo de la IL-28B, la presencia y, sobre todo, el grado de severidad de la esteatosis hepática), así como las variaciones que tienen lugar en las concentraciones plasmáticas de las diferentes lipoproteínas (LDL-colesterol, triglicéridos, ratio de infectividad) son factores que juegan un papel crítico, modulando las tasas de curación virológica en estos pacientes ¹⁶⁰.

Varios estudios indican que cifras elevadas pretratamiento de lipoproteínas de baja densidad (LDL-colesterol) y colesterol total se han asociado a mayores tasas de RVS ¹⁵⁸⁻¹⁶². La terapias basadas en interferon se han asociado a un incremento en las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, como consecuencia de la inhibición de la lipoprotein lipasa.

Las cifras pretratamiento de triglicéridos y LDL-colesterol se encontraron inversa y directamente relacionados a las tasas de RVS, respectivamente. En la mayoría de estos estudios los análisis de lipoproteínas se han basado en las características basales y en análisis

transversales a las 12 o 24 semanas de terapia, pero no en fases tan precoces como los realizados en nuestro estudio (4 primeras semanas) y en algunos casos retrospectivo.

Estudios con GWAS (Genome-wide association studies) han identificado de forma independiente un polimorfismo de único nucleótido (SNPs), cerca del gen de la Interleucina 28B (IL-28B), cromosoma 19, el cual además de estar relacionado con las tasas de RVS, también se ha asociado a las cifras basales de LDL-colesterol y la esteatosis hepática de los pacientes con hepatitis crónica C.

También destacamos otro estudio como modelo predictivo de RVS para los genotipos heterocigotos de la IL-28B, en el que las variables predictivas independientes de RVS fueron la presencia de una carga viral basal (CVB mayor o menor de 6×10^5), un grado de fibrosis hepática (METAVIR superior o inferior a F2), así como unas cifras basales de LDL-colesterol mayor o inferior a 130 mg/dl, observando en este estudio que los sujetos con cifras LDL-colesterol mayores de 130 mg/dl y CVB < 600000 UI/ml presentaban unas tasas RVS mayores del 80 %, mientras que si no se daban estas circunstancias, estas tasas descendían al 35 %¹⁶³.

Estos resultados y los del estudio de Harrison et al, fueron obtenidos

retrospectivamente del ensayo IDEAL (Individualized Dosing Efficacy versus flat dosing to Assess optimal pegylated interferon therapy), estudio multicéntrico que incluyó 3070 paciente naïve con HCC-1, donde valores pretratamiento de LDL-colesterol y HDL-colesterol mayores de 130 mg/dl y menores de 40 o 50 mg/dl según sexo, respectivamente, así como el empleo de estatinas se asociaron a mayores tasas de RVS ¹⁵⁸.

En nuestro estudio, además, se puso de manifiesto que los pacientes con genotipo favorable de la IL-28B (CC) basalmente presentaban mayores concentraciones plasmáticas basales de LDL-colesterol, lo que podría justificar que estos pacientes respecto a los que portaban un genotipo IL-28B desfavorable (CT/TT) presentaran mayores tasas de curación. El efecto del consumo de estatinas no fue analizado en nuestro estudio, al haber sido una condición de exclusión la presencia de dislipemia.

También fueron confirmados los hallazgos encontrados en otros ensayos en los que se demostró que aquellos pacientes que eran portadores de un genotipo favorable de la IL-28B (CC) presentaban menores tasas de esteatosis hepática (EH), siendo además el grado de severidad de la EH mayor en los genotipos CT/TT ¹⁶⁵.

Este aspecto fue confirmado en nuestro estudio, de forma que los

pacientes que presentaban esteatosis hepática, en especial, aquellos con esteatosis hepática moderada-severa se curaban menos, probablemente debido a una mayor secreción de lipoproteínas VLDL ricas en triglicéridos y proteínas virales, actuando estas vacuolas lipídica como potenciales reservorios virales protegidos de los controles del sistema inmunitario. Sin embargo, se curaron más los pacientes que mantuvieron unas concentraciones medias de LDL-colesterol más elevadas durante el 1º mes de terapia antiviral, independientemente del genotipo de la IL-28B, lo que probablemente reflejaba la actividad de la lipoprotein lipasa¹⁵⁹.

Los pacientes con genotipo CC, que tuvieron un “ratio de infectividad” elevado (hipertrigliciridemias mayores asociadas o no a un mayor consumo de HDL-colesterol durante el 1º mes de terapia) se curaron menos.

Nuestra hipótesis radica en el hecho de que las moléculas LDL-colesterol, producidas tras la actividad de la lipoprotein lipasa se podrían comportar como limitadores de la infectividad viral a través de los receptores de la LDL-colesterol, de ahí la importancia de una actividad eficiente de esta enzima, lo que a su vez generará unos niveles plasmáticos medios más elevados de LDL-colesterol¹⁶³.

Además, el ratio de infectividad elevado como marcador indirecto de una actividad insuficiente de esta enzima, algo que sumado en algunos casos a una marcada secreción de VLDL podría ser responsable de un mayor infectividad viral a través de los receptores Scavenger.

En los pacientes con genotipo CT/TT de la IL-28B que tuvieron esteatosis hepática se consumieron más las moléculas de HDL-colesterol durante el 1º mes de terapia que aquellos que no presentaron esteatosis, lo que a su vez, podría incrementar el ratio de infectividad en estos pacientes, al reducir el denominador de dicho cociente, lo que equivaldría un menor grado de competencia frente al virus por la posible entrada viral a través de los receptores Scavenger.

La hipótesis lipídica que planteamos para explicar estos resultados se basaría en el hecho de que existirían 2 niveles de competencia claves que se comportarían como limitantes de la entrada viral al hepatocito:

- 1) Aquellos pacientes con una baja actividad de la enzima lipoprotein lipasa durante el tratamiento antiviral, asociada o no a una marcada secreción de lipovirpartículas en forma de VLDL, los niveles plasmáticos de triglicéridos producidos durante las primeras semanas de terapia antiviral serían mayores, fenómeno que podría traducirse en una mayor

infectividad viral a través de los receptores SR-BI, al existir una mayor entrada viral a través de estos receptores de las lipoviripartículas ricas en triglicéridos segregadas por el hepatocito en forma de VLDL, las cuales competirían con las moléculas HDL-colesterol (ligando fisiológico del receptor Scavenger), además de favorecerse la formación de nuevas formas oxidificadas de lipoproteínas.

2) Aquellos pacientes con una baja actividad de la enzima lipoprotein lipasa, al encontrarse limitada la producción de moléculas LDL-colesterol (ligando natural de los receptores LDL-colesterol), podría ser responsable de un incremento de la infectividad viral a través de estos receptores, de ahí que los niveles plasmáticos de LDL-colesterol alcanzados durante las primeras semanas de tratamiento, además de ser un marcador indirecto de la actividad de la lipoprotein lipasa, es posible que jugara un papel fundamental y crítico, a la hora de definir que pacientes van a poderse curarse y cuáles no, dependiendo de los niveles plasmáticos alcanzados.

7.1.3. CORTISOL PLASMÁTICO BASAL COMO PREDICTOR DE RVS.

Es la primera vez que se halla una relación entre los niveles plasmáticos basales de cortisol basal como predictor independiente de RVS

en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1. Niveles plasmáticos de cortisol basal se asociaron en nuestro estudio a mayores tasas de fracaso terapéutico con biterapia, probablemente porque los pacientes que presentan mayores tasas de cortisol, estos pacientes vayan a presentar una exposición mayor de receptores de LDL-colesterol en la superficie de la cortical suprarrenal, lo que va a conllevar un mayor grado de infectividad viral y mecanismo protector del virus para evitar el control del sistema inmunitario.

7.1.4. AJUSTE DE DOSIS DE RIBAVIRINA POR ACLARAMIENTO RENAL.

En nuestro estudio confirmamos la importancia de mantener unas mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de haber iniciado la terapia antiviral, al ser responsable de diferencias en las tasas de RVS, especialmente en aquellos sujetos con genotipo de la Interleucina 28b desfavorable (CT o TT), como en aquellos con un aclaramiento de creatinina basal mayor de 140 mililitros/hora, o si el grado de infradosificación respecto a la fórmula de Lindahl (FL) era de al menos 600 mg/día^{128,131}.

Otros colectivos de pacientes que se beneficiarían del análisis de las

concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes de terapia serían aquellos sujetos que presentaran en la biopsia hepática un menor grado de inflamación (METAVIR A0-A1) o fibrosis hepática (METAVIR F0-F2), especialmente si la edad del paciente era menor de 40 años.

Son, por tanto, pacientes que podrían beneficiarse de un ajuste óptimo de la dosis de Ribavirina, basándonos en la monitorización de factores estrechamente relacionados con las concentraciones plasmáticas de este fármaco, al reducir posiblemente en ellos la tasa de recidivas.

Para una mejor optimización de la dosis diaria de Ribavirina, nuestro grupo propone que el ajuste de la dosis diaria se realice teniendo en cuenta la fórmula de Lindahl ¹³², basada no solamente en el peso corporal, sino también en el aclaramiento de creatinina de los pacientes, con objeto de intentar mejorar las tasas de RVS.

Los colectivos, que podrían beneficiarse más de su monitorización serían aquellos con peor respuesta al tratamiento a priori (respondedores nulos, parciales y genotipo 1a en triple), así como la monitorización de otra variable estrechamente relacionada, tanto con las C_{valle} RBV en la 4ª semana como con las tasas de RVS: el volumen corpuscular medio eritrocitario (VCM) al 3º mes de biterapia ⁸⁴.

La Ribavirina es un antiviral, que no ha perdido su protagonismo, tanto en biterapia como triple terapia, ya que previene la incidencia de recidivas. Es un ácido débil, que intracelularmente es fosforilada a sus formas mono, bi y trifosfato con efectos mutagénicos.

La Ribavirina es causante de anemia hemolítica secundaria a la acumulación intraeritrocitaria de sus metabolitos, lo que obliga, en ocasiones, a la reducción de dosis, con potencial riesgo de incremento de fracasos terapéuticos.

El estudio IDEAL puso de manifiesto el impacto positivo de la presencia de anemia en las tasas de RVS, resultados que comparte nuestro estudio. Con objeto de no reducir en exceso la dosis de Ribavirina en pacientes con anemia, son numerosos los estudios publicados, donde se emplea los estimulantes de la eritropoyesis, que aunque no se han asociado a mayores tasas de curación, sí han supuesto una mejoría de calidad de vida y es responsable de un incremento del VCM también.

Aunque el empleo de Epoetina no es la terapia de elección en pacientes tratados con triple terapia con anemia, suele ser habitual su empleo, especialmente en cirróticos (CUPIC) ⁸⁹.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio destaca la importancia que podría tener en práctica clínica la monitorización los factores relacionados con las C_{valle} RBV^{133,134}, en especial los cambios producidos en el pH urinario al mes de biterapia (comprobar si éste es mayor de 6), y si se ha producido un incremento del VCM eritrocitario al 3º mes de tratamiento antiviral de al menos 6 fentolitros respecto al valor basal, especialmente en genotipo IL-28B CT o TT, fibrosis o inflamación escasa (F0-F2 o A0-A1) y en pacientes jóvenes.

Consideramos fundamental seleccionar aquellos sujetos con un aclaramiento de creatinina basal mayor de 140 mililitros/hora o aquellos con un grado de infradosificación respecto a la fórmula de Lindahl de al menos 600 mg/día, ya que el hecho de tener unas menores C_{valle} RBV al mes de biterapia en estos pacientes se asoció en nuestro estudio a menores tasas de RVS.

De esta forma, podríamos establecer qué pacientes tienen un mayor riesgo de fracaso terapéutico al reducir las dosis de Ribavirina, siendo más beneficioso el empleo de Epoetina, en lugar de reducir excesivamente la dosis de este fármaco.

Por otra parte, planteamos que, siempre que el grado de anemia nos lo permitiera, sería conveniente calcular la dosis diaria de Ribavirina empleando la fórmula de Lindahl, intentándonos aproximar a ella lo máximo posible, especialmente en biterapia y en pacientes con mayor riesgo de fracaso terapéutico con triple terapia, especialmente si su aclaramiento de creatinina basal es elevado, intentando minimizar la tasa de recidivas.

7.1.5. REGLAS DE PARADA DEL MODELO PREDICTIVO

Actualmente en plena crisis económica global, donde se priorizan los modelos predictivos costo-eficientes, y es fundamental realizar una terapia personalizada, consideramos que nuestra herramienta diagnóstica puede ser de utilidad para la ayuda a la toma de decisiones en práctica clínica.

En pacientes con hepatitis crónica C genotipo-1, al discriminar qué sujetos podrían curarse exclusivamente con biterapia reducida (24 semanas): “bajo riesgo de fracaso terapéutico”, o biterapia estándar (48 semanas): “riesgo medio”; evitando así los acontecimientos adversos generados por la triple, y mejorando su accesibilidad, sin olvidar además, que al ser un modelo predictivo basado en puntuaciones, permitiría priorizar las indicaciones de la triple terapia, centrándolas hacia los

pacientes más difíciles de curar, que nuestra herramienta consigue discriminar, al asignarles puntuaciones negativas y catalogándolos como “sujetos con alto riesgo de fracaso a la biterapia”, siendo por tanto, candidatos a terapias antivirales más potentes (triple de 1ª o 2ª generación).

Dado que en los próximos años vamos a contar con una gran batería de combinaciones antivirales triples, consideramos que la realización de un lead-in con biterapia, con objeto de obtener las puntuaciones de estas 3 escalas predictivas, podría jugar un papel relevante a la hora de decidir cuál es el régimen más adecuado.

Nuestro modelo predictivo, además de estar dotado de una elevada sensibilidad (92,2%) y especificidad (95,8%), presenta un potente valor predictivo positivo (95,9%) y negativo (92%), gracias el análisis de 2 variables cinéticas, que no había sido analizadas en estudios previos, como es la presencia de la Respuesta Viroológica de la Primera Semana (RVPS), dotada por sí misma de un valor predictivo negativo superior al 90%, que la convierte en un potente marcador de la sensibilidad viral al interferón y detector precoz (al final de la 1ª semana) de fracaso terapéutico (1ª regla de parada, basada en la suma de las puntuaciones de las Escala Basal y

Virológica), algo de lo que carecen tanto la RVR como el genotipo CC-IL-28B.

Por otro lado, el análisis del metabolismo cinético lipídico durante el 1º mes de biterapia (Escala Lipídica asociada a las 2 escalas previas, como 2ª regla de parada), va a jugar un papel clave, definiendo las posibilidades de curación de los pacientes y generando un potencial ahorro económico total que en nuestra muestra hubiera sido de casi 500.000 €.

En nuestro estudio observamos como concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes (mLDLc) mayores de 100 mg/dl, independientemente del polimorfismo IL-28B, asociadas a un ratio de infectividad bajo (menor de 3,2), constituían factores cinéticos lipídicos, que van a definir qué sujetos presentaron un metabolismo lipídico favorable como reflejo de la interacción de factores metabólicos implicados en la infectividad viral (receptores de la lipoproteína LDL-colesterol y Scavenger) y el grado de actividad enzimática lipoprotein-lipasa. El empleo de una dosis de inducción de interferón pegilado no mejoró la capacidad predictiva del modelo.

7.1.6. BENEFICIO DE BITERAPIA REDUCIDA

La Agencia del Medicamento Europea ha aprobado el uso de biterapia reducida (24 semanas) en genotipos 1 con viremia basal baja (CVB < 600000 UI/ml), que alcancen la RVR, ya que su eficacia es similar a la biterapia durante 48 semanas¹³⁹.

Además, la triple terapia, aunque es la terapia de elección en genotipo 1, no está disponible en todos los países debido a su coste y se ha demostrado que su eficacia es similar a la biterapia reducida (sólo 24 semanas) en aquellos sujetos naïve genotipo 1, no cirróticos (F0-F3), con viremia basal (CVB < 600000 UI/ml), que consiguen alcanzar la RVR durante el lead-in, independientemente del genotipo viral, IL-28B y etnia¹⁴¹.

Este subgrupo de pacientes podrían beneficiarse de una biterapia durante sólo 24 semanas, sin necesidad de emplear terapias triples. Nuestra herramienta consigue detectar estos pacientes, catalogándolos como de “riesgo bajo de fracaso terapéutico”, y asignándoles puntuaciones muy positivas (más de +10 puntos), tal como podemos ver en suplemento 4: el 96% de ellos no eran cirróticos, el 100% habían sido asignados a Niveles de Exigencia Fibro-virológicos (NEF) bajos y el 77.8% cumplían las

características requeridas para una biterapia reducida (ausencia de cirrosis, viremia basal baja y presencia de RVR).

Tan sólo un paciente cirrótico obtuvo una puntuación mayor de +10 puntos, sin alcanzar finalmente la RVS. En el resto de cirróticos la predicción fue correcta.

7.1.7. MONITORIZACIÓN DEL VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO ERITROCITARIO

En nuestro estudio, aquellos pacientes que al 3º mes de terapia presentaron un incremento del VCM de al menos 6 fentolitros, asociado o no a la presencia de un pH urinario al mes mayor de 6, presentaron de forma estadísticamente significativa mayores tasas de curación, de anemia, así como mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina.

Podría ser éste, por tanto, un factor clave a monitorizar en los regímenes antivirales basados en el uso de Ribavirina, al permitirnos en aquellos pacientes en los que no se hubiera experimentado un incremento del VCM al 3º mes de terapia de al menos 6 fl, incrementar la dosis de Ribavirina de forma gradual, hasta conseguir este evento, asociado o no a Epoetina alfa, dependiendo del grado de anemia que presentara el paciente.

Probablemente en el grado de incremento del VCM durante el 1º trimestre va a depender del grado de eritropoyesis que presente dicho paciente (producción de fórmulas inmaduras de la serie roja) como respuesta a la hemólisis producida por la Ribavirina.

Este incremento podría, además, reflejar también de forma indirecta el acúmulo intraeritrocitario de este fármaco, de forma que aquellos pacientes que conseguían un incremento del VCM mayor de 6 fl durante el 1º trimestre de terapia, podrían ser pacientes con eritrocitos con membranas celulares más estables y más resistentes a la lisis.

Esto se traduciría en mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina al mes y una menor excreción urinaria de Ribavirina y sus metabolitos, que al ser ácidos débiles, explicaría que estos pacientes tuvieran una orina menos ácida que la de los pacientes con un incremento del VCM al 3º mes inferior a 6 fentolitros.

En los pacientes que presentaron un incremento del VCM al 3º mes inferior a 6 fentolitros, posiblemente la vida media de estos eritrocitos sea más corta, como consecuencia de la presencia de una membrana eritrocitaria más inestable y más frágil que los predispone a una hemólisis

más precoz y más severa, lo que daría lugar a una mayor excreción urinaria de la Ribavirina y sus metabolitos, lo que explicaría que existan unas C_{valle} RBV inferiores, debido a una hemolisis más agresiva, que la eritropoyesis no logra compensar sin poder alcanzar un incremento significativo del VCM. Esto explicaría que la orina de estos pacientes sea más acida que aquellos que logran incrementar su VCM intratratamiento.

Por tanto, los eritrocitos se comportarían como auténticos reservorios plasmáticos circulantes de Ribavirina, que modificarían su volumen dependiendo del equilibrio hemolisis-retención intraeritrocitaria de Ribavirina existente. Estos hallazgos no coinciden con los obtenidos con Arase et al, quien estableció lo contrario a nuestras conclusiones, que mayores concentraciones plasmáticas de Ribavirina se asociaron a un pH más ácido, aunque los análisis de las concentraciones se realizaron en la semana 8¹³¹.

7.3. VALIDEZ INTERNA Y EXTERNA

Nuestro modelo predictivo, además de estar dotado de una elevada sensibilidad (92,2%) y especificidad (95,8%), presenta un potente valor predictivo positivo (95,9%) y negativo (92%), gracias el análisis de 2

variables cinéticas, que no había sido analizadas en estudios previos, como es la presencia de la Respuesta Viroológica de la Primera Semana (RVPS), dotada por sí misma de un valor predictivo negativo superior al 90%, que la convierte en un potente marcador de la sensibilidad viral al interferón y detector precoz (al final de la 1ª semana) de fracaso terapéutico (1ª regla de parada, basada en la suma de las puntuaciones de las Escala Basal y Viroológica), algo de lo que carecen tanto la RVR como el genotipo CC-IL-28B.

Por otro lado, el análisis del metabolismo cinético lipídico durante el 1º mes de biterapia (Escala Lipídica asociada a las 2 escalas previas, como 2ª regla de parada), va a jugar un papel clave, definiendo las posibilidades de curación de los pacientes y generando un potencial ahorro económico total que en nuestra muestra hubiera sido de casi 500.000 €.

Nuestro estudio no ha podido demostrar su validez externa en una cohorte independiente de validación, aunque se prevé que en breve se inicie un estudio multicéntrico que permita valorar su validez externa.

7.4. UTILIDAD CLÍNICA

En un momento de crisis económica global, con la llegada de numerosas combinaciones antivirales con previsible mayor coste que

las disponibles actualmente y previsible mejor eficacia, es fundamental en práctica clínica, contar con herramientas diagnósticas para la ayuda a la toma de decisiones.

Lo deseable es una terapia antiviral lo más personalizada posible, con el menor riesgo de acontecimientos adversos, intentando minimizar en lo posible los costes directos e indirectos. Si esto es importante, más importante es evitar someter a los pacientes a terapias antivirales, que vayan a ser ineficaces para el paciente: no hay terapia más costosa que aquella que no consigue curar al paciente.

La mayoría de las decisiones terapéuticas se basan en algoritmos terapéuticos basados en variables con un valor predictivo negativo no elevado, tales como la presencia de un genotipo CC de la Interleucina 28b o la presencia de respuesta virológica rápida, que no sirven como regla de parada.

Nuestro modelo predictivo basado en puntuaciones, que son obtenidas en fases muy precoces de un lead-in con biterapia con objetivo diagnóstico, permite detectar aquellos pacientes que pueden curarse sólo con biterapia, ahorrando recursos sanitarios, estableciendo la duración (24 o 48 semanas).

Así podemos definir qué pacientes es mejor no tratarlos con esta terapia, pues es mejor tratarlos con regímenes terapéuticos más potentes, de forma que se gradúa el riesgo de fracaso terapéutico en bajo, medio y alto, gracias a que disponemos de un método diagnóstico, que hasta la fecha no disponíamos para la práctica clínica, con un poder predictivo superior al 90% y basado de reglas de parada para la biterapia.

Consideramos que todo paciente naïve con hepatitis crónica C genotipo-1, antes de iniciar cualquier régimen terapéutico basado en el empleo de interferón (bi o triple), debería ser antes sometido a un lead-in diagnóstico con biterapia, con objeto de obtener las puntuaciones de las 3 escalas y establecer de forma personalizada el régimen terapéutico y duración más apropiados, lo que probablemente permitiría una toma de decisiones más costo-eficiente y una mayor accesibilidad a estos fármacos.

7.5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Nuestro estudio tiene como limitación la necesidad de ser validado en una cohorte independiente, que confirme nuestros resultados, sin olvidar que se emplearon para su diseño, variables de uso no común en práctica clínica, tales como IP-10 o cortisol. Sin embargo, su bajo coste (sólo 160 €)

y la escasa complejidad que tendría su potencial implantación, creemos que no serían inconvenientes insalvables para poderlas llevar a la práctica clínica.

Otro de los factores limitantes es que la regla de parada de la primera semana, depende de que dispongamos lo antes posible de las cargas virales determinadas durante la 1ª semana y, dependiendo de los laboratorios locales, en ocasiones puede tardar en disponer de las viremias del 3º y 7º día entre 1 y 1,5 semana después de haberse extraído la muestra. Sin embargo, esta limitación se podría resolver centrando los inicios terapéuticos de varios pacientes a la vez para disponer antes de los resultados.

CAPÍTULO VIII

CONCLUSIONES

CAPÍTULO VIII: CONCLUSIONES

1. La biterapia antiviral es igual de efectiva que la triple terapia en el subgrupo de pacientes no cirróticos, con carga viral baja y presencia de una respuesta virológica rápida.
2. La presencia de la Respuesta Virológica de la Primera Semana constituye un predictor robusto e independiente de la sensibilidad viral al interferón y de las tasas de respuesta virológica sostenida, con un poder predictivo superior al que tuvieron la respuesta virológica rápida o la presencia de un genotipo de la Interleucina 28b CC.
3. La presencia de un metabolismo lipídico favorable durante el primer mes de biterapia antiviral constituye un predictor independiente de la respuesta virológica sostenida.
4. Mayores concentraciones plasmáticas medias de lipoproteínas de baja densidad del colesterol durante el primer mes de tratamiento, independientemente del genotipo de la Interleucina 28b, se han asociado a mayores tasas de curación.
5. Un valor elevado del ratio de infectividad durante el primer mes de biterapia antiviral, exclusivamente en sujetos con genotipo de la

Interleucina 28b CC, se asoció a peores tasas de curación, a pesar de tratarse de un genotipo a priori favorable.

6. La fórmula de Lindahl debería ser empleada para el ajuste de la dosis diaria de Ribavirina, en lugar de hacerlo, basándonos tan solo en función del peso corporal, especialmente en pacientes con un aclaramiento de creatinina elevado o genotipo de la Interleucina 28b CT o TT.
7. Es la primera vez que se halla una relación entre los niveles plasmáticos basales de cortisol basal como predictor independiente de respuesta virológica sostenida en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1.
8. La monitorización de la cinética del volumen corpuscular medio eritrocitario y el pH urinario durante el primer trimestre y primer mes de terapia antiviral respectivamente, se relacionaron de forma estadísticamente significativa con las concentraciones plasmáticas de Ribavirina alcanzadas al mes de biterapia.
9. La suma de puntuaciones de las 2 primeras escalas del modelo predictivo (Basal y Viroológica) permitió el diseño de la primera regla de parada. Permite detectar al final de la primera semana de biterapia, aquellos pacientes con escasas posibilidades de curarse sólo con ella.

La detección de estos pacientes permitiría suspender el tratamiento al final de la primera semana de biterapia, lo que generaría un ahorro potencial muy significativo de recursos sanitarios y evitaría someterlos a acontecimientos adversos potencialmente evitables.

10. La suma de puntuaciones de las 3 escalas (Basal, Viroológica y Lipídica) permitió la obtención de la segunda regla de parada de nuestra herramienta diagnóstica. Ésta permite suspender la biterapia al mes de haberse iniciado en aquellos sujetos con puntuaciones negativas, definiendo qué regimen terapéutico sería el más eficaz.
11. Nuestro estudio ha permitido el diseño de una calculadora pronóstica de respuesta virológica sostenida en sistema Excel para pacientes con genotipo 1, que podría ser aplicada a la práctica clínica.
12. El empleo de una dosis de inducción de interferón pegilado no mejoró la capacidad predictiva del modelo pronóstico que diseñamos.

CAPÍTULO IX

ANEXOS

CAPÍTULOS IX: ANEXOS

9.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN VHC PI-0200/2008. DEPARTAMENTO HEPATOLOGÍA.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio:

Cinética del genotipo 1 del virus de la hepatitis C durante el tratamiento antiviral. Diseño de un modelo predictivo de respuesta virológica, empleando una dosis de inducción de interferón pegilado, el grado de resistencia insulínica y las concentraciones plasmáticas de ribavirina y proteína IP-10.

Código del estudio: Expediente PI-0200/2008

Centro de realización: Hospital Juan Ramón Jiménez de Huelva.

Yo, (nombre y apellidos con letras mayúsculas).....
.....
.....

He leído la Hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: (Nombre del investigador).....
.....

Comprendo que la participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera.

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

FIRMA DEL SUJETO: _____

FECHA: _____

FIRMA DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL
O MÉDICO DEL EQUIPO INVESTIGADOR

FECHA: _____

FIRMA DEL TESTIGO

(Si sujeto o representante legal no puede leer)

FECHA: _____

9.2. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: escala METAVIR.....	51
Tabla 2a: Listado de procedimientos diagnósticos	149
Tabla 2b: Listado de procedimientos diagnósticos.....	150
Tabla 3: Características basales según dosis inducción.....	174
Tabla 4: Características basales según genotipo IL-28B.....	176
Tabla 5: Diferencias entre curados y no curados.....	180
Tabla 6: Características lipídicas basales y cinéticas.....	189
Tabla 7: Variable RV1 según el NEFV.....	197
Tabla 8: Variable RV1 según fibrosis y genotipo IL-28B.....	198
Tabla 9: Análisis multivariante predictor de RVPS.....	199
Tabla 10: Niveles de Exigencia Lipídica.....	200
Tabla 11: Relación cinética lipídica y esteatosis.....	207
Tabla 12: Análisis univariante entre concentraciones plasmáticas Ribavirina y RVS...	220
Tabla 13: Análisis univariante con los 3 puntos de corte de niveles de Ribavirina.....	222
Tabla 14: Análisis multivariante de niveles de Ribavirina.....	224
Tabla 15: Modelos multivariante de RVS empleados para el diseño de la herramienta.	226
Tabla 16: Estructura de las 3 escalas predictivas.....	228
Tabla 17: Curva COR para la variable IP-10.....	236
Tabla 18: Puntos de corte de la curva COR para la variable cortisol basal.....	240
Tabla 19: Curva COR para la variable aclaramiento creatinina.....	243
Tabla 20: Puntos de cortes de la curva COR para los NEL.....	255
Tabla 21: Puntuaciones obtenidas por los pacientes de nuestra muestra.....	272
Tabla 22: Costes generados durante el estudio.....	283

9.3. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Genoma del virus de la hepatitis C.....	39
Figura 2: Estadía de la fibrosis mediante Fibroscan.....	53
Figura 3: Algoritmo terapéutico AEMPS pacientes naïve.....	95
Figura 4: Algoritmo terapéutico AEMPS previamente tratados.....	98
Figura 5: Coste medio mensual comparativo de Simeprevir.....	111
Figura 6: Coste medio mensual comparativo de Sofosbuvir.....	113
Figura 7: Coste de complicaciones por VHC.....	129
Figura 8: Diagrama de flujo de pacientes del estudio.....	147
Figura 9: Diagrama de barras concentraciones medias LDL-c.....	182
Figura 10: Correlación VLDL basal y ratio de infectividad.....	183
Figura 11: Diagrama de barras LDL-c media y RVR.....	190
Figura 12: Diagrama de barras ratio infectividad y RVS.....	191
Figura 13: Diagrama de barras VLDL basal y RVS.....	192
Figura 14: Influencia del grado de esteatosis y RVS.....	208
Figura 15: Relación VLDL basal y grado de esteatosis.....	209
Figura 16: Diagrama de barras entre las concentraciones plasmáticas de Ribavirina y las tasas de RVS en genotipo IL-28B-CT/TT.....	214
Figura 17: Área bajo la curva de concentraciones Ribavirina.....	216

Figura 35: Curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológica 5 (NEF 5).....	248
Figura 36: Curva COR para la variable RV1 en pacientes no cirróticos del Nivel de Exigencia Fibro-virológica 4 (NEF4).....	249
Figura 37: Curva COR para la variable RV1 en pacientes cirróticos pertenecientes al Nivel de Exigencia Fibro-virológica 4.....	250
Figura 38: Curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológica 3.....	251
Figura 39: Curva COR para la variable RV1 en el Nivel de Exigencia Fibro-virológica 2.....	252
Figura 40: Curva COR para la variable Respuesta Virológica de la Primera Semana (RVPS).....	253
Figura 41: Curva COR para la variable concentraciones plasmáticas medias de LDL-colesterol durante el 1º mes terapia (mLDLc).....	254
Figura 42: Diagrama de barras variable mLDLc en el Nivel de Exigencia Lipídico 2 (NEL 2).....	256
Figura 43: Diagrama de barras para la variable mLDLc en el Nivel de Exigencia Lipídica 3 (NEL 3).....	257
Figura 44: Diagrama de barras para la variable mLDLc en pacientes cirróticos (NEL 4 y NEL 5).....	258
Figura 45: Relación ratio de infectividad durante el 1º mes y tasas de curación en genotipo CC y cirróticos.....	259

Figura 46: Tasas de curación para punto de corte de ratio de infectividad elevado.....	260
Figura 47: Curva COR en genotipo CC para un ratio de infectividad bajo ($RI < 3.2$).....	261
Figura 48: Curva COR para la variable mLDLc en el Nivel de Exigencia Lipídico 5.....	262
Figura 49: Curva COR para la variable mLDLc en el Nivel de Exigencia Lipídico 4.....	263
Figura 50: Curva COR para la variable mLDL en el Nivel de Exigencia Lipídica 3.....	264
Figura 51: Curva COR para la variable mLDL en el Nivel de Exigencia Lipídica 2.....	265
Figura 52: Curva COR para la variable Metabolismo Lipídico Favorable (MLF).....	266
Figura 53: Propuesta de Algoritmo terapéutico en base a puntuaciones de las 3 escalas predictivas.....	278

CAPÍTULO X: BIBLIOGRAFÍA

1. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17 (2): 107-115.
2. Van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, Dufour JF, Lammert F, Duarte-Rojo A, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *JAMA* 2012; 308 (24): 2584-2593.
3. Mihm S, Hartmann H, Ramadori G. A reevaluation of the association of hepatitis C virus replicative intermediates with peripheral blood cells including granulocytes by a tagged reverse transcription/polymerase chain reaction technique. *J Hepatol* 1996; 24 (4):491-497.
4. Di Bisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ, et al. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion hepatitis. *Hepatology* 1991; 14(6): 969-974.
5. 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 (9055): 825-832.
6. Rodger AJ, Roberts S, Lanigan A, Bowden S, Brown T, Crofts N, et al. Assessment of long-term outcomes of community-acquired hepatitis C infection in a cohort with sera stored from 1971 to 1975. *Hepatology* 2000; 32 (3): 582-587.

7. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Borelli G, Marchesi D, Massazza M, et al. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992; 117 (7): 573-577.
8. Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, Charlotte F, Olivi M, Piette JC, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. Multidepartment Virus C. *Arthritis Rheum* 1999; 42 (10): 2204-2212.
9. Ferri C, Greco F, Longombardo G, Palla P, Marzo E, Moretti A. Hepatitis C virus antibodies in mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 1991; 9 (1): 95-96.
10. Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975; 292(15):767-770.
11. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359-362.
12. Shimizu YK, Feinstone SM, Kohara M, Purcell RH, Yoshikura H. Hepatitis C virus: detection of intracellular virus particles by electron microscopy. *Hepatology* 1996; 23 (2): 205-209.
13. Thomssen R, Bonk S, Propfe C, Heermann KH, Köchel HG, Uy A. Association of hepatitis C virus in human sera with beta-lipoprotein. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1992;181(5):293-300.
14. Houghton M, Weiner A, Han J, Kuo G, Choo QL. Molecular biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 1991; 14 (2): 381-388.

15. Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, Kurosaki M, Murakami T, Yamamoto C, et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996; 334 (2): 77-81.
16. Pawlotsky JM, Germanidis G, Frainais PO, Bouvier M, Soulier A, Pellerin M, et al. Evolution of the hepatitis C virus second envelope protein hypervariable region in chronically infected patients receiving alpha interferon therapy. *J Virol* 1999; 73 (8): 6490-6499.
17. Polyak SJ, Khabar KS, Rezeiq M, Gretch DR. Elevated levels of interleukin-8 in serum are associated with hepatitis C virus infection and resistance to interferon therapy. *J Virol* 2001; 75 (13): 6209-6211.
18. Polyak SJ, Khabar KS, Paschal DM, Ezelle HJ, Duverlie G, Barber GN, et al. Hepatitis C virus nonstructural 5A protein induces interleukin-8, leading to partial inhibition of the interferon-induced antiviral response. *J Virol* 2001; 75 (13): 6095-6106.
19. Witherell GW, Beineke P. Statistical analysis of combined substitutions in nonstructural 5A region of hepatitis C virus and interferon response. *J Med Virol* 2001; 63 (1): 8-16.
20. Hung CH, Lee CM, Lu SN, Lee JF, Wang JH, Tung HD, et al. Mutations in the NS5A and E2-PePHD region of hepatitis C virus type 1b and correlation with the response to combination therapy with interferon and ribavirin. *J Viral Hepat* 2003;10 (2): 87-94.
21. Gretch D. Mechanism of interferon resistance in hepatitis C. *Lancet* 2001; 358 (9294): 1662-1664.
22. Foy E, Li K, Wang C, Sumpter R Jr, Ikeda M, Lemon SM, et al. Regulation of interferon regulatory factor-3 by the hepatitis C virus serine protease. *Science* 2003; 300 (5622): 1145-1148.

23. Di Bisceglie AM. Hepatitis C. *Lancet* 1998;351 (9099): 351-355.
24. Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, et al. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol* 1993; 74 (Pt 11): 2391-2399.
25. Germer JJ, Heimgartner PJ, Ilstrup DM, Harmsen WS, Jenkins GD, Patel R, et al. Comparative evaluation of the VERSANT HCV RNA 3.0, QUANTIPLEX HCV RNA 2.0, and COBAS AMPLICOR HCV MONITOR version 2.0 Assays for quantification of hepatitis C virus RNA in serum. *J Clin Microbiol* 2002; 40 (2): 495-500.
26. Mulligan EK, Germer JJ, Arens MQ, D'Amore KL, Di Bisceglie A, Ledebner NA, et al. Detection and quantification of hepatitis C virus (HCV) by MultiCode-RTx real-time PCR targeting the HCV 3' untranslated region. *J Clin Microbiol* 2009; 47 (8): 2635-2638.
27. Le Guillou-Guillemette H, Lunel-Fabiani F. Detection and quantification of serum or plasma HCV RNA: mini review of commercially available assays. *Methods Mol Biol* 2009; 510:3-14.
28. Mangia A, Antonucci F, Brunetto M, Capobianchi M, Faggioli S, Guido M, et al. The use of molecular assays in the management of viral hepatitis. *Dig Liver Dis.* 2008; 40 (6): 395-404.
29. Vermehren J, Kau A, Gärtner BC, Göbel R, Zeuzem S, Sarrazin C. Differences between two real-time PCR-based hepatitis C virus (HCV) assays (RealTime HCV and Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan) and one signal amplification assay (Versant HCV RNA 3.0) for RNA detection and quantification. *J Clin Microbiol.* 2008 Dec;46(12):3880-91.
30. Berg T, Sarrazin C, Herrmann E, Hinrichsen H, Gerlach T, Zachoval R, et al. Prediction of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C: significance of baseline parameters and viral dynamics during therapy. *Hepatology.* 2003 Mar;37(3):600-9.

31. Zheng X¹, Pang M, Chan A, Roberto A, Warner D, Yen-Lieberman B. Direct comparison of hepatitis C virus genotypes tested by INNO-LiPA HCV II and TRUGENE HCV genotyping methods. *J Clin Virol.* 2003 Oct;28(2):214-6.
32. Ross RS, Viazov S, Kpakiwa SS, Roggendorf M. Transcription-mediated amplification linked to line probe assay as a routine tool for HCV typing in clinical laboratories. *J Clin Lab Anal* 2007; 21 (5): 340-347.
33. Verbeeck J, Stanley MJ, Shieh J, Celis L, Huyck E, Wollants E, et al. Evaluation of Versant hepatitis C virus genotype assay (LiPA) 2.0. *J Clin Microbiol* 2008; 46 (6): 1901-1906.
34. Saludes V, González V, Planas R, Matas L, Ausina V, Martró E. Tools for the diagnosis of hepatitis C virus infection and hepatic fibrosis staging. *World J Gastroenterol.* 2014 Apr 7;20(13):3431-3442.
35. Marcellin P¹, Asselah T. Viral hepatitis: impressive advances but still a long way to eradication of the disease. *Liver Int.* 2014 Feb;34 Suppl 1:1-3.
36. Reichard O, Norkrans G, Fryden A, Braconier JH, Sönnnerborg A, Weiland O. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alpha-2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. The Swedish Study Group. *Lancet* 1998; 351 (9096): 83-87.
37. 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(9138): 1426-1432.

38. 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 (21): 1485-1492.
39. Dill MT, Makowska Z, Trincucci G, Gruber AJ, Vogt JE, Filipowicz M, et al. Pegylated IFN- α regulates hepatic gene expression through transient Jak/STAT activation. *J Clin Invest* 2014;124(4):1568-81.
40. Wedemeyer H, Wiegand J, Cornberg, Manns MP. Polyethylene glycol-interferon: Current status in hepatitis C virus therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17 (Suppl 3): S344-S350.
41. Linsay KL, Trepo C, Heintges T, Shiffman ML, Gordon SC, Hoefs JC, et al. A randomized, double-blind trial compared pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 34: 395-403.
42. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, Heathcote EJ, Lai MY, Gane E, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000; 343: 1666-1672.
43. Zeuzem S, Schmidt JM, Lee JH, von Wagner M, Teuber G, Roth WK.. Hepatitis C virus dynamics in vivo: effect of ribavirin and interferon alfa on viral turnover. *Hepatology* 1998; 28 (1): 245-252.
44. 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. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485-1492.
45. Poynard T, Marcellin P, Lee S, Niederau C, Minuk GS, Ideo G, et al. Randomised trial of interferon alpha 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-1432.

46. Poynard T, McHutchison J, Goodman Z, Ling MH, Albrecht J. Is an “a la carte” combination interferon alfa-2b plus ribavirin regimen possible for the first line treatment in patients with chronic hepatitis C? The ALGOVIRC Project Group. *Hepatology* 2000; 31: 211-218.
47. Hadziyannis SJ, Sette HJr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al. Peginterferon- α -2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. A randomised study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140: 346-355.
48. Davis GL, Wong JB, Mc Hutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alpha-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38: 645-652.
49. Manns MP, McHutchison 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 (9286): 958-965.
50. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL Jr., et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347 (13): 975-982.
51. Jacobson IM, Brown RS, Freilich B, Poterucha JJ, Heimbach JK, Goldstein D, et al. Weight-based ribavirin dosing increases sustained virological response in patients with chronic hepatitis C: final results of the WIN-R study, a US community-based trial. *Hepatology* 2005; 42 Suppl 1: 749A.
52. Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, Sperl J, Horsmans Y, Cianciara J, et al. Efficacy of 24

- weeks treatment with Peginterferon alfa-2b plus Ribavirin in patients with chronic hepatitis C with genotype 1 and low pretreatment viremia. *J Hepatol* 2006; 44: 97-103.
53. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, Pockros PJ, Reddy KR, Hadziyannis SJ, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon α -2a (40 Kd) ribavirin therapy. *Hepatology* 2006; 43: 954-960.
54. Ferenci P, Bergholz U, Laferl H, Gurguta C; Maieron A; Gschwantler M, et al. 24-week treatment regimen with peginterferon alfa-2^a (40 Kd) plus ribavirin in HCV genotype 1 or 4 “superresponders”. *EASL 2006*; abstract 8.
55. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, Muir AJ, Galler GW, McCone J, et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009; 361: 580-593.
56. Marcellin P, Cheinquer H, Currenscu M, Dusheiko GM, Ferenci P, Horban A, et al. High sustained virological response rates in rapid virologic response patients in the large real-world PROPHECY cohort confirm results from randomized clinical trials. *Hepatology* 2012; 56: 2039-2050.
57. Bourliere M, Ouzan D, Rosenheim M, Doffoël M, Marcellin P, Pawlotsky JM, et al. Pegylated interferon-alpha 2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in a real-life setting: the Hepatys French cohort (2003-2007). *Antivir Ther* 2012; 17: 101-110.
58. Deuffic-Burban S, Deltenre P, Buti M, Stoeffolini T, Parkes J, Mühlberger N, et al. Predicted effects of treatment for HCV infection vary among European countries. *Gastroenterology* 2012; 143: 974-985.
59. Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 1195-1206.

60. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 2405-2416.
61. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, Marcellin P, Vierling JM, Zeuzem S, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 1207–1217.
62. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, Focaccia R, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 2417-2428.
63. Gale M Jr, Foy M. Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. *Nature* 2005; 436: 939-945.
64. Berg T, von Wagner M, Hinrichsen H, Mauss S, Wedemeyer C, Sarrazin, et al. Definition of a pretreatment viral load cut-off for an optimized prediction of treatment outcome in patients with genotype 1 infection receiving either 48 or 72 weeks of peginterferon-a2a plus ribavirin [abstract 350]. *Hepatology* 2006; 44 suppl 1: 321A.
65. Wiegand J, Buggisch P, Boecher W, Zeuzem S, Gelbmann CM, Berg T, et al. Early monotherapy with pegylated interferon alpha-2b for acute hepatitis C infection: the HEP-NET acute-HCV-II study. *Hepatology* 2006; 43: 250-256.
66. Salmerón J, De Rueda PM, Ruíz-Extremera A, Casado J, Huertas C, Bernal Mdel C, et al. Quasiespecies as predictive response factors for antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 960-967.
67. Puig-Basagoiti F, Forns X, Fucic I, Ampurdanés S, Giménez-Barcons M, Franco S, et al. Dynamics of hepatitis C virus NS5A quasiespecies during interferon and ribavirin therapy in responder and non-responder patients with genotype 1b chronic hepatitis C. *J Gen Virol* 2005; 86: 1067-1075.

68. Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, et al. Predictive factors for early and sustained responses to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1: amino acid substitutions in the core region and low-density lipoprotein cholesterol levels. *J Hepatol* 2007; 46: 403-410.
69. Heathcote EJ, Shiffman ML, Cookley WG, Dusheiko GM, Lee SS, Balart L, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 1673-1680.
70. Walsh MJ, Jonsson JR, Richardson MM, Lipka GM, Purdie DM, Clouston AD, et al. Non-response to antiviral therapy is associated with obesity and increased hepatic expression of suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS-3) in patients with chronic hepatitis C, viral genotype 1. *Gut* 2006; 55: 529-535.
71. Dai CY, Yeh ML, Huang CF, Hou CH, Hsieh MY, Huang JF, et al. Chronic hepatitis C infection is associated with insulin resistance and lipid profiles. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Jun 28.
72. Camma C, Bruno S, Di Marco V, Bruno R, Bronte F, Capursi V, et al. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2006; 43: 64-71.
73. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461: 399-401.
74. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, Muir AJ, Galler GW, McCone J, et al. Peginterferon alfa 2b or alfa 2a with ribavirin for treatment of chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009; 361: 580-593.

75. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferón-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41: 1100-1104.
76. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, et al. Genome-wide Association of IL28B with response to pegylated interferón alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105-1109.
77. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009; 461: 798-801.
78. Zerenski M, Markatou M, Borwn QB, Dorante G, Cunningham-Rundles S, Talal AH. Interferon gamma-inducible protein 10: a predictive marker of successful treatment response in hepatitis C virus/HIV coinfecting patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 45: 262-268.
79. Butera D, Marukian S, Iwamaye AE, Hembrador E, Chambers TJ, Di Bisceglie AM, et al. Plasma chemokine levels correlate with the outcome of antiviral therapy in patients with hepatitis C. *Blood* 2005; 106: 1175-1182.
80. Diago M, Castellano G, García Samaniego J, Pérez C, Fernández I, Romero M, et al. Association of pretreatment serum interferón gamma inducible protein 10 levels with sustained virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2006; 55: 374-379.
81. Lagging M, Romero AI, Westin J, Norkrans G, Dhillon AP, Pawlotsky JM, et al. IP-10 predicts viral response and therapeutic outcome in difficult-to-treat patients genotype 1 infection. *Hepatology* 2006; 44: 1617-1625.

82. Darling JM, Aerssens J, Fanning G, McHutchison JG, Goldstein DB, Thompson AJ, et al. Quantitation of pretreatment serum interferon- γ - inducible protein-10 improves the predictive value of an IL28B gene polymorphism for hepatitis c treatment response. *Hepatology* 2011; 53: 14-22.
83. Bruchfeld A, Lindahl K, Schvarcz R, Ståhle L. Dosage of Ribavirin in patients with hepatitis C should based on renal function: a population pharmacokinetic analysis. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 701-708.
84. Maynard M, Pradat P, Gagnieu MC, Souvignet C, Trepo C. Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 of therapy in hepatitis C virus genotype 1 patients. *Antivir Ther* 2008; 13: 607-611.
85. Ferenci P, Fried MW, Shiffman ML, Smith CI, Marinos G, Gonçalves Jr FL, et al. Predicting sustained virological response in chronic hepatitis C patients treated with Peginterferon alfa-2a (40 KD)/ribavirin therapy. *J Hepatol* 2005; 43: 42-33.
86. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, Pockros PJ, Reddy KR, Hadziyannis SJ, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 Kd) / ribavirin therapy. *Heaptology* 2006; 43: 954-960.
87. Moreno C, deltenre P, Pawlotsky JM, Henrion J, Adler M, Mathurin P, et al. Shortened treatment duration in treatment-naïve genotype 1 HCV patients with rapid virological response: a meta-analysis. *J Hepatol* 2010; 52: 25-31.
88. Pearlman BL, Ehleben C. Hepatitis C Genotype 1 Virus With Low Viral Load and Rapid Virologic Response to Peginterferon/Ribavirin obviates a Protease Inhibitor. *Hepatology* 2014; 59: 71-77.
89. Hézode C, Fontaine H, Dorival C, Larrey D, Zoulim F, Canva V, et al. Triple therapy in treatment-experienced patients with HCV-cirrhosis in a multicentre cohort of the French

- Early Access Programme (ANRS CO20-CUPIC) - NCT01514890. *J Hepatol* 2013; 59:434-441.
90. Marcellin P, Forns X, Goeser T, Nevens F, Carosi G, Drenth JP, et al. Telaprevir is effective given every 8 or 12 hours with ribavirin and peginterferon alfa-2a or -2b to patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2011; 140:459- 468.
91. Fried M, Buti M, Dore GJ, R. Flisiak; P. Ferenci; I. M. Jacobson, et al. TMC435 in combination with peginterferon and ribavirin in treatment-naive HCV genotype 1 patients: final analysis of the PILLAR phase IIb study. Program and abstracts of the 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; November 4-8, 2011; San Francisco, California. Abstract LB-5.
92. Zeuzem S, Berg T, Gane E, Ferenci P, Foster GR, Fried MW, et al. TMC435 with peginterferon and ribavirin in treatment-experienced HCV genotype 1 patients: the ASPIRE study, a randomised phase IIb trial. Program and abstracts of the 47th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver; April 18-22, 2012; Barcelona, Spain. Abstract 2.
93. Jacobson I, Dore GJ, Foster GR, Marcellin P, Manns M, Nikitin I, et al. Simeprevir (TMC435) with peginterferon/ribavirin for chronic HCV genotype-1 infection in treatment-naive patients: results from QUEST-1, a phase III trial. Program and abstracts of the 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver; April 24-28, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 1425.
94. Manns M, Marcellin P, Poordad FP, Jacobson I, Dore GJ, Foster GR, et al. Simeprevir (TMC435) with peginterferon/ribavirin for treatment of chronic HCV genotype-1 infection in treatment-naive patients: results from QUEST-2, a phase III trial. Program and

- abstracts of the 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver; April 24-28, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 1413.
95. Hassanein T, Lawitz E, Crespo I, Davis MN, DeMicco M, An D, et al. Once daily sofosbuvir (GS-7977) plus PEG/RBV: high early response rates are maintained during post-treatment follow-up in treatment-naïve patients with HCV genotype 1, 4, and 6 infection in the ATOMIC study. Program and abstracts of the 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; November 9-13, 2012; Boston, Massachusetts. Abstract 230.
96. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, Rodriguez-Torres M, Hassanein T, Gordon SC, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med.* 2013; 368: 1878-1887.
97. Ferenci P, Asselah T, Foster GR, Zeuzem S, Sarrazin C, Moreno C, et al. Faldaprevir plus pegylated interferon alfa-2a and ribavirin in chronic HCV genotype-1 treatment-naïve patients: final results from STARTVerso1, a randomised, double-blind, placebo-controlled phase III trial. Program and abstracts of the 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver; April 24-28, 2013; Amsterdam, The Netherlands. Abstract 1416.
98. Lam NP, Neumann AU, Gretch DR, Wiley TE, Perelson AS, Layden TJ. Dose dependent acute clearance of hepatitis C genotype virus with interferon alpha. *Hepatology* 1997; 26: 226-231.
99. Zeuzem S, Lee JH, Franke A, Rüster B, Prümmer O, Herrmann G, et al. Quantification of the initial decline of serum hepatitis C virus RNA and response to interferon alpha. *Hepatology* 1998; 27: 1149-1156.

100. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ, et al. Hepatitis C viral dynamics *in vitro* and the antiviral efficacy of interferon- α therapy. *Science* 1998; 282: 103-107.
101. Bekkering FC, Stalgis C, McHutchison JG, Brouwer JT, Perelson AS. Estimation of early hepatitis C viral clearance in patients receiving daily interferon and ribavirin therapy using a mathematical model. *Hepatology* 2001; 33: 419-423.
102. Layden JE, Layden TJ, Reddy KR, Levy-Drummer RS, Poulakos J, Neumann AU. First phase viral kinetic parameters as predictors of treatment response and their influence in the second phase viral decline. *J Viral Hepatitis* 2002; 9: 340-345.
103. Zeuzem S, Hermann 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: 1438-1447.
104. Buti M, Sánchez-Ávila F, Lurie Y, Stalgis C, Valdés A, Martell M, et al. Viral kinetics in genotype 1 chronic hepatitis C patients during therapy with 2 different doses of peginterferon alpha-2b plus ribavirin. *Hepatology* 2002; 35: 930-936.
105. Neumann A, Buti M, Lurie Y, Valdes A, Esteban R. The second phase HCV decline slope is the best predictor of sustained virologic response during treatment of chronic HCV genotype 1 patients with peginterferon alpha-2b and ribavirin. 53th Annual Meeting American Association for the Study of liver diseases. Boston 2002.
106. Herrmann E, Lee JH, Marinos G, Modi M, Zeuzem S. Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. *Hepatology* 2003; 37: 1351-1358.
107. Layden-Almer JE, Ribeiro RM, Perelson AS, Perelson AS, Layden TJ. Viral

- dynamics and response differences in HCV-infected African American and white patients treated with IFN and ribavirin. *Hepatology* 2003; 37: 1343-50.
108. Iwasaki Y, Shiratori Y, Hige S, Nishiguchi S, Takagi H, Onji M, et al. A randomized trial of 24 versus 48 weeks of peginterferon α -2a in patients infected with chronic hepatitis C virus genotype 2 or low viral load genotype 1: a multicenter national study in Japan. *Hepatol Int* 2009; 3:468-479.
109. Ferenci P, Laferl H, Scherzer TM, Gschwantler M, Maieron A, Brunner H, et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 24 weeks in hepatitis C type 1 and 4 patients with rapid virological response. *Gastroenterology* 2008; 135: 451-458.
110. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010; 139:120-129.
111. Brady DE, Torres DM, An JW, Ward JA, Lawitz E, Harrison SA, et al. Induction pegylated interferon alfa-2b in combination with ribavirin in patients with genotypes 1 and 4 chronic hepatitis C: a prospective, randomized, multicenter, open-label study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8:66-71.
112. Reddy KR, Shiffman ML, Rodríguez-Torres M, Cheinquer H, Abdurakhmanov D, Bakulin I, et al. Induction pegylated interferon alfa-2a and high dose ribavirin do not increase SVR in heavy patients with HCV genotype 1 and high viral loads. *Gastroenterology* 2010; 139: 1972-1983.
113. Rubbo PA, Van de Perre P, Tuaille E. The long way toward understanding host and viral determinants of therapeutic success in HCV infection. *Hepatol Int* 2012; 6:436-440.

114. Itakura J, Asahina Y, Tamaki N, Hirayama I, Yasui Y, Tanaka T, et al. Changes in hepatitis C viral load during first 14 days can predict the undetectable time point of serum viral load by pegylated interferon and ribavirin therapy. *Hepatology research* 2011; 41: 217-224.
115. Negro F. Abnormalities of lipid metabolism in hepatitis C virus infection. *Gut*. 2010; 59: 1279-1287.
116. Popescu CI, Dubuisson J. Role of lipid metabolism in hepatitis C virus assembly and entry. *Biol Cell*. 2009; 102: 63-74.
117. Albecka A, Belouzard S, Beeck AO, Descamps V, Goueslain L, Bertrand-Michel J, et al. Role of low-density lipoprotein receptor in the hepatitis C virus life cycle. *Hepatology*. 2012; 55: 998-1007.
118. Shimizu Y, Hishiki T, Sugiyama K, Ogawa K, Funami K, Kato A, et al. Lipoprotein lipase and hepatic triglyceride reduce the infectivity of hepatitis C virus (HCV) through their catalytic activities on HCV-associated lipoproteins. *Virology*. 2010; 407: 152-159.
119. Catanese MT, Ansuini H, Graziani R, Huby T, Moreau M, Ball JK et al. Role of Scavenger receptor class B type I in hepatitis C virus entry: kinetics and molecular determinants. *J Virol*. 2010; 84: 34-43.
120. Sun HY, Lin CC, Lee JC, Wang SW, Cheng PN, Wu IC, et al. Very low-density lipoprotein/lipo-viro particles reverse lipoprotein lipase-mediated inhibition of hepatitis C virus infection via apolipoprotein. *Gut*. 2013; 62: 1193-1203.
121. Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature* 2005; 436: 967-972.
122. Dixit NM, Perelson AS. The metabolism, pharmacokinetics and mechanisms of antiviral activity of ribavirin against hepatitis C virus. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 832-842.

123. Hiramatsu N, Oze T, Yakushijin T, Wang SW, Cheng PN, Wu IC, et al. Ribavirin dose reduction raises relapse rate dose-dependently in genotype 1 patients with hepatitis C responding to pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin. *J Viral Hepatitis* 2009; 16: 586–594.
124. Lindahl K, Schvarcz R, Bruchfeld A, Ståhle L. Evidence that plasma concentration rather than dose per kilogram body weight predicts ribavirin-induced anaemia. *J Viral Hepat* 2004; 11: 84–87.
125. McHutchison JG, Everson GT, Gordon S, Jacobson IM, Sulkowski M, Kauffman R, et al. Results of an interim analysis of a phase 2 study of telaprevir (VX-950) with peginterferon α -2a and ribavirin in previously untreated subjects with hepatitis C. Program and abstracts of the 42nd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver; April 11-15, 2007; Barcelona, Spain. Abstract 786.
126. Zeuzem S, Hezode C, Ferenci P, Ferenci P, Pol S, Goeser T, et al. PROVE2: phase II study of VX950 (telaprevir) in combination with peginterferon alfa2a with or without ribavirin in subjects with chronic hepatitis C, first interim analysis. Program and abstracts of the 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; November 2-6, 2007; Boston, Massachusetts. Abstract 80.
127. Poordad F, Lawitz E, Reddy KR, Afdhal NH, Hézode C, Zeuzem S, et al. Effects of ribavirin dose reduction vs. erythropoietin for Boceprevir-related anemia in patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection--a randomized trial. *Gastroenterology* 2013; 145: 1035–1044.
128. Lindahl K, Stahle L, Bruchfel A, Schvarcz R, et al. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005; 41: 275–279.

129. Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D, Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit* 2000; 22: 555–565.
130. Tsubota A, Hirose Y, Izumi N, Kumada H. Pharmacokinetics of ribavirin in combined interferon-alpha 2b and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus infection. *Br J Clin Pharmacol* 2003; 55: 360–367.
131. Arase Y, Ikeda A, Tsubota A, Suzuki F, Suzuki Y, Saitoh S, et al. Significance of serum ribavirin concentration in combination therapy of interferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *Intervirology* 2005; 48: 138–144.
132. Bruchfeld A, Lindalh K, Schvarcz R, Ståhle L. Dosage of ribavirin in patients with hepatitis C should be based on renal function: a population pharmacokinetic analysis. *Ther Drug Monit* 2002; 24:701–708.
133. Morello J, Rodríguez-Novoa S, Cantillano AL, González-Pardo G, Jiménez I, Soriano V. Measurement of ribavirin plasma concentrations by high-performance liquid chromatography using a novel solid-phase extraction method in patients treated for chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit.* 2007; 29: 802–806.
134. Morello J, Rodríguez-Novoa S, Jiménez Nácher I, Soriano V. Usefulness of monitoring ribavirin plasma concentrations to improve treatment response in patients with chronic hepatitis C. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62:1174–1180.
135. El Khoury AC, Klimack WK, Wallace C, Razavi H. Economic burden of hepatitis C associated diseases in the United States. *J Viral Hepatitis* 2012; 19: 153-160.
136. van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, Wedemeyer H, Dufour JF, Lammert F, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients

- with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *JAMA*. 2012; 308: 2584-93.
137. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver diseases. *Hepatology* 2011; 54:1433-1444.
138. Craxi A, Pawlotsky JM, Weldemeyer H, Bjoro K, Flisiak R, Forns X, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2011; 55: 245-264.
139. Moreno C, Deltenre P, Pawlotsky JM, Henrion J, Adler M, Mathurin P. Shortened treatment duration in treatment-naïve genotype 1 HCV patients with rapid virological response: a meta-analysis. *J Hepatol* 2010; 52: 25-31.
140. Leroy V, Serfaty L, Bourlière M, Bronowicki JP, Delasalle P, Pariente A, et al. Protease inhibitor-based triple therapy in chronic hepatitis C: guidelines by the French Association for the Study of the Liver: *Liver Intern* 2012; 32: 1477-1492.
141. Pearlman BL, Ehleben C. Hepatitis C genotype 1 virus with low viral load and rapid virologic response to peginterferon/ribavirin obviates a protease inhibitor. *Hepatology* 2014; 59: 71-77.
142. O'Brien TR, Everhart JE, Morgan TR, Lok AS, Chung RT, Shao Y, et al. An IL28B genotype-based clinical prediction model for treatment of chronic hepatitis C. *PLoS One* 2011; 6: e20904.
143. Vidal-Castiñeira JR, López-Vázquez A, Alonso-Arias R, Moro-García MA, Martínez-Camblor P, et al. A predictive model of treatment outcome in patients with chronic HCV infection using IL28B and PD-1 genotyping. *J Hepatol*. 2012; 56 (6): 1230-1238.
144. Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, et al. A

- predictive model of response to peginterferon ribavirin in chronic hepatitis C using classification and regression tree analysis. *Hepatology* 2010; 40: 251-260.
145. Medrano J, Neukam K, Rallón N, Rivero A, Resino S, Naggie S, et al. Modeling the probability of sustained virological response to therapy with pegylated interferon plus ribavirin in patients coinfecting with hepatitis C virus and HIV. *Clin Infect Dis* 2010; 51: 1209-1216.
146. Lagging M, Romero AI, Westin J, Norkrans G, Dhillon AP, Pawlotsky JM, et al. IP-10 predicts viral response and therapeutic outcome in difficult-to-treat patients with HCV genotype 1 infection. *Hepatology* 2006; 44: 1617-1625.
147. Lagging M, Askarieh G, Negro F, Bibert S, Söderholm J, Westin J, et al. Response prediction in chronic hepatitis C by assessment of IP-10 and IL-28B-related single nucleotide polymorphisms. *PLoS One* 2011; 6 (2): e17232.
148. Conteduca V, Sansonno D, Russi S, Pavone F, Dammacco F. Therapy of chronic hepatitis C virus infection in the era of direct-acting and host-targeting antiviral agents. *J Infect* 2014; 68 (1): 1-20.
149. Poordad F, McCone J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364 (13): 1195-1206.
150. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 364 (25):2405-2416.
151. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, Marcellin P, Vierling JM, Zeuzem S et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364 (13): 1207-1217.

152. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Diago M, Roberts S, Focaccia R, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011; 364 (25): 2417-2428.
153. Jacobson I, Dore GR, Foster GR, Fried MW, Radu M, Rafalskiy VV, et al. 1425 Simeprevir (TMC435) with peginterferon/ribavirin for chronic HCV genotype-1 infection in treatment-naïve patients: results from QUEST-1, a phase III trial. *J Hepatol* 2013; 58 (Suppl.1): S574.
154. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, Rodriguez-Torres M, Hassanein T, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2013; 368 (20): 1878-1887.
155. Durante-Mangoni E, Zampino R, Portella G, Adinolfi LE, Utili R, Ruggiero G. Correlates and prognostic value of the first-phase hepatitis C virus RNA kinetics during treatment. *Clin Infect Dis*. 2009; 49: 498-506.
156. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS, Ge D, Fellay J, Shianna KV, et al. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010; 139 (1): 120-129.
157. Pearlman BL, Ehleben C. Hepatitis C genotype 1 virus with low viral load and rapid virologic response to peginterferon/ribavirin obviates a protease inhibitor. *Hepatology* 2014; 59 (1):71-77.
158. Harrison SA, Rossaro L, Hu KQ, Patel K, Tillmann H, Dhaliwai S, et al. Serum cholesterol and statin use predict virological response to peginterferon and ribavirin therapy. *Hepatology* 2010; 52 (3): 864-874.
159. Hamamoto S, Uchida Y, Wada T, Moritani M, Sato S, Hamamoto M, et al. Changes in serum lipid concentrations in patients with chronic hepatitis C virus positive hepatitis

- responsive or non-responsive to interferon therapy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005; 20:204-208.
160. Ramcharran D, Wahed A, Conjeevaram HS, Evans RW, Wang T, Belle SH, et al. Associations between serum lipids and hepatitis C antiviral treatment efficacy. *Hepatology.* 2010; 52:854-863.
161. Tada S, Saito H, Ebinuma H, Ojiro K, Yamaishi Y, Kumagai N, et al. Treatment of hepatitis C virus with peg-interferon and ribavirin combination therapy significantly affects lipid Metabolism. *Hepatol Res.* 2009; 39: 195-199.
162. Catanese MT, Ansuini H, Graziani R, Huby T, Moreau M, Ball JK, et al. Role of Scavenger receptor class B type I in hepatitis C virus entry: kinetics and molecular determinants. *J Virol* 2010; 84 (1): 34-43.
163. Clark PJ, Thompson AJ, Zhu M, Vock DM, Zhu Q, Ge D, et al. Interleukin 28B polymorphisms are the only common genetic variants associated with low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in genotype-1 chronic hepatitis C and determinate the association between LDL-C and treatment response. *J Viral Hepat.* 2012; 19: 332-340.
164. Lagging M, Askarieh G, Negro F, Bibert S, Söderholm J, Westin J, et al. Response prediction in chronic hepatitis C by assessment of IP-10 and IL-28B-related single nucleotide polymorphisms. *PLoS One* 2011; 6 (2): e17232.
165. Lagging M, Romero AI, Westin J, Norkrans G, Dhillon AP, Pawlotsky JM, et al. IP-10 predicts viral response and therapeutic outcome in difficult-to-treat patients with HCV genotype 1 infection. *Hepatology* 2006; 44 (6): 1617-25.
166. Medrano J, Neukam K, Rallón N, Rivero A, Resino S, Naggie S, et al. Modeling the probability of sustained virological response to therapy with pegylated interferon plus ribavirin in patients coinfecting with hepatitis C virus and HIV. *Clin Infect Dis.* 2010; 51 (10): 1209-16.

167. Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, et al. A predictive model of response to peginterferon ribavirin in chronic hepatitis C using classification and regression tree analysis. *Hepatol Res* 2010; 40 (4): 251-60.
168. Vidal-Castiñeira JR, López-Vázquez A, Alonso-Arias R, Moro-García MA, Martínez-Camblor P, Melón S, et al. A predictive model of treatment outcome in patients with chronic HCV infection using IL28B and PD-1 genotyping. *J Hepatol*. 2012; 56 (6): 1230-8.