



**A.I.S.F.**

**ASSOCIAZIONE ITALIANA PER LO STUDIO DEL FEGATO**

9<sup>TH</sup> A.I.S.F. PRE-MEETING COURSE

MANAGEMENT  
OF HCV-RELATED DISEASE

Roma, 23 Febbraio 2007

Aula Magna Università degli Studi di Roma "La Sapienza"





## INDICE

<b>PROGRAMMA</b>	<b>5</b>
<b>FARMACOCINETICA, ATTIVITA' FARMACOLOGICA E MECCANISMI DI RESISTENZA ALLA TERAPIA DI COMBINAZIONE PEG-IFN E RIBAVIRINA</b> <i>Massimo Levrero</i>	<b>7</b>
<b>MANAGEMENT OF SIDE EFFECTS OF PEGYLATED INTERFERONS AND RIBAVIRIN</b> <i>Giovanni B. Gaeta, Gianluca Cuomo</i>	<b>15</b>
<b>PREDICTING TREATMENT OUTCOMES IN HEPATITIS C: THE ROLE OF EARLY VIRAL RESPONSE</b> <i>Antonio Craxi</i>	<b>19</b>
<b>IL RITRATTAMENTO DEI PAZIENTI NON RESPONDERS E RELAPERS</b> <i>Vito Di Marco</i>	<b>29</b>
<b>IL TRATTAMENTO DEI PAZIENTI CON CIRROSI HCV-CORRELATA: SCHEDULE OTTIMALI ED IMPATTO DELLA TERAPIA SULLA STORIA NATURALE</b> <i>Savino Bruno</i>	<b>35</b>
<b>LA TERAPIA DEL PAZIENTE CON ALT NORMALI</b> <i>Claudio Puoti</i>	<b>41</b>
<b>TREATMENT OF PATIENTS WITH EXTRAHEPATIC HCV INDUCED DISEASES</b> <i>Anna Linda Zignego, Antonio Petrarca</i>	<b>45</b>
<b>TREATMENT OF IDU AND HIV+</b> <i>Raffaele Bruno</i>	<b>53</b>
<b>LA TERAPIA DELLA EPATITE RICORRENTE DA HCV DOPO TRAPIANTO DI FEGATO</b> <i>Pierluigi Toniutto</i>	<b>59</b>
<b>NEW KIDS ON THE BLOCKS FOR ANTI-HCV THERAPY</b> <i>Alessio Aghemo, Massimo Colombo</i>	<b>69</b>





**9<sup>th</sup> A.I.S.F. PRE-MEETING COURSE**  
**“MANAGEMENT OF HCV-RELATED DISEASE”**  
*Course Directors: S. Fagioli, Bergamo and M. Puoti, Brescia*

**Wednesday, February 21**

09.30-10.20	Registration and Entry questionnaire	14.50-15.30	<b>Pros and Cons Maintenance treatment in non responders with cirrhosis</b> Erica Villa, <i>Modena</i> <b>Pros</b> Giorgio Saracco, <i>Turin</i> <b>Cons</b> Pietro Andreone, <i>Bologna</i> Case presentations with televoting Discussion
10.20-10.30	Course presentation S. Fagioli - M. Puoti		
<i>I Session</i>	<i>Chairpersons:</i> Giovanni Raimondo, <i>Messina</i> , Mario Rizzetto, <i>Turin</i>		
10.30-10.50	<b>Pharmacokinetics and biological basis of the pharmacological activity and of resistance to Pegylated Interferon and Ribavirin</b> Massimo Levrero, <i>Rome</i>	15.30-16.00	<i>Break</i>
10.50-11.10	<b>Management of side effects of Pegylated Interferons and Ribavirin</b> Giovanni B. Gaeta, <i>Naples</i>	<i>III Session</i>	<i>Chairpersons:</i> Maurizia Brunetto, <i>Pisa</i> Felice Piccinino, <i>Naples</i>
11.10-11.20	Question and answers	16.00 -16.20	<b>Treatment of patients with normal ALT</b> Claudio Puoti, <i>Rome</i>
11.20-11.50	<b>Treatment of HCV</b> Antonio Craxì, <i>Palermo</i>	16.20 -17.00	<b>Pros and Cons: Treatment of patients without bridging fibrosis and/or with Normal ALT</b> <b>Pros</b> Marcello Persico, <i>Naples</i> <b>Cons</b> Liliana Chemello, <i>Padua</i> Case Presentation with televoting Discussion
11.50-12.20	Questions and answers	<i>IV Session</i>	<b>Round Table: the difficult to treat patient</b> <i>Chairpersons:</i> Mario Angelico, <i>Rome</i> , Giuseppe Pastore, <i>Bari</i>
12.20-13.00	<b>Pros and Cons: Shorter treatments for patients with rapid virologic response</b> Patrizia Pontisso, <i>Padua</i> <b>Pros</b> Alessandra Mangia, <i>S.G. Rotondo</i> <b>Cons</b> Maria Grazia Rumi, <i>Milan</i> Case presentations with televoting Discussion	17.00-17.20	<b>Treatment of patients with extrahepatic HCV induced diseases</b> Anna Linda Zignego, <i>Florence</i>
13.00-14.00	<i>Lunch</i>	17.20-17.40	<b>Treatment of IDU and HIV+</b> Raffaele Bruno, <i>Pavia</i>
<i>II Session</i>	<i>Chairpersons:</i> Antonio Ascione, <i>Naples</i> Giovanna Fattovich, <i>Verona</i>	17.40-18.00	<b>Treatment of recurrence of HCV in Liver Transplant Recipients</b> Pierluigi Toniutto, <i>Udine</i>
14.00-14.20	<b>Re-Treatment of non responders and relapsers</b> Vito Di Marco, <i>Palermo</i>	18.00-18.20	<b>New KIDS on the Blocks for anti HCV therapy</b> Massimo Colombo, <i>Milan</i>
14.20-14.40	<b>Treatment of patients with cirrhosis: optimal schedule and impact on natural history</b> Savino Bruno, <i>Milan</i>	18.20-18.30	Conclusions
14.40-14.50	Questions and answers	18.30-18.40	Check of Learning
		18.40-19.00	<b>General Assembly I</b>





## FARMACOCINETICA, ATTIVITA' FARMACOLOGICA E MECCANISMI DI RESISTENZA ALLA TERAPIA DI COMBINAZIONE PEG-IFN E RIBAVIRINA

*Massimo Levrero*

*Dipartimento di Medicina Interna - Università di Roma La Sapienza  
e Centro di Oncogenomica Molecolare AIRC - Istituto Tumori Regina Elena - Roma*

Il trattamento dell'infezione cronica HCV con la combinazione di IFN- $\alpha$  e ribavirina ha permesso di eradicare il virus in circa il 30-40% dei pazienti trattati. La necessità di migliorare le caratteristiche farmacocinetiche dell'interferone standard per migliorare l'efficacia e l'adesione alla terapia ha portato alla concezione e alla produzione degli interferonipeghilati (PEG-interferone alfa-2b, PEG-interferone alfa 2a), in cui la molecola di IFN è legata a un complesso di polietilen-glicole (PEG) mediante un legame proteico. La terapia di combinazione PEG-IFN e ribavirina per 24/48 settimane, a seconda del genotipo HCV, rappresenta oggi il trattamento standard nei pazienti con epatite cronica HCV ed è capace di sopprimere in modo permanente la replicazione dell'HCV in circa il 50% dei pazienti. È ancora dibattuto se e come la terapia interferonica possa ridurre, indipendentemente dai suoi diretti effetti antivirali, il rischio di sviluppare l'HCC nei pazienti con cirrosi HCV correlata. Va comunque tenuto conto che oltre un terzo dei pazienti con infezione HCV risulta essere resistente agli effetti antivirali degli IFN. Le basi molecolari per la resistenza alla terapia interferonica sono solo parzialmente chiarite. Le proteine non strutturali 5A (NS5A), il complesso proteasico NS3 e la proteina dell'envelope E2 codificate da HCV sembrano, sulla scorta di studi prevalentemente condotti in vitro, mediare almeno in parte la resistenza all'IFN e cooperare con numerosi fattori dell'ospite nel determinare il fallimento terapeutico.

Nei paragrafi che seguono vengono brevemente riassunte da una parte le caratteristiche farmacocinetiche degli interferoni pegilati e le attuali conoscenze dei fattori capaci di predire una risposta clinica e virologica alla terapia e dall'altra i possibili meccanismi molecolari e cellulari di resistenza all'azione dell'IFN.

### *Farmacocinetica dei PEG-IFN.*

La differente conformazione conferisce ai due PEG-IFN caratteristiche farmacocinetiche differenti. Il PEG-interferone alfa-2b (12KD) viene assorbito rapidamente dopo la somministrazione sottocutanea, con una emivita di assorbimento di solo 4,6 ore, e una volta in circolo, si distribuisce maggiormente nei tessuti e poco nei fluidi biologici. La dose somministrata deve quindi essere rapportata al peso corporeo (per un individuo di 70 kg il volume di distribuzione (VD) varia tra 69 e 98 L). Dopo una singola somministrazione sottocutanea la C<sub>max</sub> viene raggiunta tra 15 e 144 ore (T<sub>max</sub>) e tende poi a decrescere (figura 1) (1). Il rapporto tra concentrazione di picco e di valle (*peak/trough ratio*) è >10. La diminuzione delle concentrazioni di PEG-interferone alfa-2b (12KD) nei 3-4 giorni successivi alla somministrazione porta ad una significativa diminuzione della concentrazione già in quinta giornata (1). L'emivita (t<sub>1/2</sub>) del PEG-interferone alfa-2b (12KD) è di circa 40 ore e la clearance (circa 22mL/kg/h pari a circa un decimo rispetto all'IFN standard) è prevalentemente renale ed in minor misura epatico ed attraverso la degradazione dopo interazione con i recettori cellulari.

L'assorbimento del PEG-interferone alfa-2a (40KD) è più lento, con una emivita di circa 50 ore (2). Raggiunto il torrente circolatorio, il PEG-interferone alfa-2a (40KD) tende a rimanervi o a diffondere nei

liquidi interstiziali piuttosto che nei tessuti. Il suo volume di distribuzione è quindi molto piccolo, simile al volume ematico, compreso tra 6 e 14 L. Il farmaco tende a concentrarsi maggiormente negli organi molto perfusi, quali il fegato, e questo ne consente una somministrazione a dose fissa in tutti i soggetti adulti. PEG-interferone alfa-2a (40KD) comincia a essere dosabile nel siero 3-8 ore dopo una singola iniezione sottocutanea. La Cmax media (14,2 ng/ml) viene raggiunta dopo 78 ore (Tmax) e si mantiene per circa 168 ore (figura 1) (4). La concentrazione di *steady state* viene raggiunta invece dopo 5-6 somministrazioni e, a questo punto, i valori di Cmax e Tmax sono di 25,6 ng/ml e di 45 ore. Il rapporto tra concentrazione di picco e di valle (*peak/trough ratio*) allo *steady state* è di 1,5-2,1 e permette di mantenere un *plateau* per tutto il periodo di trattamento, senza che si abbia un ulteriore accumulo di farmaco. L'emivita ( $t_{1/2}$ ) del PEG-interferone alfa-2a (40KD) è di circa 80 ore e la clearance media è di circa 80mL/h (circa 1/100 rispetto all'IFN standard). PEG-IFN alfa-2a (40KD) è metabolizzato principalmente a livello del fegato a opera di proteasi non specifiche.

Le differenti caratteristiche farmacocinetiche delle due molecole giustificano le modalità di dosaggio differenti. Infatti, la molecola di 12 KD che ha un elevato volume di distribuzione si distribuisce rapidamente ai tessuti e il suo dosaggio deve essere adeguato al volume corporeo e quindi al peso dell'individuo per poter ottenere concentrazioni abbastanza costanti. Viceversa, la molecola di 40 KD, che si distribuisce maggiormente nel sangue e nei fluidi interstiziali, può essere somministrata in dose fissa, in quanto il volume del suo distretto di distribuzione tende a rimanere abbastanza costante (nell'adulto corrisponde a circa il 7% del peso corporeo) e presenta solo piccole variazioni anche in presenza di grandi modifiche del peso.

### ***Aderenza alla terapia, riduzioni di dosaggio e successo terapeutico***

L'aderenza al trattamento riveste un ruolo fondamentale per il successo della terapia. La gestione degli effetti collaterali ed una corretta informazione del paziente sono essenziali nella gestione dell'aderenza. La capacità del paziente di aderire alla terapia è uno dei fattori determinanti nel garantirne l'efficacia virologica in quanto livelli sub-ottimali dei farmaci possono non garantire la completa soppressione della replicazione virale. La scarsa aderenza è in numerosi studi uno dei principali fattori predittivi di scarsa risposta alla terapia. La possibilità di successo di una terapia per l'epatite dipende dall'assunzione di almeno l'80% delle dosi e dal completamento del trattamento in relazione ai genotipi. A pregiudicare una aderenza completa vi sono sia l'interruzione precoce del trattamento che la necessità di ridurre le dosi di farmaco. L'analisi a posteriori dell'aderenza al trattamento nell'ambito dello studio registrativo del PEG-interferone alfa-2a (40KD) di *Fried et al.*, ha evidenziato come la percentuale totale di soggetti con aderenza <80% fosse stata, anche nell'ambito di uno studio controllato, del 37% (3).

Dal punto di vista farmacocinetico i parametri che correlano con la risposta alla terapia sono l'area sotto la curva (AUC-*Area Under Curve*), cioè l'area sottesa alla curva concentrazione/tempo, che esprime l'esposizione al farmaco e, soprattutto, la concentrazione minima (Cmin) che precede l'assunzione della dose successive (Ctrough). Questi indici rappresentano la minima quantità di farmaco presente nel plasma; se risultano inferiori a quella necessaria a inibire del 50% la replicazione virale (IC50- = concentrazione di farmaco necessaria a inibire il 50- della replicazione virale *in vitro*) il virus godrà di alcune *finestre replicative* in cui potrà replicare liberamente e vanificare l'efficacia antivirale del trattamento.

### ***Fattori predittivi per la risposta alla terapia interferonica.***

Numerosi fattori correlati al virus e all'ospite giocano un ruolo nel determinare l'efficacia della terapia nei pazienti HCV. Tra i fattori virali vanno ricordati il genotipo, la carica virale pre-terapia e la velocità di risposta, in termini di caduta della viremia in corso di trattamento. Il ruolo della variabilità genetica sia della regione di NS5A denominata ISRD (Interferon Sensitivity Determinat Region) che di altre regioni di NS5A e della proteina E2, resta elusivo. Tra i numerosi fattori legati all'ospite molti sono riconducibili alla risposta immune: l'attivazione prevalente dei linfociti T-helper con profilo citochinico TH-1 o TH-2; i livelli di citochine e mediatori delle risposte immuni innate prodotte dai linfociti infiltranti il fegato, dagli epatociti o dalle cellule epatiche accessorie (IL-10, IL-8, IP-10, recettore solubile dell'IL-2). Altri fattori dell'ospite che influenzano l'interazione tra HCV e gli IFN includono l'età, il sesso e la razza dei pazienti. Infine, un ruolo importante nel determinare la probabilità di risposta viene giocato da molte comorbidità e cofattori quali le co-infezioni HIV e HBV, l'insulino-resistenza e il sovrappeso corporeo.

### ***Meccanismi di azione degli IFN***

Gli interferoni (IFN) sono una famiglia di citochine prodotte da molti tipi cellulari in risposta ad infezioni virali e ad altri tipi di stimoli e vengono usualmente classificati in IFN di tipo I ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\omega$ ), IFN di tipo II ( $\gamma$ ) e IFN  $\lambda$ . Gli IFN di tipo I e gli IFN  $\lambda$  vengono secreti in risposta alle infezioni virali da numerosi tipi cellulari, condividono l'attività antivirale e rappresentano una parte importante della risposta immunitaria "innata". L'IFN di tipo II, anche detto IFN- $\gamma$ , è prodotto dai linfociti T attivati e dai macrofagi in risposta a mitogeni o a stimolazione antigenica ed è coinvolto nella risposta immune antigene-specifica o "adattativa" (4)

La rapida induzione dell'espressione di interferone  $\alpha$  e  $\beta$  durante una infezione acuta, che rappresenta una tappa cruciale della risposta immunitaria innata, è il risultato dell'attivazione, in seguito a specifiche modificazioni post-traduzionali, di numerosi fattori trascrizionali, quali IRF3, IRF7, NFkB ed AP1 che controllano l'espressione di specifici geni IFN e di altre citochine ad attività antivirale ed immunostimolante. In particolare, la fosforilazione da parte del complesso Tank/TBK1/IKKe induce la migrazione nucleare di dimeri IRF3 che cooperano con i dimeri NFkB e AP1 nell'indurre l'espressione di IFN nelle prime fasi della risposta mentre IRF7 viene reclutato successivamente per amplificare la risposta interferonica (Figura 2).

In seguito al legame dell'IFN endogeno o dell'IFN somministrato farmacologicamente i recettori specifici IFN-RI e II, che mancano di attività chinasi, formano dimeri e vengono fosforilati a livello di un singolo residuo tirosinico dai membri della famiglia di chinasi Janus, Tyk-2 e Jak-1. I fattori trascrizionali, STAT-2 e STAT-1 (Signal transduction and Activator of Transcription - trasduttori di segnale e attivatori della trascrizione), che contengono domini SH2 e sono presenti in forma latente all'interno del citoplasma, vengono reclutati a livello dei residui tirosinici fosforilati sulle catene intracitoplasmatiche dei recettori e a loro volta subiscono una fosforilazione a livello di specifici residui tirosinici da parte delle chinasi Janus. Le proteine STAT-1 e STAT-2 fosforilate formano a loro volta etero-dimeri e migrano verso il nucleo dove si legano alla proteina p48/ISGF9, per formare un complesso eterotrimerico noto come ISGF-3 (Figura 3). Il reclutamento delle acetiltransferasi CBP/p300 e altri coattivatori trascrizionali porta alla formazione di un complesso capace di acetilare gli istoni e rendere la cromatina trascrizionalmente attiva mentre il legame di ISGF3 con deacetilasi e corepressori può convertire il complesso trascrizionalmente attivo in un complesso incapace

di attivare la trascrizione, pur essendo legato alle regioni bersaglio (regolazione epigenetica dell'espressione IFN-indotta). ISGF-3 si lega sequenze specifiche denominate ISRE (Interferon Stimulation Responsive Elements o elementi responsivi alla stimolazione interferonica) nelle regioni regolatrici di un certo numero di geni bersaglio (ISGs o Interferon Stimulated genes) inducendone l'espressione. L'efficienza della risposta cellulare all'interferone è influenzata sia dal numero di recettori sulla superficie cellulare che dalla funzionalità delle diverse componenti della via di segnalazione. Numerosi meccanismi garantiscono, infine, sia il corretto esaurimento della risposta che il ripristino della attivabilità dell'intero sistema di segnalazione: una volta trasmesso il segnale: i recettori vengono internalizzati, ubiquitinati e degradati, vengono attivate specifiche tirosina fosfatasi e le proteine STAT vengono esportate dal nucleo verso il citoplasma.

Lo studio della risposta all'IFN può essere affrontato a diversi livelli caratterizzando con metodologie biochimiche, di immunoistochimica e molecolari le diverse componenti descritte. È importante sottolineare come i diversi approcci sperimentali valutano specifici segmenti della risposta all'interferone e possano dunque fornire risultati parzialmente diversi e comunque non comparabili da studio a studio.

### *Meccanismi di non risposta agli IFN*

Il completamento del sequenziamento del genoma umano e lo sviluppo dei nuovi approcci metodologici "genome-wide" hanno modificato l'approccio convenzionale della ricerca biomedica. Gli approcci "genomici", permettono in un dato campione biologico l'analisi globale: a) dei polimorfismi genetici che predispongono ad un determinato comportamento biologico o malattia (ibridazione del DNA in esame su microarray di SNPs o Single Nucleotide Polymorphisms); b) delle modificazioni nei livelli degli mRNA (ibridazione dei cDNA rappresentativi degli mRNA campione su microarrays contenenti collezioni di cDNA o oligonucleotidi rappresentativi dell'intero trascrittoma) e, c) delle proteine (elettroforesi di proteine 2D da tessuti isolati con microdissettore e susseguente analisi mediante spettrometria di massa). Gli approcci globali ("omics") superano i limiti e la frammentarietà degli approcci biochimici e molecolari tradizionali e portano spesso all'identificazione di correlazioni tra funzioni o aspetti patogenetici specifici e geni o proteine inattese.

Nel caso particolare dell'analisi della risposta all'interferone, gli approcci genomici sono volti alla identificazione di: a) profili e combinazioni di SNPs che identificano la predisposizione genetica alla risposta o meno alla terapia con interferone pegilato e/o ribavirina nonché allo sviluppo di eventuali effetti collaterali (*Farmacogenomica*); b) profili di espressione o "signatures" (cDNA microarrays) legati alla risposta vs la non risposta all'interferone ed alla terapia combinata, ma anche correlati alla progressione della fibrosi o alla trasformazione neoplastica; c) di identificare profili proteomici rilevanti sia a livello di tessuto epatico o, addirittura, a livello sierico, L'eventuale individuazione di marcatori rilevabili nel siero e correlati con eventi clinici significativi avrebbe un ovvio ed importantissimo impatto clinico.

Mentre non esistono studi consistenti di *Farmacogenomica* e *Proteomica* applicati alla risposta all'IFN o al trattamento dei pazienti con infezione HCV, sono disponibili alcuni dati relativi alla utilizzazione delle tecniche di valutazione dei profili di espressione mediante microarrays per caratterizzare le interazioni tra infezione HCV e risposta all'interferone. L'analisi mediante microarrays dei profili di espressione epatici in scimpanze' infettati con HCV ha mostrato come l'infezione HCV induca una evidente up-regolazione in vivo di numerosi geni bersaglio dell'IFN (5). In esperimenti condotti su repliconi HCV (6) non sono state però

riscontrate significative modificazioni dell'espressione genica indotte dall'infezione HCV, a sottolineare ancora come diversi approcci sperimentali possano fornire risultati anche contrastanti. D'altro canto numerosissime osservazioni, sia in modelli cellulari che in modelli animali, sembrano confermare la capacità di HCV di sopprimere il signaling dell'interferone (Figura 3). La proteasi virale NS3/4A blocca la fosforilazione, indotta dall'attivazione dei recettori TLR-3, da infezioni virali, RNA a doppia catena e LPS, del fattore trascrizionale latente IRF-3, il quale, come già ricordato, gioca un ruolo fondamentale nelle fasi precoci della risposta innata alle infezioni virali in quanto attiva a sua volta l'espressione degli IFN di classe I e di altri geni bersaglio (7). L'espressione dell'intero genoma HCV in linee cellulari non epatocitarie interferisce con il signaling dell'IFN (riduzione della formazione di ISGF-3 e del suo legame al DNA in risposta all'IFN senza modificazioni della fosforilazione in tirosina di STAT1). La proteina non strutturale NS5A dell'HCV di tipo 1 e la proteina dell'envelope E2 legano e inibiscono l'attività catalitica di PKR, mentre la proteina core inibisce la traslocazione nucleare di STAT1. Uno studio di analisi dei profili di espressione mediante microarray ha mostrato che l'espressione di NS5A blocca l'induzione di numerosi ISG attraverso meccanismi sia ISDR-dipendenti che indipendenti (8). Infine, in un modello di topo transgenico HCV si osserva un blocco a livello nucleare del signaling dell'interferone (9) dovuto all'inibizione del legame del complesso ISGF3 al DNA a causa della ipometilazione di STAT-1 sul residuo di arginina in posizione 31 per iperattivazione della proteina PIAS1 (10). Volendo riassumere questi risultati HCV sembra indurre in vivo una risposta interferonica ma allo stesso tempo mette in atto una serie di meccanismi per diminuirne l'efficacia antivirale. Lo studio mediante l'uso di microarrays dei profili di espressione indotti da IFN e delle loro modificazioni da parte di HCV e dell'espressione di sue proteine ha comunque messo in evidenza una notevole complessità delle risposte con importanti differenze a seconda del modello cellulare (linee epatocitarie, epatociti primari ...) e sperimentale (singole proteine HCV vs replicone HCV) utilizzati (4,6,7).

Relativamente scarse sono le informazioni sulle risposte trascrizionali in vivo in pazienti sottoposti a trattamento con IFN (11) e sulle eventuali differenze tra le diverse molecole di IFN. I pochi studi, peraltro condotti ex vivo su PBMC isolati, che hanno comparato lo spettro di geni indotti dagli IFN classici con quello dei geni stimolati dal PEG-IFN a2b (12,13) non hanno sostanzialmente mostrato differenze significative legate alla pegilazione od all'azione della ribavirina. In uno studio condotto ex vivo su PBMC di pazienti responder e non responder alla terapia con PEG-IFN e Ribavirina Gerotto e coll (2004) hanno dimostrato come i pazienti NR presentino livelli di espressione di PKR più elevati dei pazienti responder, mentre la risposta alla somministrazione di IFN esogeno non differiva tra pazienti responder e non responder.

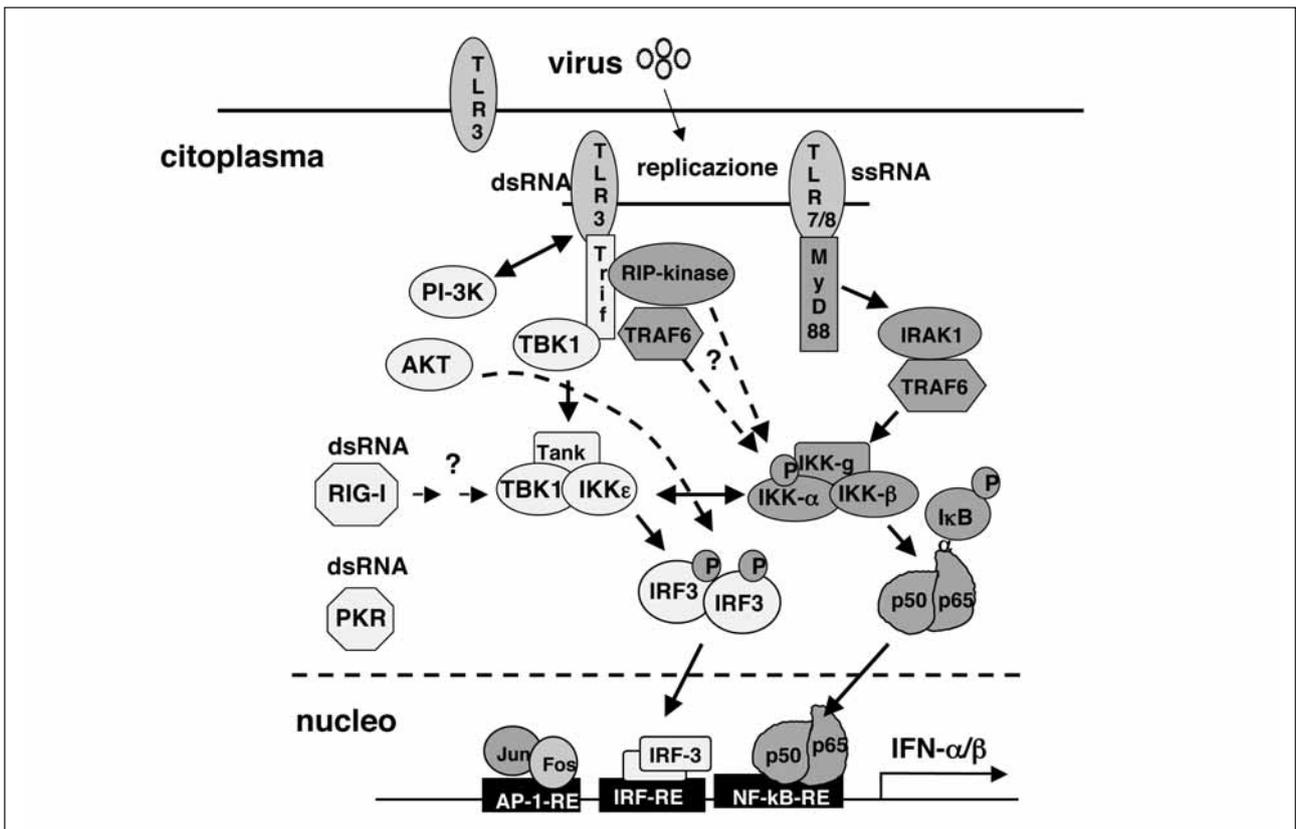
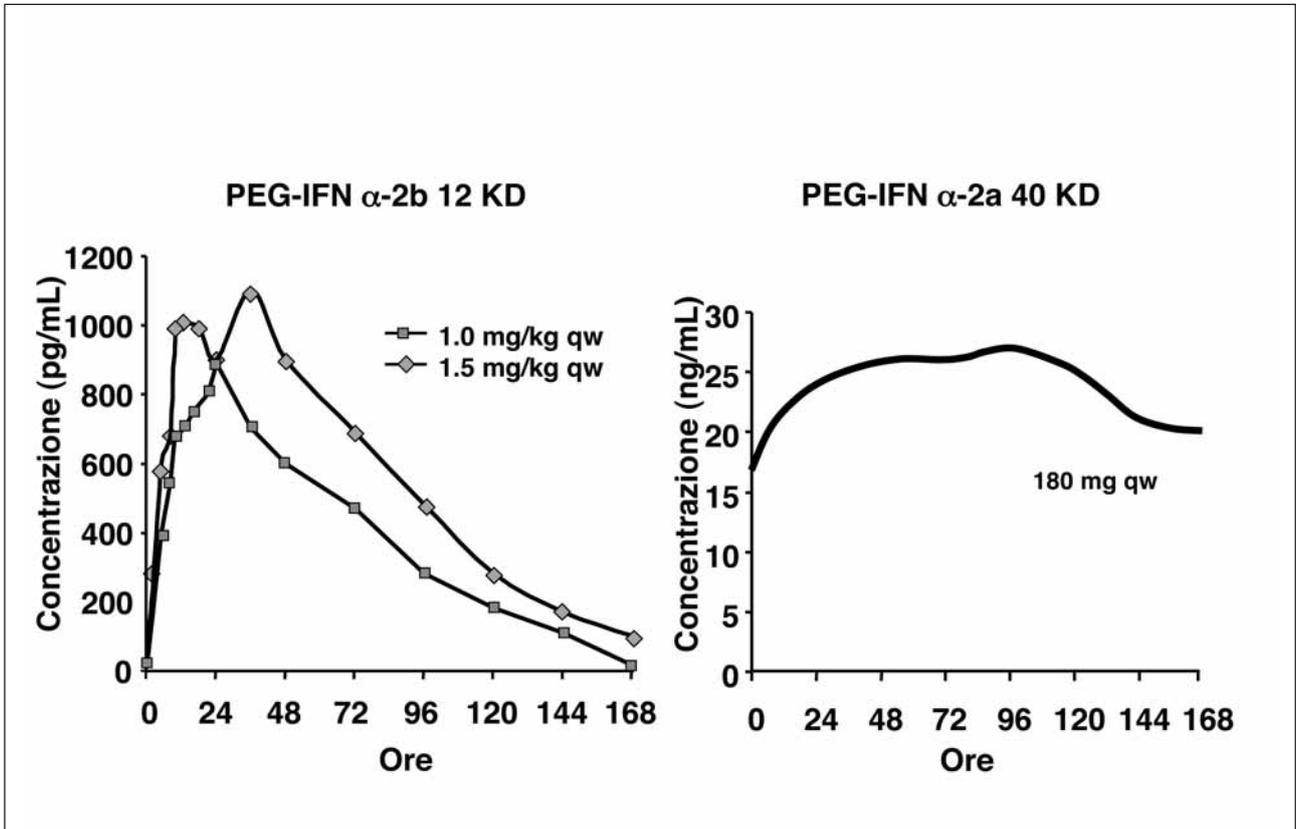
Più recentemente, Chen e coll. (2005) hanno comparato mediante microarrays i profili di espressione epatici pre-trattamento in 15 pazienti affetti da epatite cronica HCV non responder ad a PEG-IFN e Ribavirina con 16 pazienti responder e 20 controlli ed hanno potuto identificare 18 geni la cui espressione è significativamente diversa nei pazienti NR. Mediante una serie di analisi statistiche gli AA hanno ulteriormente selezionato un subset di 8 geni che permetteva di classificare correttamente come responder o non responder alla terapia 30 su 31 pazienti analizzati. È interessante sottolineare come molti dei geni up-regolati nei pazienti non responder siano geni responsivi all'IFN, suggerendo che la mancata risposta clinica all'IFN sia in qualche modo il risultato di una attivazione inefficace del sistema IFN o una resistenza agli effetti antivirali dell'IFN, piuttosto che una semplice mancanza di risposta. Questi risultati sono peraltro in accordo con numerosissime segnalazioni apparse in letteratura relativamente alla up-regolazione di singoli geni IFN-rego-

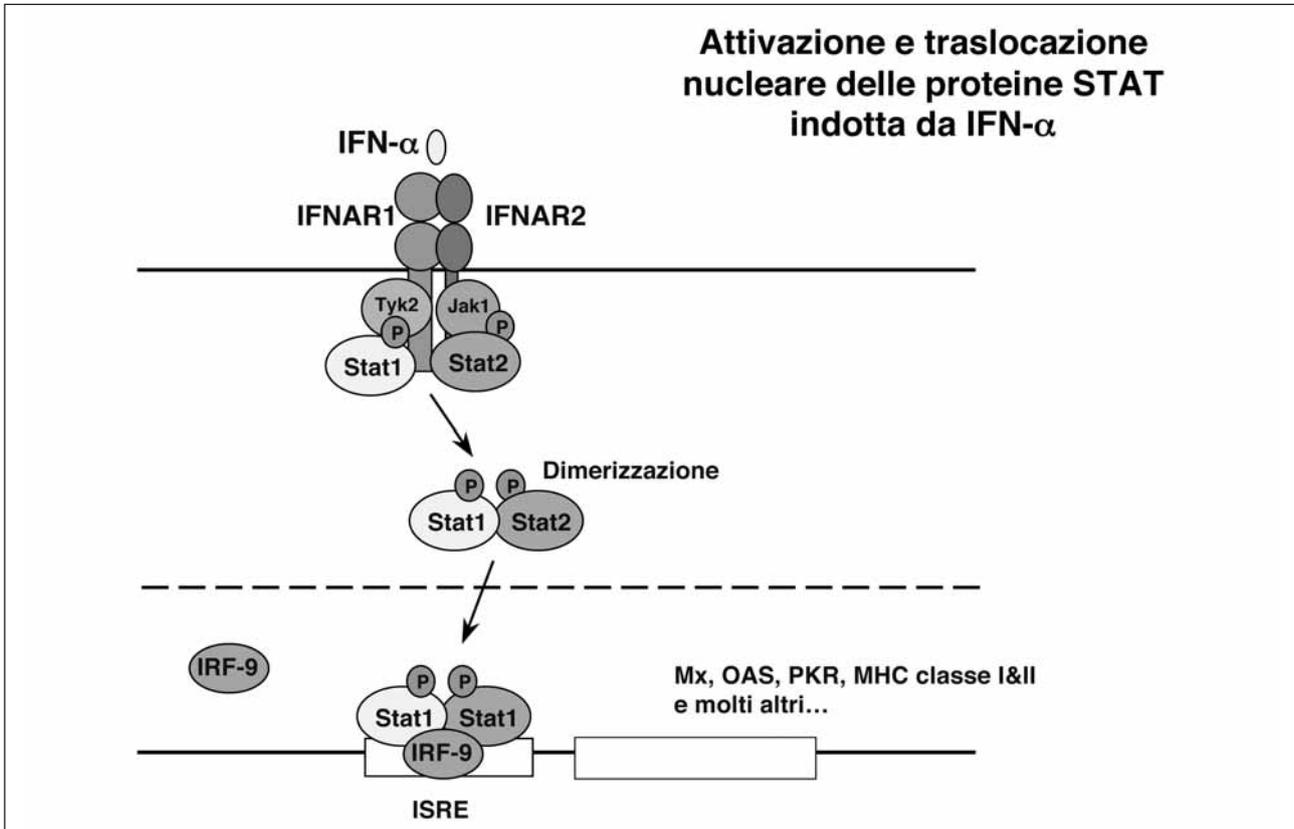


lati nei pazienti che non rispondevano all'IFN. E' evidente come questi risultati abbiano anche una importante ricaduta clinica, in quanto suggeriscono che, almeno nei pazienti in cui non si ha alcun effetto antivirale dell'IFN (i cosiddetti "null" responder e forse anche i "flat partial" responder) tentativi di aumento delle dosi o della durata del trattamento con IFN non potranno verosimilmente avere alcun successo, mentre dovrebbero essere esplorati in questi pazienti regimi terapeutici capaci di ripristinare la risposta cellulare all'IFN, anche modulando il controllo epigenetico dei geni responsivi all'IFN, o che utilizzano farmaci con meccanismi completamente alternativi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Glue P, et al. Pegylated interferon alpha 2b: pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety, and preliminary efficacy data. *Clin Pharmacol Ther* 2000;68:556-67.
2. Algranati NE, et al. A branched methoxy 40 kDa polyethylene glycol (PEG) moiety optimizes the pharmacokinetics (PK) of pegIFN a-2a (PEG-IFN) and may explain its enhanced efficacy in chronic hepatitis C (CHC). *Hepatology* 1999; 30:190A.
3. Formann E., et al. Twice-weekly administration of peginterferon-a-2b improves viral kinetics in patients with chronic hepatitis C genotype 1. *J Viral Hepat* 2003; 10:271-76.
4. Levrero M. Interferon Signaling. In *Signaling Pathways in Liver Diseases*. Eds. JF Dufour, PA Clavien. Springer 2004.
5. Su et al. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002, 99, 15669-15674.
6. Hayashi et al. The transcriptome of HCV replicon expressing cell lines in the presence of alpha interferon. *Virology*, 2005, 335, 264-275.
7. Foy, E., et al. Regulation of interferon regulatory factor-3 by the hepatitis C virus serine protease. *Science*, 2003, 300, 1145-8.
8. Geiss GK et al. Gene expression profiling of the cellular transcriptional network regulated by alpha/beta interferon and its partial attenuation by the Hepatitis C Virus nonstructural 5A protein.. *J Virol* 2003; 77(11):6367-75.
9. Blindenbacher et al. Expression of hepatitis c virus proteins inhibits interferon alpha signaling in the liver of transgenic mice. *Gastroenterology* 2003, 124, 1465-75.
10. Duong et al. Hepatitis C virus inhibits interferon signaling through up-regulation of protein phosphatase 2A. *Gastroenterology* 2004, 126, 263-77.
11. Ji et al. Interferon-alpha regulated gene expression in patients initiating interferon treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2003, 37, 1453-1462.
12. Milton W. et al. Global Effect of PEG-IFN a2b and Ribavirin on Gene Expression in PBMC In Vitro. *J. of Interferon & Cytokine Res.* 2004, 24, 107-118.
13. Brassard et al. Regulation of Gene Expression by Pegylated IFN- 2b and IFN- 2b in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells *J. of Interferon & Cytokine Res.* 2004, 24, 455-469.
14. Gerotto et al. PKR gene expression and response to pegylated interferon plus ribavirin therapy in chronic hepatitis C. *Antivir Ther.* 2004, 9, 763-70.
15. Chen et al. Hepatic gene expression discriminates responders and nonresponders in treatment of chronic hepatitis C viral infection. *Gastroenterology* 2005, 128, 1437-1444.





## Impatto delle proteine HCV sulle risposte antivirali dell'ospite

### Core

- immunosuppressione nel modello del topo in transgenico
- ridotta produzione di IL-2 and IFN- $\gamma$  da parte delle cellule T
- inibizione del "signaling" dell'IFN e delle risposte antivirali

### E2

- interferenza con le funzioni antivirali di PKR

### NS3-4A (NS2?)

- interferenza sulla produzione di IFN (attivazione di IRF-3)
- degradazione di TRIF1

### NS5A

- inibizione delle risposte antivirali IFN-mediate
- interferenza con le funzioni di PKR



## MANAGEMENT OF SIDE EFFECTS OF PEGYLATED INTERFERONS AND RIBAVIRIN

*Giovanni B. Gaeta, Gianluca Cuomo*  
*UOC Epatiti Virali, Seconda Università di Napoli*

Effetti collaterali in corso di terapia dell'epatite cronica C con Interferoni Peghilati (Peg-IFNs) e Ribavirina (RBV) sono estremamente comuni (vd. Tab. 1) e nella maggioranza dei casi possono essere gestiti dal medico con misure di supporto. Tuttavia in circa un terzo dei pazienti si rende necessaria una riduzione del dosaggio di uno o di entrambi i farmaci e nel 5-15% dei casi (trial registrativi) o nel 10-20% (serie di pratica clinica) si rende indispensabile la sospensione del trattamento. La proporzione di pazienti che richiedono aggiustamenti di dose o sospensione è proporzionale alla durata del trattamento.

L'aderenza al trattamento condiziona il tasso di risposta sostenuta: riduzioni di dose e/o di durata riducono la probabilità di risposta. Il tasso di recidiva nei sei mesi dopo la sospensione è più elevato nei pazienti che ricevono dosaggi sub-ottimali di RBV.

### Effetti avversi comuni e loro trattamento

Sindrome simil-influenzale: legata al Peg-IFN. Può essere controllata dalla somministrazione di paracetamolo (2g/die) o di anti-infiammatori non steroidei (tenuto conto delle loro controindicazioni).

Astenia: legata al Peg-IFN. Non vi sono provvedimenti di riconosciuta efficacia. Empiricamente si consiglia di praticare l'iniezione di Peg-IFN prima di un giorno di riposo. Può essere la spia di anemia (da RBV), di depressione, di ipotiroidismo.

Tosse: secca, non produttiva (tipica da RBV). Nei casi ostinati risponde solo alla sospensione della RBV. Escludere infezioni respiratorie intercorrenti.

Rush cutaneo, prurito: al tronco, dorso, arti ed occasionalmente al volto. Risponde poco a terapia locale (steroidi, anti-istaminici). Può richiedere la sospensione della RBV.

Alopecia: l'alopecia lieve è in genere reversibile alla fine della terapia. In casi severi o quando impatti con qualità di vita del paziente, la sospensione della terapia è l'unico provvedimento.

Disfunzione erettile: Correlata al Peg-IFN. Può essere un sintomo di depressione.

Depressione: è un tipico evento avverso da IFN, segnalato fino al 35% dei pazienti in terapia. L'uso di scale per la valutazione della depressione è raccomandato all'inizio della terapia e nel corso della stessa per una precoce individuazione dell'episodio depressivo. L'efficacia di farmaci inibitori selettivi del re-uptake della serotonina è documentata sia per somministrazione pre-terapia per la correzione di disturbi preesistenti che in corso di terapia per il trattamento di disturbi di nuova insorgenza. L' IFN può indurre reazioni psicotiche, che rappresentano un'emergenza psichiatrica.

Disfunzione tiroidea: La funzione tiroidea va esaminata prima del trattamento; la presenza di autoanticorpi anti-tiroide con normale funzione non è di per sé controindicazione al trattamento, ma è consigliato un monitoraggio del TSH in corso di terapia (dopo 8 settimane). Fino al 40% dei pazienti trattati sviluppa auto-anticorpi. L'ipotiroidismo deve essere trattato e può essere compatibile con la continuazione

della terapia antivirale. L'ipertiroidismo richiede trattamento e di solito sospensione della terapia antivirale.

**Neutropenia:** dovuta al Peg-IFN, è causa di riduzione di dosaggio in circa il 20% dei pazienti trattati. La riduzione di dose è raccomandata al di sotto di 750 neutrofili/mm<sup>3</sup>. Infezioni batteriche correlate alla neutropenia sono state riportate solo occasionalmente. L'uso di G-CSF è in grado di correggere la neutropenia, ma non vi sono evidenze solide per raccomandarne l'uso.

**Anemia:** La RBV causa di regola un certo grado di emolisi e l'IFN può causare soppressione dell'eritropoiesi midollare. L'anemia è la principale causa di sospensione del trattamento. Il trattamento di routine comporta la riduzione di dose di RBV per valori di emoglobina < 10g/dl e la sua sospensione per valori di 8,5g/dl o meno. In pazienti con malattia cardiaca la dose di RBV va ridotta per riduzioni di Hb >2g/dl; la sospensione è consigliata se i valori di Hb persistono < 12g/dl. La reticolocitosi compensatoria è inibita dall'IFN ed è stimolata dall'uso di eritropoietina. In uno studio controllato, alla dose di 40-60000 IU/settimanali, l'eritropoietina è in grado di elevare i livelli di Hb, senza necessità di ridurre le dosi di RBV nell'88% dei pazienti. Non vi è evidenza che questo effetto correli con una migliore SVR. L'uso dell'eritropoietina è limitato ai pazienti con cirrosi.

**Piastrinopenia:** l'IFN causa riduzione della conta piastrinica fino al 50%. La riduzione di dose è raccomandata a 50000/mm<sup>3</sup>. Pazienti con cirrosi in trattamento con combinazione e piastrinopenia fino a 30000/mm<sup>3</sup> non hanno presentato eventi emorragici correlati.

**Tabella 1: Effetti collaterali comuni segnalati in trial registrativi\***

Effetti collaterali (%)			
Astenia	(50-64)	Irritabilità	(24-35)
Cefalea	(50-62)	Depressione	(21-34)
Reazione al sito di iniezione	(36-58)	Anoressia	(14-32)
Mialgia	(42-56)	Dermatite	(16-21)
Febbre	(43-56)	Anemia	(12-22)
Tremore	(24-48)	Neutropenia	(17-20)
Alopecia	(28-36)	Trombocitopenia	(3-6)
Artralgia	(27-35)	Disfunzione tiroidea	(< 5)

\* Manns, *Lancet*, 2001; Fried, *NEJM*, 2002; Hadziyannis, *Ann Intern Med*, 2004



## BIBLIOGRAFIA

### I dati dai trial registrativi

1: Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, Goodman ZD, Koury K, Ling M, Albrecht JK.  
Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial.  
Lancet. 2001;358:958-65.

Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL Jr, Haussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J.  
Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection.  
N Engl J Med. 2002; 347:975-82.

Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadori G, Bodenheimer H Jr, Bernstein D, Rizzetto M, Zeuzem S, Pockros PJ, Lin A, Ackrill AM; PEGASYS International Study Group.  
Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose.  
Ann Intern Med. 2004;140:346-55.

### I dati dalla pratica clinica

Gaeta GB, Precone DF, Felaco FM, Bruno R, Spadaro A, Stornaiuolo G, Stanzione M, Ascione T, De Sena R, Campanone A, Filice G, Piccinino F.  
Premature discontinuation of interferon plus ribavirin for adverse effects: a multicentre survey in 'real world' patients with chronic hepatitis C.  
Aliment Pharmacol Ther. 2002; 16:1633-39

Studio PROBE  
Roche, data on file

### Anemia e neutropenia

McHutchison JG, Manns MP, Longo DL.  
Definition and management of anemia in patients infected with hepatitis C virus.  
Liver Int. 2006; 26:389-98

Afdhal NH, Dieterich DT, Pockros PJ, Schiff ER, Shiffman ML, Sulkowski MS, Wright T, Younossi Z, Goon BL, Tang KL, Bowers PJ; Proactive Study Group.  
Epoetin alfa maintains ribavirin dose in HCV-infected patients: a prospective, double-blind, randomized controlled study.  
Gastroenterology 2004;126:1302-11.

Pockros PJ, Shiffman ML, Schiff ER, Sulkowski MS, Younossi Z, Dieterich DT, Wright TL, Mody SH, Tang KL, Goon BL, Bowers PJ, Leitz G, Afdhal NH; PROACTIVE Study Group.  
Epoetin alfa improves quality of life in anemic HCV-infected patients receiving combination therapy.  
Hepatology 2004; 40:1450-58



Del Rio RA, Post AB, Singer ME.

Cost-effectiveness of hematologic growth factors for anemia occurring during hepatitis C combination therapy. *Hepatology*. 2006; 44:1598-606

Soza A, Everhart JE, Ghany MG, Doo E, Heller T, Promrat K, Park Y, Liang TJ, Hoofnagle JH. Neutropenia during combination therapy of interferon alfa and ribavirin for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002; 36:1273-9

#### Disturbi neuropsichiatrici

Raison CL, Demetrashvili M, Capuron L, Miller AH.

Neuropsychiatric adverse effects of interferon-alpha: recognition and management. *CNS Drugs*. 2005;19:105-23.

Dan AA, Martin LM, Crone C, Ong JP, Farmer DW, Wise T, Robbins SC, Younossi ZM.

Depression, anemia and health-related quality of life in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2006; 44:491-8

#### Altro

Aspinall RJ, Pockros PJ.

The management of side-effects during therapy for hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004; 20:917-29

Mandac JC, Chaudhry S, Sherman KE, Tomer Y. The clinical and physiological spectrum of interferon-alpha induced thyroiditis: toward a new classification. *Hepatology* 2006; 43:661-72



## PREDICTING TREATMENT OUTCOMES IN HEPATITIS C: THE ROLE OF EARLY VIRAL RESPONSE

*Antonio Craxi*

*Department of Internal Medicine and Gastroenterology, Policlinico, University of Palermo, Palermo, Italy*

Over the last few years considerable improvement has been seen in antiviral therapies for hepatitis C virus infection. Because the current standard regimens achieve successful treatment outcomes, the focus of research has progressed toward optimizing current standard treatment regimens through individualizing treatment duration to reduce incidence of adverse effects and costs associated with the treatment. Several host and viral factors influence treatment outcome, including viral genotype, pre-treatment viral load, viral kinetics after treatment, ethnicity, advanced liver disease, human immunodeficiency virus (HIV) co-infection, and body weight. Virological responses during the early period after treatment are increasingly used in clinical practice to predict treatment outcome. Several studies provide evidence to support the monitoring of early virological response to determine treatment outcome and modify treatment duration. This review evaluates studies among patients with chronic hepatitis C that investigated individualization of the duration of standard regimens on the basis of early virological response to potentially decrease associated costs and adverse effects, without jeopardizing efficacy.

### INTRODUCTION

The current rates of morbidity and mortality associated with hepatitis C virus (HCV) infection are predicted to increase dramatically during the next 15 years. Computerized analyses predict that, between 2010 and 2019, hepatitis C will cause 165,000 deaths because of chronic liver disease and 27,200 deaths because of hepatocellular carcinoma (1).

The increase in morbidity is paralleled by significant progress in the development of antiviral therapies that cure a substantial proportion of patients with chronic hepatitis C. Pegylated interferon (PEG-IFN) alpha plus ribavirin combination therapy can result in sustained virological response (SVR) rates of 54–56% in chronic hepatitis C patients (2, 3). Despite the higher rates of SVR achieved with the current standard of treatment therapy (48 weeks in patients with HCV genotype 1 [G1], 24 weeks in patients with HCV genotype 2/3 [G2/3]), complete viral clearance is not achieved in almost 50% of patients with chronic hepatitis.

The treatment regimens for chronic hepatitis can last up to 48 weeks; therefore, early identification of patients unlikely to respond to treatment will help minimize unnecessary treatment and reduce overall medical healthcare costs. Considerable initiative is under way to identify early predictors of response to improve treatment outcomes. Viral kinetics during the early stages of treatment is recognized as an important indicator of treatment outcome. This review evaluates the clinical evidence of rapid virological response (RVR), which is defined as undetectable HCV RNA at week 4 of treatment and early virological response (EVR), which is defined as  $\geq 2 \log_{10}$  reduction in HCV RNA from baseline at week 12 of treatment, as predictors of treatment outcomes.

### STANDARDIZATION OF TERMINOLOGY

Viral kinetics studies suggest that the change in viral load early in the course of treatment can be used



as a reliable marker to predict long-term treatment outcomes. However, it is critical to accurately determine both the HCV RNA levels and the optimal time after treatment to measure viral load to confidently predict treatment outcome. Positive predictive value (PPV) is defined as the percentage of patients who achieve EVR who subsequently also achieve an SVR. Negative predictive value (NPV) is defined as the percentage of patients who do not attain EVR who also do not attain SVR. As a result of lack of standardization of these parameters, there is variability between studies. Various studies define virological response as either a  $\geq 2 \log_{10}$  reduction in HCV RNA from baseline or undetectable HCV RNA or a combination measured 4 or 12 weeks after treatment (1, 4, 5, 6). To circumvent some of these issues, Berg *et al.* (4) and von Wagner *et al.* (7) adopted a more standardized approach in which virological response at week 4 is defined as RVR, whereas response at week 12 is termed EVR.

### ASSAY SENSITIVITY

Several qualitative and quantitative serologic assays are available for measurement of HCV RNA levels, resulting in variability. Lower limits of detection of these assays play a critical role in determining responsiveness of the virus to therapy. There is growing evidence for benefits of determining treatment duration based on early viral kinetics after treatment. Qualitative methods are recommended for confirmation of acute or chronic infection (8) and have been used to define viral eradication in large clinical studies for PEG-IFN alfa plus ribavirin (4, 7). Amplicor® v2.0 (Roche Diagnostics, Alameda, CA) and the semiautomated COBAS Amplicor® v2.0 have a lower limit of detection of 50 IU/mL, approximately 100 copies/mL of HCV RNA (9). Quantitative assay devices such as the Amplicor HCV Monitor® v2.0 and COBAS Amplicor HCV Monitor® v2.0 have a lower limit of detection of 600 IU/mL (9), and assays with a lower limit of detection as low as 29 IU/mL have been used (10). Because of significant variability among available assays, consensus must be reached in regard to the standard lower limit of detection of HCV RNA to ensure consistent data (8).

### VIRAL KINETICS

HCV particles replicate rapidly but have a half-life of only a few hours: an estimated  $10^{12}$  virions are produced and cleared each day in untreated individuals infected with HCV (6). Potent antiviral agents, such as the PEG-IFNs, can rapidly and significantly affect viral load (11, 12). Studies of viral kinetics have revealed a biphasic decline in viral concentration in response to IFN-based therapy. During the first 24–48 hours (phase 1) viral load rapidly decays, caused by the direct inhibition of production and release of viral particles (6). This reduction in HCV RNA can be up to 4 logs; however, these changes do not correlate well with treatment outcomes (6, 13).

Phase 1 viral decay is followed by a slower second phase, which lasts several weeks and represents the immune-mediated destruction of infected hepatocytes (6). This phase is highly variable and can range from 1.7–70 days (13). The rate of viral decline during the second phase correlates closely with the likelihood of patients attaining SVR (14–16). Therefore, viral levels during the first few weeks of therapy represent an important early predictor of virological response to treatment.

Although the biphasic decline is observed in most patients, irrespective of genotype, mean viral decline is faster and greater among patients infected with HCV G2 than in those infected with G1 (16, 17). The



response of the virus and the host to IFN alfa-2b therapy in terms of reduced viral production, viral clearance, and death rate of hepatocytes is significantly higher in patients infected with G2 than in those infected with G1(17). Similar findings were reported from the DITTO-HCV study, in which more than 90% of patients with G2/3 infection and only 51% of patients with G1 infection were characterized as rapid responders (according to  $\geq 2 \log_{10}$  drop in HCV RNA and a second-phase viral decay constant of  $\geq 0.09/\text{d}$  by week 4) (18). Higher doses of PEG-IFN alfa-2b also accelerate viral clearance (11). Clearly, early viral kinetics and, in particular, the second-phase decay profile after IFN-based therapy provide a valuable indication of eventual treatment outcome.

## PREDICTIVE VALUE OF EARLY AND RAPID VIROLOGICAL RESPONSES

### *Early Virological Response*

EVR, defined as  $\geq 2 \log_{10}$  reduction in HCV RNA or undetectable HCV RNA within 12 weeks of therapy, is the most effective early measure of virological response (6, 15, 19). Retrospective analyses of data from major clinical trials that evaluated the efficacy of PEG-IFN alfa plus ribavirin in the treatment of patients with chronic hepatitis C revealed that patients who attained EVR were more likely to adhere to the recommended dose and duration of treatment (Fig.1) (78–80).

A modeled analysis of the data from three large, randomized studies of PEG-IFN alfa-2a defined EVR as undetectable HCV RNA or a  $\geq 2 \log_{10}$  decrease in HCV RNA at week 12 (19). In this study, the week 4 evaluation yielded a higher PPV than the week 12 data (54 vs 46%; Fig. 1). Equally important is the potential for early discontinuation of treatment in patients who might subsequently attain SVR. In this study, the NPV of EVR was 98%, suggesting there is little chance of attaining SVR. The NPV of RVR was 91%. Only 3 (2.2%) of 136 patients who did not attain EVR achieved SVR, and 21 (9.2%) of 228 who did not attain RVR at week 4 had SVR (19).

These findings were paralleled by a retrospective analysis of the PEG-IFN alfa-2a registration study, which also reported EVR as a valid clinical predictor of SVR, based primarily on its high NPV (15). PPV for EVR was 67%, while the NPV of EVR was 97%, corroborating evidence for discontinuing treatment in patients who do not achieve a  $\geq 2 \log_{10}$  decrease from baseline or undetectable HCV RNA by week 12 of treatment (Fig. 1) (15).

EVR provides the best indicator of treatment outcome, according to a comprehensive retrospective analysis of the PEG-IFN alfa-2b plus ribavirin registration study (6). Davis *et al.* evaluated the predictive value of week 4 and week 12 changes in viraemia using polymerase chain reaction (PCR) negativity alone or PCR negativity in combination with 1  $\log_{10}$ , 2  $\log_{10}$ , or 3  $\log_{10}$  decreases in HCV RNA. Of the eight permutations evaluated, the best definition of EVR was a decrease in HCV RNA of at least 2  $\log_{10}$  reduction from baseline viral levels or undetectable HCV RNA after 12 weeks of treatment. Of the 380 patients who achieved EVR, 273 (72%) achieved SVR, whereas the other 107 patients (28%) who achieved EVR did not achieve SVR. These criteria were also associated with a 100% NPV i.e none of the patients without an EVR achieved an SVR (Fig. 1) (6). EVR is a less robust tool to predict positive treatment outcomes; however, it reliably predicts negative treatment outcomes. Therefore, EVR may be a good parameter for clinicians to make a decision on discontinuation of treatment



### *Rapid Virological Response*

In addition to the merits of EVR as a clinical marker of SVR, RVR at week 4 is valuable for predicting therapeutic outcomes. Jensen *et al.*, in a retrospective analysis of clinical trial data, found that patients infected with G1 who had undetectable HCV RNA at week 4 were less likely to experience virological relapse than patients who did not achieve RVR (20). Across a series of treatment regimens (including 24- and 48-week treatment schedules), 73–97% of patients who achieved RVR had undetectable HCV RNA at the end of treatment. These rates paralleled data among patients with an RVR who also achieved an SVR (73–91%), indicating that virological relapse in patients who achieve RVR is less likely (20). In contrast, patients who did not achieve RVR showed consistently lower rates of SVR (16–44%) than end-of-treatment response rates (56–70%). Overall, in this study involving 24-week treatment, 89% of patients who achieved RVR also achieved SVR, whereas only 19% of patients who did not achieve RVR achieved SVR. This study concluded that, in patients with undetectable HCV RNA at week 4, a 48-week treatment regimen conferred no added benefit over a 24-week regimen. Conversely, in patients who did not achieve RVR, SVR rates increased with longer treatment duration and with increased ribavirin exposure (20). This study highlights the merits of RVR and its clinical usefulness in determining treatment duration; however, these data also caution against discontinuing treatment in patients with detectable HCV RNA at week 4 on the basis of the detectable HCV RNA. Although only 146 (20%) of 729 patients who underwent week 4 HCV RNA analyses achieved RVR, 322 (44%) of 740 randomly assigned patients achieved SVR (20). Therefore, more than 20% of patients did not achieve RVR yet had successful long-term treatment outcomes. Discontinuing treatment because of RVR would therefore result in a substantial number of patients being denied potentially curative treatment.

RVR may also be a valuable clinical indicator of treatment outcomes specific patient populations. For example, recent findings suggest that, in G1 patients with pre-treatment viral load  $\leq 600,000$  IU/mL, RVR, undetectable ( $<29$  IU/mL) HCV RNA at week 4, predicts an SVR rate of 89% with a 24-week treatment regimen and an SVR rate of 85% with a 48-week treatment regimen (10). Similar findings were reported by Jensen *et al.* among patients with G1, with RVR, undetectable ( $<50$  IU/mL) HCV RNA at week of treatment, predicting an SVR rate of 89% with 24-weeks of treatment (20). Therefore, RVR may be used by clinicians to individualize treatment duration—patients with G1 who achieve an RVR should continue treatment for an additional 20 weeks, whereas those who do not achieve RVR should maintain the recommended 48-week treatment regimen.

### **EVR AND RVR AS A BASIS FOR INDIVIDUALIZATION OF TREATMENT DURATION**

The Consensus Development Conference Statement for the Management of Hepatitis C issued by the National Institutes of Health in 2002 recommends that treatment need not be continued in patients who do not achieve a minimum  $2 \log_{10}$  decrease in HCV RNA by week 12 (8). Maximizing the NPV of any early stoppage rule is the most important component in determining its clinical validity. Evidence suggests that a week 12 EVR is associated with an NPV of at least 97% when using a standard 48-week treatment regimen (Fig. 1). However, Davis and colleagues reported that patients with  $\geq 2 \log_{10}$  reduction from baseline but detectable HCV RNA at week 12 achieved 21% SVR (6). Similarly, Ferenci and colleagues showed that 13% of patients with  $\geq 2 \log_{10}$  reduction from baseline but detectable HCV



RNA achieved an SVR. Therefore, EVR can be used to individualize treatment regimens for patients with chronic hepatitis C. (21, 22).

#### *Genotype 1 Hepatitis C Virus*

Assessment of EVR can be used to tailor treatment programs to the specific characteristics of individual patients. For example, a recent clinical trial suggested that SVR can be achieved in patients with G1 HCV who do not achieve undetectable HCV RNA at week 12, with extended treatment duration of 72 weeks (23). Among patients with G1 who had detectable HCV RNA at week 4, SVR rates were higher with 72 weeks than 48 weeks of treatment (44% vs 28%,  $P = .003$ ). Furthermore, higher number of patients without an EVR ( $\geq 2$ log reduction from baseline or undetectable HCV RNA at week 12) achieved SVR with 72 weeks than 48 weeks of treatment (15% vs 8%). Similarly, Berg and colleagues reported that among patients who do not achieve an EVR, SVR rates of 17% with a 48-week treatment regimen while they were 29% with a 72-week regimen ( $p = 0.04$ ) (4). In contrast, there was no additional benefit in extending treatment duration beyond 48 weeks in patients who achieved EVR: SVR rate was 80% in patients treated for 48 weeks and was 76% in those treated for 72 weeks (4). Pearlman and colleagues reported that among G1 patients who are slow responders ( $\geq 2$ log reduction from baseline but detectable HCV RNA at week 12), the overall SVR rates were higher with 72 weeks than 48 weeks of treatment (39% vs 18%,  $P = .03$ ) (24). Therefore, week 12 HCV RNA evaluation may help identify patients who might benefit from extended therapy.

These data may leave physicians with a dilemma. Although current guidelines suggest that treatment should be discontinued in patients who do not achieve EVR at week 12 (8), data suggest that many may have successful treatment outcomes if treated for an extended 72-week period (4). One missing piece to the puzzle is the NPV of week 12 EVR when assessing a 72-week regimen. Although the 48-week regimen is associated with a high NPV, this value may be somewhat lower if patients are permitted extended access to therapy. Further study is necessary; however, change in viral load during the first 12 weeks of treatment is clearly significant in patients with G1 HCV. In addition to these data, which illustrate the value of extended treatment in patients who do not achieve EVR, Zeuzem *et al.* have shown that G1 patients with low pretreatment viral load who achieve RVR may benefit from a shortened (24-week) treatment regimen without compromising long-term outcomes (10). G1 patients undoubtedly will benefit from continued individualization of a treatment program according to their early response to treatment.

#### *Genotype 2/3 Hepatitis C Virus*

Attaining the virological criteria for RVR may allow for shortening of therapy in individual patients infected with G2/3 infected. Undetectable HCV RNA at weeks 4 and 8 is an accurate predictor of response in G2/3 infected patients (25). In this study, patients with undetectable HCV RNA at weeks 4 and 8 received PEG-IFN alfa-2b (1.0 mg/kg/wk) plus ribavirin for a total of 14 weeks, whereas those with detectable HCV RNA at week 4 or 8 received treatment for 24 weeks. SVR rates were 90% in the 14-week group and 56% in the 24-week group, indicating that a combined analysis at weeks 4 and 8 may be valuable for individualization of treatment regimens (25). Similarly, Mangia *et al.* showed the week 4 RVR to be a valuable clinical sign post that allowed shortening of treatment duration in patients with G2/3 infection. In this study, patients were randomly assigned to receive PEG-IFN alfa-2b plus rib-



avirin for a standard 24-week regimen or for a variable period in which patients with an RVR received treatment for 12 weeks and those with detectable HCV RNA at week 4 received treatment for 24 weeks (26). In this study, SVR rates were 76% in the standard-duration group and 77% in the variable-duration group, again supporting the validity of reducing treatment duration based on positive RVR (Fig. 2) (26).

Several reports suggest that patients infected with HCV G2/3 who attained RVR could be treated successfully using a shorter treatment regimen (7). Mangia *et al.* (26) suggested that G2/3 patients who achieved RVR could be treated effectively with a 12-week regimen and Dalgard *et al.* showed effectiveness of treatment with a 14-week regimen (25), whereas von Wagner *et al.* assessed a more conservative 16-week regimen (7). All G2/3 patients with undetectable HCV RNA at week 4 (<600 IU/mL) were randomly assigned to receive PEG-IFN alfa-2a plus ribavirin for 16 or 24 weeks. Treatment outcomes were similar in both groups, with 82% and 80% of patients achieving SVR using the 16-week and 24-week regimen, respectively ( $P > .05$ ). End-of-treatment responses were slightly higher among patients randomly assigned to the 16-week regimen than among those receiving 24 weeks of therapy (94% vs 85%,  $P > .05$ ), possibly suggesting that relapse rates may be greater when using shorter treatment duration. In contrast, in patients who did not achieve an RVR, SVR rates were significantly lower in patients treated for 16 weeks than for those treated for 24 weeks (36% vs 81%,  $p = 0.005$ ), again indicating that the full treatment course is essential in patients who do not achieve an RVR (7).

Although EVR and RVR are objective, validated measures of treatment outcomes, therapeutic decisions, particularly early cessation, will be influenced by patient perception and preference. High NPVs provide statistical grounds for early stoppage rules but fall short of providing guarantees. As discussed previously, some patients who do not achieve EVR do achieve SVR at week 48 (2, 19), and extending treatment to 72 weeks may further increase the likelihood of a successful outcome (4). The desire to stop unnecessary treatment and minimize healthcare expenditure through early cessation of therapy must be tempered against the need to maximize the chances of a successful treatment outcome. Given these data, treatment discontinuation may not be welcome by many patients even when their chances of a successful outcome are remote. A United Kingdom survey of patients undergoing treatment with PEG-IFN plus ribavirin for chronic hepatitis C showed that most patients were reluctant to discontinue therapy even when warned that it had a low probability of success (27). All patients who achieved EVR and 50% of those who did not (2 of 4) continued with treatment. Ultimately, viral response during the early stages of treatment should be viewed as only one of several important factors (viral genotype, baseline viral load, patient preference, extent of fibrosis) that must be considered before an individualized treatment plan is implemented.

### ECONOMIC ANALYSES OF EVR-GUIDED THERAPY

Discontinuation of therapy in patients who will not attain SVR is an effective way to reduce drug costs and avoid unnecessary healthcare expenditure. The economic implications of early treatment discontinuation based on the EVR threshold were evaluated in a Spanish cost-effectiveness analysis that considered the value of three treatment strategies in patients with HDV G1 receiving PEG-IFN alfa-2b plus



ribavirin (28). The three treatment strategies were as follows:

All patients receive PEG-IFN alfa-2b plus ribavirin for 48 weeks

All patients initially receive PEG-IFN alfa-2b plus ribavirin for 48 weeks, but treatment is withdrawn in patients with detectable HCV RNA or who have a less than  $2 \log_{10}$  decline in HCV RNA from baseline at week 12.

All patients receive PEG-IFN alfa-2b plus ribavirin for 48 weeks, but treatment is withdrawn in patients who have detectable HCV core antigen at week 12

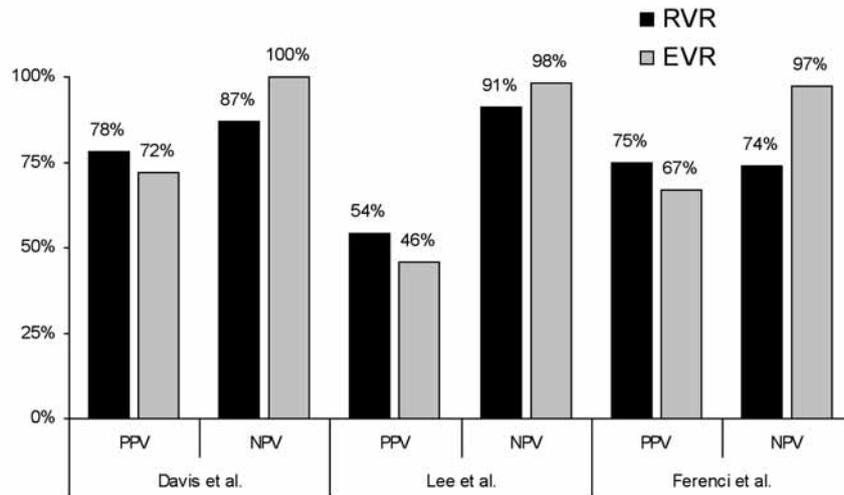
In the current study, strategy 1 was associated with high cost and low effectiveness, was eliminated from the analysis, and was considered inferior to strategies 2 and 3 (28). SVR rates were estimated at 69% and 64% when using strategies 3 and 2, respectively. In strategy 2, 11,776 patients achieved SVR at a per-patient cost of 19,763 (total cost 232,730,286), whereas in strategy three, 12,745 patients achieved SVR at a per-patient cost of 19,142 (total cost 243,974,529). Therefore, strategy 3 resulted in 970 more patients achieving SVR at a cost of 11,597 per patient. Therefore, discontinuing therapy in patients without EVR at week 12 may improve cost-effectiveness (28).

In a retrospective analysis of clinical trial data, Davis *et al.* suggested that if failure to achieve EVR was used to determine whether treatment should be stopped, a cost savings of 17.8% could be achieved (6). Most of these savings would be realized in patients with G1 HCV because cost reductions of 21.5% could be achieved; whereas stopping treatment among G2/3 infected patients would only reduce drug costs by 0.8%. Davis *et al.* concluded that EVR testing is cost-effective in patients with G1 but not G2/3 infection (6).

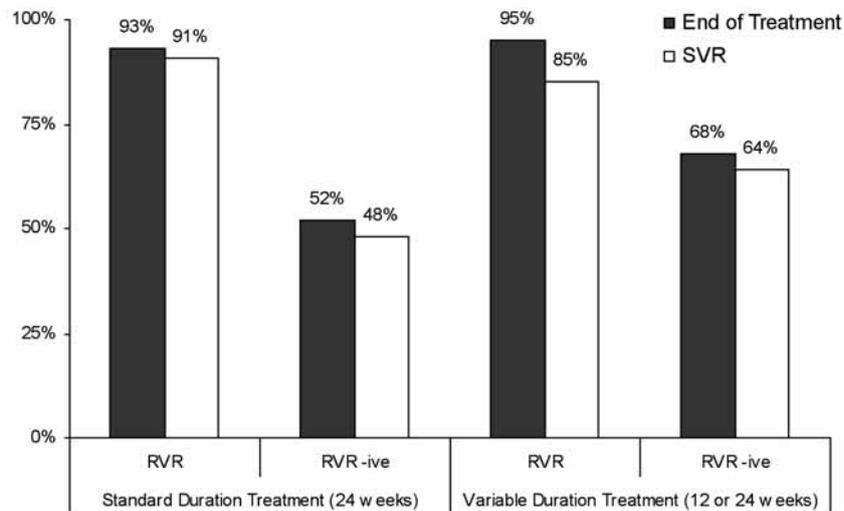
## CONCLUSIONS

The gold standard of treatment for HCV infection is weekly subcutaneous injection of PEG-IFN alfa plus daily oral ribavirin for a minimum of 24 weeks. This long treatment duration is associated with poor tolerability, poor adherence to treatment, and significant healthcare costs. Despite improvements in treatment regimens, several patients who undergo therapy do not achieve SVR. Clinical evidence is compelling that host and viral factors both influence treatment outcome. EVR is a viral factor of key clinical significance in determining the optimal treatment duration and identifying patients who are not likely to achieve SVR. Therefore, EVR can be used as an accurate indicator of treatment outcomes, mitigating unnecessary treatment and costs, whereas RVR is a potentially useful guide to therapy in select subpopulations of HCV-infected patients. Therefore, early viral monitoring should be utilized routinely to assess treatment response and individualize treatment regimens accordingly in chronic hepatitis C patients.

**Figure 1.** Positive and negative predictive values of rapid (week 4) and early (week 12) virological response, according to retrospective analyses of clinical trial data (6, 15, 19). EVR = early virological response; NPV = negative predictive value; PPV = positive predictive value; RVR = rapid virological response.



**Figure 2.** A 12-week treatment duration is effective in patients with hepatitis C virus (HCV) genotype 2 or 3 (G2/3) who achieve rapid virological response (RVR) (undetectable HCV-RNA at week 4) (26). Patients were randomly assigned to standard duration of therapy, in which all patients received PEG-IFN alfa-2b plus ribavirin for 24 weeks, or to variable duration, in which patients who achieved RVR were treated for 12 weeks and those who did not achieve RVR were treated for 24 weeks. Sustained virological response (SVR) rates in patients who achieved RVR were similar in both treatment groups, suggesting that a 12-week treatment period is sufficient in patients with HCV G2/3 who achieve an RVR (26). Values represent percentages of the number of patients evaluated at week 4.





## REFERENCES

1. Dienstag JL, McHutchison JG. American Gastroenterological Association technical review on the management of hepatitis C. *Gastroenterology* 2006;130(1):231-64.
2. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347(13):975-82.
3. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358(9286):958-65.
4. Berg T, von Wagner M, Nasser S, et al. Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006;130(4):1086-97.
5. Napoli N, Giannelli G, Parisi CV, et al. Predictive value of early virological response to treatment with different interferon-based regimens plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *New Microbiol* 2005;28(1):13-21.
6. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, et al. Early virological response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38(3):645-52.
7. von Wagner M, Huber M, Berg T, et al. Peginterferon- $\alpha$ -2a (40KD) and ribavirin for 16 or 24 weeks in patients with genotype 2 or 3 chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005;129(2):522-7.
8. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C: 2002—June 10-12, 2002. *Hepatology* 2002;36(5):S3-20.
9. Chevaliez S, Pawlotsky J-M. Hepatitis C virus serologic and virological tests and clinical diagnosis of HCV-related liver disease. *International Journal of Medical Sciences* 2006;3(2):35-40.
10. Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viraemia. *J Hepatol* 2006;44(1):97-103.
11. Buti M, Sanchez-Avila F, Lurie Y, et al. Viral kinetics in genotype 1 chronic hepatitis C patients during therapy with 2 different doses of peginterferon alfa-2b plus ribavirin. *Hepatology* 2002;35(4):930-6.
12. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon- $\alpha$  therapy. *Science* 1998;282(5386):103-7.
13. Jessner W, Stauber R, Hackl F, et al. Early viral kinetics on treatment with pegylated interferon- $\alpha$ -2a in chronic hepatitis C virus genotype 1 infection. *J Viral Hepat* 2003;10(1):37-42.
14. Ferenci P. Predicting the therapeutic response in patients with chronic hepatitis C: the role of viral kinetic studies. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(1):15-8.
15. Ferenci P, Fried MW, Shiffman ML, et al. Predicting sustained virological responses in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40 KD)/ribavirin. *J Hepatol* 2005;43(3):425-33.
16. Zeuzem S, Herrmann E, Lee JH, et al. Viral kinetics in patients with chronic hepatitis C treated with standard or peginterferon alpha2a. *Gastroenterology* 2001;120(6):1438-47.
17. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Differences in viral dynamics between genotypes 1 and 2 of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 2000;182(1):28-35.



- 18 Zeuzem S, Pawlotsky J-M, Lukasiewicz E, et al. International, multicenter, randomized, controlled study comparing dynamically individualized versus standard treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2005;43(2):250-7.
19. Lee SS, Heathcote EJ, Reddy KR, et al. Prognostic factors and early predictability of sustained viral response with peginterferon alfa-2a (40KD). *J Hepatol* 2002;37(4):500-6.
20. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology* 2006;43(5):954-60.
21. Mihm U, Herrmann E, Sarrazin C, et al. Review article: predicting response in hepatitis C virus therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23(8):1043-54.
22. Craxì A. Early virological response with pegylated interferons. *Digestive and Liver Diseases* 2004;36:S340-S343.
23. Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P, et al. Peginterferon-alfa2a plus ribavirin for 48 versus 72 weeks in patients with detectable hepatitis C virus RNA at week 4 of treatment. *Gastroenterology* 2006;131(2):451-60.
24. Pearlman B, Ehleben C, Saifee S. Improved virological response rates with treatment extension to 72 weeks of peginterferon alfa-2b plus weight-based ribavirin in a difficult-to-treat population of genotype 1-infected slow responders. *Hepatology* 2007;44(4):318A (abstract).
25. Dalgard O, Bjoro K, Hellum KB, et al. Treatment with pegylated interferon and ribavirin in HCV infection with genotype 2 or 3 for 14 weeks: a pilot study. *Hepatology* 2004;40(6):1260-5.
26. Mangia A, Santoro R, Minerva N, et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 2005;352(25):2609-17.
27. D'Souza R, Main J, Crossey M, et al. Discontinuation of pegylated interferon plus ribavirin in patients who are not responding to therapy—patients' views of early cessation of therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21(1):43-7.
28. Buti M, Casado MA, Fosbrook L, et al. Financial impact of two different ways of evaluating early virological response to peginterferon-alpha-2b plus ribavirin therapy in treatment-naive patients with chronic hepatitis C virus genotype 1. *Pharmacoeconomics* 2005;23(10):1043-55.

## IL RITRATTAMENTO DEI PAZIENTI NON RESPONDERS E RELAPERS

*Vito Di Marco*

### Introduzione

Negli ultimi 15 anni numerosi studi clinici hanno documentato l'efficacia della terapia a base di interferoni nell'epatite cronica da virus C (HCV) e la combinazione con la ribavirina ha aumentato il numero di pazienti in cui si ottiene la clearance definitiva del virus C. Dalla terapia con gli interferoni standard dei primi anni '90 alla terapia combinata con interferoni peghilati e ribavirina, considerata oggi "the standard of care" dell'epatite cronica da virus C (HCV), la percentuale di risposta virologica sostenuta (SVR) è passata dal 5-10% al 55-60% circa (1-5). Nonostante i progressi della terapia, un consistente numero di pazienti che non hanno ottenuto una clearance del virus C dopo uno o più cicli di terapia antivirale, chiede di essere rivalutato per un ritrattamento antivirale combinato con peginterferon e ribavirina. La maggior parte di questi pazienti sono infettati con genotipo 1b, hanno una malattia epatica ad alto rischio di progressione in cirrosi e presentano dei cofattori che hanno ridotto l'efficacia dei precedenti trattamenti.

Le linee guida dell'American Association for the Study for Liver Disease (AASLD) (6) raccomandano che un ritrattamento con peginterferon e ribavirina deve essere considerato per i pazienti con fibrosi avanzata o cirrosi che non hanno risposto o hanno avuto una recidiva dopo una monoterapia con alfa-interferon o una terapia combinata con alfa-interferon e ribavirina. In Italia le direttive dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) riportano che la terapia combinata con interferone alfa-2a peghilato o interferone alfa-2b peghilato e ribavirina può essere prescritta ai pazienti precedentemente trattati con risposta solo temporanea e successiva recidiva e ai pazienti senza risposta sostenuta a monoterapia con Interferone con malattia avanzata (presenza di ponti porto-centrali alla biopsia epatica e/o diagnosi clinica di cirrosi epatica) o infezione da genotipo HCV 2 o 3.

### Valutazione dei pazienti da ritrattare.

Nei pazienti già sottoposti ad un trattamento antivirale senza una risposta sostenuta bisogna attentamente valutare:

#### - La risposta al precedente trattamento:

- un paziente viene definito "**non responders**" se durante un precedente ciclo di terapia antivirale non ha mai ottenuto la riduzione della viremia quantitativa di almeno 2 log o la negativizzazione dell'HCV-RNA.
- un paziente viene definito "**relapsers**" se durante un precedente ciclo di terapia antivirale ha ottenuto la negativizzazione dell'HCV-RNA e dopo la fine della terapia è stata documentata una ripositivizzazione dell'HCV-RNA sierico.

#### - La schedula terapeutica utilizzata nei precedenti trattamento:

- La monoterapia con alfa-interferon o con peg-interferon aveva una bassa efficacia specialmente nei pazienti con fibrosi avanza o cirrosi infettati con genotipo 1b e pertanto un secondo ciclo di terapia combinata in questo gruppo di pazienti, in assenza di controindicazioni, è raccomandata.

- La terapia combinata con alfa-interferon e ribavirina, spesso somministrata con bassi dosaggi di interferon e dosaggi non adeguati di ribavirina, determinava una risposta sostenuta nel 30-40% dei casi. La maggior parte dei pazienti che ha ottenuto una guarigione con questo schema di terapia non aveva una fibrosi avanzata o una cirrosi ed era infettata con “genotipi facili”. I pazienti infettati con genotipo 2 o 3 devono essere reconsiderati per il ritrattamento con peg-interferon e ribavirina, mentre i benefici per i pazienti con genotipo 1b sono minori.
- **L'aderenza ai precedenti cicli di terapia .**
  - Spesso gli effetti collaterali soggettivi o ematologici costringono a ridurre le dosi della terapia antivirale o a sospenderla prima dei tempi previsti. Una corretta valutazione delle dosi dei farmaci praticati nei precedenti cicli e del tempo di terapia con la relativa documentazione della risposta virologica possono aiutare nella scelta del ritrattamento. Anche un'attenta anamnesi degli effetti collaterali provocati dai precedenti cicli di terapia può aiutare nella scelta del ritrattamento o a pianificare interventi specifici e preventivi per evitare gli stessi disturbi (per esempio la terapia con farmaci antidepressivi, la terapia per le tiroiditi da interferon, la terapia con eritropoietina o con i fattori di crescita dei neutrofili nei pazienti con anemia o con grave neutropenia).
- **Il genotipo virale.**
  - E' stato ampiamente documentato che il genotipo 2 e in parte il genotipo 3 hanno un'alta sensibilità alla terapia antivirale combinata con peginterferon e ribavirina, mentre nei pazienti con il genotipo 1b si ottengono risultati meno soddisfacenti. I pazienti con genotipo 2 o 3 che hanno praticato una monoterapia con alfa-interferon o una terapia combinata con alfa-interferon e ribavirina hanno un'alta probabilità di risposta se trattati con peginterferon e ribavirina a dosi adeguate. Non è ancora stato dimostrato se in questo gruppo di pazienti un trattamento breve di 24 settimane o meno ha la stessa efficacia di un trattamento prolungato per 48 settimane.
- **Lo stadio della malattia**
  - La stadiazione della malattia epatica è un altro importante elemento da definire prima di indicare un ritrattamento. I pazienti non responders con fibrosi avanzata o cirrosi e con genotipo 1b hanno una più bassa probabilità di risposta al ritrattamento. Bisogna valutare l'opportunità di eseguire una biopsia epatica prima del ritrattamento o in alternativa valutare lo stadio della fibrosi mediante tecniche non invasive come il FibroScan o il Fibrotest .
- **I cofattori che influenzano la risposta alla terapia.**
  - Il consumo di alcool, l'obesità, la steatosi epatica, l'eccesso di ferro nel tessuto epatico, l'insulino-resistenza possono interferire con la risposta virologica. La correzione di alcuni co-fattori può aumentare l'efficacia del ritrattamento nei pazienti non-responders o relapsers a precedenti cicli di terapia antivirale.

## Efficacia dei ritrattamenti

### - Pazienti già trattati con monoterapia

L'analisi dell'efficacia del ritrattamento combinato con alfa-interferon e ribavirina nei pazienti non responders alla monoterapia con alfa-interferon è riportata in due metanalisi pubblicate nel 2001.

Entrambi le metanalisi riportano una percentuale di SVR del 15% circa. L'analisi dei fattori clinici, virologici e terapeutici evidenziava che l'infezione con genotipo 2 o 3, il ritrattamento per 48 settimane e la somministrazione di dosi di ribavirina superiori ad 1 gr/die si associavano ad una più alta probabilità di risposta sostenuta. Inoltre, nei relapsers dopo monoterapia la probabilità di SVR era superiore a 50% contro il 15% circa dei non responders. Tre studi pubblicati (9-11) successivamente riportano che nei pazienti non responders a precedenti cicli di terapia la somministrazione giornaliera di alfa-interferon associato alla ribavirina incrementava la percentuale di SVR fino al 25-30%.

#### - **Pazienti già trattati con alfa-interferon e ribavirina**

Negli ultimi anni '90 molti pazienti sono stati trattati con alfa-interferon e ribavirina. Con questo schema terapeutico (1,2) circa il 40% dei pazienti otteneva una risposta virologica sostenuta, ma il restante 60% mostrava una recidiva dopo la fine del trattamento o non aveva una risposta virologica. L'efficacia del ritrattamento con peginterferon e ribavirina dei non responders e dei relapsers alla terapia con alfa-interferon e ribavirina è stata studiata in alcuni studi pubblicati negli ultimi 2 anni. Lo studio numericamente più consistente, il "the Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis, (HALT-C) Trial"(11), riporta i dati di 604 pazienti non responders a precedenti trattamenti con alfa-interferon associato o no a ribavirina. Tutti i pazienti avevano una epatite cronica con bridging fibrosis o cirrosi (Ishak fibrosis stage 3-6) ed erano ritrattati con peginterferon alfa-2a 180 microgrammi/settimana e ribavirina alla dose di 1000-1200 mg/die. Il 44% dei 219 pazienti che erano stati trattati con solo interferon e il 25% dei 385 pazienti che erano stati già trattati con alfa-interferon e ribavirina ottenevano la negativizzazione dell'HCV-RNA alla 20a settimana di trattamento e continuavano la terapia fino alla 48a settimana. Dopo sei mesi dalla fine del trattamento il 28% del primo gruppo, ma solo il 12% del secondo gruppo ottenevano una SVR. Tre studi (12-14) pubblicati negli ultimi due anni riportano una risposta alla fine del ritrattamento con peg-interferon tra il 30% e il 56%, ma la SVR varia tra l'8% e il 21%. Anche il questo gruppo di pazienti l'assenza di cirrosi, la giovane età, l'infezione con i genotipi 2 e 3, la bassa viremia all'inizio del trattamento, la risposta virologica precoce e l'aderenza alla terapia sono i migliori predittori di una risposta virologica sostenuta (11-16). Nei pazienti con relapse dopo un trattamento con alfa-interferon e ribavirina un ritrattamento con peg-interferon e ribavirina è più efficace. Infatti oltre il 70% dei pazienti ritrattati hanno una risposta virologica alla fine del trattamento di 48 settimane e circa il 40% ottengono una risposta virologica sostenuta (12,14).

#### - **Pazienti già trattati con peg-interferon e ribavirina**

Il trattamento con peg-interferon e ribavirina determina una risposta virologica in circa il 70% dei pazienti e una SVR nel 50-60%, quindi il 10% circa ha una recidiva dopo la fine del trattamento e il 30% circa non ottiene una risposta durante il trattamento. Il ritrattamento di questi pazienti è più problematico. Le linee guida dell'AASLD sottolineano che non ci sono dati che dimostrano un beneficio del ritrattamento dei non responders alla terapia combinata con peg-interferon e ribavirina anche utilizzando un peg-interferon diverso da quello utilizzato nel primo ciclo (6). Se l'obiettivo primario di eradicare l'infezione virale non è stato raggiunto è possibile ipotizzare una terapia a lungo termine con l'obiettivo di ridurre il rischio di progressione verso la cirrosi o di scompenso della malattia nei pazienti con cirro-

si. Attualmente sono in corso due studi randomizzati (HALT-C ed EPIC3) che prevedono un trattamento a lungo termine nei pazienti con fibrosi severa o cirrosi con l'obiettivo di valutare gli eventi clinici nei pazienti in trattamento e nei controlli. I dati sull'efficacia a lungo termine del trattamento con peg-interferon non sono ancora disponibili e ad oggi non c'è nessuna evidenza convincente che suggerisce o giustifica un trattamento a lungo termine dei pazienti non responders. Infine, sono in corso alcuni studi di fase 2 in cui i pazienti non responders ad un primo trattamento combinato sono stati ritrattati con una terapia combinata che prevedeva la somministrazione di peg-interferon, ribavirina e farmaci inibitori delle proteasi o delle polimerasi del virus C e i risultati saranno disponibili nei prossimi mesi.

### Conclusioni

I dati della letteratura suggeriscono che:

- l'obiettivo principale di un ritrattamento è l'eradicazione dell'infezione;
- prima di iniziare un ritrattamento dei non responders o dei relapsers è opportuno analizzare attentamente le caratteristiche del paziente, del virus e i dati disponibili sui precedenti cicli di terapia per valutare le probabilità di ottenere una risposta virologica sostenuta;
- è consigliabile il ritrattamento con peg-interferon e ribavirina dei relapsers dopo precedenti trattamenti con monoterapia e con alfa-interferon e ribavirina e che in questo gruppo di pazienti la probabilità di SVR è superiore al 50%;
- i non responders a precedenti trattamenti con genotipo 2 o 3 hanno un'alta probabilità di risposta se trattati con peg-interferon e ribavirina;
- i non responders con genotipo 1b se ritrattati con peg-interferon e ribavirina hanno una probabilità di SVR del 10-20%. La probabilità di SVR aumenta fino al 30% nei pazienti non responders alla monoterapia con alfa-interferon;
- nei pazienti non responders con genotipo 1b è opportuno correggere i cofattori che riducono la sensibilità alla terapia antivirale prima di iniziare un ritrattamento;
- non sono ancora disponibili dati soliti per consigliare un trattamento prolungato in assenza di risposta virologica.



## REFERENCES

1. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, Niederau C, Minuk GS, Ido G, Bain V, Heathcote J, Zeuzem S, Trepo C, Albrecht J. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998;352:1426–1432.
2. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goodman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998;339:1485–1492.
3. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, Goodman ZD, Koury K, Ling M, Albrecht JK. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958–965.
4. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncalves FL Jr, Haussinger D, Diago M, Carosi G, Dhumeaux D, Craxi A, Lin A, Hoffman J, Yu J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975–982.
5. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadori G, Bodenheimer H Jr, Bernstein D, Rizzetto M, Zeuzem S, Pockros PJ, Lin A, Ackrill AM; PEGASYS International Study Group. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140:346–355.
6. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff L. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C (AASLD practice guideline) *Hepatology* 2004;39: 1147-1171.
7. Cheng SJ, Bonis PA, Lau J, Pham NQ, Wong JB. Interferon and ribavirin for patients with chronic hepatitis C who did not respond to previous interferon therapy: a meta-analysis of controlled and uncontrolled trials. *Hepatology*. 2001;33:231-40.
8. Cummings KJ, Lee SM, West ES, Cid-Ruzafa J, Fein SG, Aoki Y, Sulkowski MS, Goodman SN. Interferon and ribavirin vs interferon alone in the re-treatment of chronic hepatitis C previously nonresponsive to interferon: A meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2001;285:193-9.
9. Fattovich G, Zagni I, Ribero ML, Castagnetti E, Minola E, Lomonaco L, Scattolini C, Fabris P, Boccia S, Giusti M, Abbati G, Felder M, Rovere P, Redaelli A, Tonon A, Tomba A, Montanari R, Paternoster C, Distasi M, Fornaciari G, Tositti G, Rizzo C, Suppressa S, Pantalena M, Noventa F, Tagger A. A randomized trial of prolonged high dose of interferon plus ribavirin for hepatitis C patients nonresponders to interferon alone. *J Viral Hepat*. 2004;11:543-51.
10. Tassopoulos NC, Tsantoulas D, Raptopoulou M, Vassiliadis T, Kanatakis S, Paraskevas E, Vafiadis I, Avgerinos A, Tzathas C, Manolakopoulos S, Ketikoglou I, Aggelis P, Goritsas K, Giannoulis G, Hatzis G G, Thomopoulos K, Akriviadis E, Sypsa V, Hatzakis A. A randomized trial to assess the efficacy of interferon alpha in combination with ribavirin in the treatment of interferon alpha nonresponders with chronic hepatitis C: superior efficacy of high daily dosage of interferon alpha in genotype 1. *J Viral Hepat*. 2003;10:189-96.
11. Shiffman ML, Di Bisceglie AM, Lindsay KL, Morishima C, Wright EC, Everson GT, Lok AS, Morgan TR, Bonkovsky HL, Lee WM, Dienstag JL, Ghany MG, Goodman ZD, Everhart JE; Hepatitis C Antiviral Long-Term Treatment Against Cirrhosis Trial Group. Peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology* 2004;126:1015-23.
12. Jacobson IM, Gonzalez SA, Ahmed F, Lebovics E, Min AD, Bodenheimer HC Jr, Esposito SP, Brown RS Jr, Brau N, Klion FM, Tobias H, Bini EJ, Brodsky N, Cerulli MA, Aytaman A, Gardner PW, Geders JM, Spivack JE, Rahmin MG, Berman DH, Ehrlich J, Russo MW, Chait M, Rovner D, Edlin BR. A randomized trial of pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin in the retreatment of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 2005;100:2453-62.
13. Taliani G, Gemignani G, Ferrari C, Aceti A, Bartolozzi D, Blanc PL, Capanni M, Esperti F, Forte P, Guadagnino V, Mari T, Marino N, Milani S, Pasquazzi C, Rosina F, Tacconi D, Toti M, Zignego AL, Messerini L, Stroffolini T. Nonresponder Retreatment Group. Pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin in the retreatment of interferon-ribavirin nonresponder patients. *Gastroenterology*. 2006;130:1098-106.
14. Sherman M, Yoshida EM, Deschenes M, Krajden M, Bain VG, Peltekian K, Anderson F, Kaita K, Simonyi S, Balshaw R, Lee SS; Canadian Pegasys Study Group. Peginterferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin in chronic hepatitis C patients who failed previous interferon therapy. *Gut*. 2006;55:1631-8.



15. Everson GT, Hoefs JC, Seeff LB, Bonkovsky HL, Naishadham D, Shiffman ML, Kahn JA, Lok AS, Di Bisceglie AM, Lee WM, Dienstag JL, Ghany MG, Morishima C; HALT-C Trial Group. Impact of disease severity on outcome of antiviral therapy for chronic hepatitis C: Lessons from the HALT-C trial. *Hepatology* 2006;44:1675-84.
16. Shiffman ML, Ghany MG, Morgan TR, Wright EC, Everson GT, Lindsay KL, Lok AS, Bonkovsky HL, Di Bisceglie AM, Lee WM, Dienstag JL, Gretch DR; HALT-C Trial Group. Impact of reducing peginterferon alfa-2a and ribavirin dose during retreatment in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2007;132:103-12.

## IL TRATTAMENTO DEI PAZIENTI CON CIRROSI HCV-CORRELATA: SCHEDULE OTTIMALI ED IMPATTO DELLA TERAPIA SULLA STORIA NATURALE

*Savino Bruno*

*Direttore della Struttura Complessa di Medicina Interna ed Epatologia,  
Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico di Milano*

La infezione da HCV è un problema di enormi dimensioni che coinvolge tutte le aree geografiche del pianeta. Quando nel percorso cronico della malattia lo stadio di cirrosi è stato raggiunto, le complicanze ad essa correlata, incluso l'epatocarcinoma (HCC), rappresentano la prima causa di trapianto di fegato e la quinta causa di morte complessiva nel mondo occidentale.

Nonostante la storia naturale della malattia sia ancora non del tutto conosciuta, la disponibilità di effettuare credibili studi osservazionali ha consentito di ottenere affidabili informazioni in merito alla incidenza di complicanze, sviluppo di HCC e probabilità di sopravvivenza soprattutto nei soggetti con cirrosi in ottimo compenso clinico (classe funzionale di Child A). Il primo studio credibile in questo capitolo è stato prodotto da Fattovich e collaboratori nel 1997 in uno lavoro retrospettivo condotto su 384 pazienti europei (1) (Figura 1) mentre, successivamente, Benvegnù e coll. hanno riportato sia l'incidenza che la gerarchia delle complicanze in 254 pazienti con cirrosi HCV correlata consecutivamente arruolati tra il 1986 e il 1998 seguiti per un periodo medio di follow-up di 95 mesi (2) (Figura 2).

Ma, mentre gli studi osservazionali, se ben condotti, sono molto affidabili e universalmente accettati come strumento utile per valutare fattori di rischio, diagnosi e prognosi di una patologia, essi sono estremamente imprecisi e scarsamente attendibili quando vengono utilizzati per analizzare l'efficacia di una terapia (3).

Ciò è imputabile principalmente alla mancata randomizzazione dei pazienti (utile per controllare le variabili confondenti misurabili e non misurabili) e alla presenza di bias nella misurazione dell'effetto del trattamento (3).

Con questi importanti limiti, negli ultimi anni, alcuni studi hanno suggerito che, in questa popolazione di pazienti, il trattamento con IFN, indipendentemente dalla risposta virologica, possa associarsi ad un aumento della sopravvivenza e ad una riduzione del tasso di incidenza di HCC. (4-6). Tuttavia, questi studi, principalmente retrospettivi, sono stati prevalentemente condotti su casistiche orientali, generalmente giapponesi. Inoltre, essi presentano numerose e severe debolezze metodologiche: a) gli studi erano originariamente stati disegnati allo scopo di valutare il tasso di risposta biochimica o virologica con IFN, b) il numero di pazienti con cirrosi completa, principale fattore di rischio associato alla comparsa di HCC ed alla mortalità era esiguo (4,5), c) i risultati ottenuti erano infine pesantemente condizionati da fattori confondenti non correggibili quali l'età (più giovane) e lo stadio di malattia (meno severa) dei pazienti trattati rispetto al gruppo di controllo non trattato. Infine, d) la durata del follow-up era molto corta, insufficiente, peraltro, ad osservare un numero di eventi necessario per ottenere risultati affidabili (4-6). Se analizzati correttamente, i risultati di questi lavori hanno chiaramente dimostrato che, se esiste un vantaggio a favore dei pazienti trattati con IFN, esso è limitato alla sottopopolazione di soggetti, che all'interno di questo gruppo, ha ottenuto la risposta virologica completa (sustained virological response, SVR)

(4-6). A questa conclusione sono pervenute anche le due meta-analisi che hanno analizzato, con questa metodica tutti gli studi disponibili in letteratura (7-8).

Nel tentativo di confermare questa ipotesi e di quantificare in modo solido il vantaggio ottenibile nei pazienti che hanno ottenuto la SVR dopo terapia con IFN è stato pertanto condotto uno studio Italiano in ambito AISF (9). Il lavoro, che ha scrupolosamente rispettato le raccomandazioni suggerite in merito alla appropriatezza da utilizzare nella conduzione degli studi osservazionali (tabella 1) (3) ha dimostrato che la acquisizione della SVR dopo terapia con IFN si associa sia ad una significativa riduzione della incidenza di HCC (HR, CI 95%= **2.59** (1.13-5.97) e delle complicanze correlate alla progressione della ipertensione portale che ad un aumento della sopravvivenza (HR, CI 95%= **6.07** (1.78-28.4), confortando il presupposto che il trattamento antivirale, se mirato alla eradicazione del virus, deve essere ragionevolmente utilizzato anche nei pazienti con cirrosi completa.

In questa popolazione di pazienti, rimane tuttavia difficile quantificare il rischio/beneficio della terapia in quanto il trattamento è scarsamente tollerato, gravato da severi effetti collaterali e da alto costo. Ma soprattutto, va sottolineato, che il tasso di SVR ottenibile, (dato ricavabile dagli studi condotti con le vecchie schedule di terapia basate sull'utilizzo del IFN ricombinante con o senza associazione della ribavirina (RBV), è largamente insoddisfacente (10).

In questo contesto va purtroppo segnalato che, ad oggi, non sono stati prodotti studi con le nuove terapie di combinazione (peghilati), dai quali si possano ricavare dati di efficacia e tollerabilità nei pazienti con queste caratteristiche.

La spiegazione risiede nel fatto che negli studi registrativi condotti dalla due multinazionali coinvolte dove veniva impiegata la terapia di combinazione con RBV (11-12) le analisi sono state effettuate cumulando i pazienti con differente stadio di fibrosi istologica. L'errore più grave è stato quello di riportare i tassi di SVR accorpando i pazienti con cirrosi completa (< del 6% della popolazione totale arruolata) insieme a quelli con fibrosi avanzata, utilizzando, tra l'altro, differenti tipi di score da studio a studio per classificarli (Tabella 2) e senza riferire il braccio di trattamento in cui questi soggetti erano allocati. Questo ha reso impossibile la benché minima comparazione tra i pazienti inseriti nei due megatrials, impedendo inoltre di ottenere informazioni sul tipo di schedula in grado di ottenere la prestazione migliore.

Tabella 2

Score system	Staging	Staging	Staging	Staging
	<b><u>3</u></b>	<b><u>4</u></b>	<b><u>5</u></b>	<b><u>6</u></b>
<i>KNODELL</i>	Fibrosi a ponte	<b>Cirrosi</b>	-	-
<i>ISHAK</i>			Fibrosi a ponte	<b>Cirrosi</b>
<i>METAVIR</i>	Presenza di setti senza fibrosi	<b>Cirrosi</b>	-	-

L'unico studio dedicato esclusivamente a pazienti cirrotici (13) risale al 2000 ed è stato ottenuto in pazienti trattati con PEG-IFN alfa-2a in monoterapia. In questo lavoro sono stati studiati 215 pazienti, (55% di genotipo 1). Il rate di SVR riportato era del 32% ma solo del 13% nei pazienti con genotipo 1. Altrettanto poco incoraggianti sono i risultati ottenuti in uno studio (SVR= 18%, in soggetti con staging F5/6 di ISHAK) condotto esclusivamente su pazienti infettati con genotipo 1 trattati con PEG-IFN alfa-2b + RBV 1000-1200mg. (14). Gli altri dati disponibili provengono esclusivamente da comunicazioni a convegni pubblicati per ora solo in forma di abstract o da analisi cosiddette "post-hoc". Il 44% di SVR, (34% nel genotipo 1, 58% nei non-1) è stato ottenuto in 174 pazienti trattati con PEG-IFN alfa-2a + RBV 800 mg (staging F3, F4 cumulativi) (15) mentre Gordon e collaboratori (16) in una popolazione composta unicamente da pazienti con cirrosi (Child A) e presenza di ipertensione portale trattati con PEG-IFN alfa-2a + RBV hanno ottenuto una SVR del 21 % (non disponibile la analisi del sottogruppo con genotipo 1).

Nello sforzo di fornire una risposta minimamente più accurata Shiffman e collaboratori (17) hanno recentemente rivalutato istologicamente le biopsie "baseline" dei pazienti dei due studi multinazionali che hanno utilizzato il PEG-IFN alfa-2a + RBV (12, 18) ricavando un tasso cumulativo di SVR del 33% nei pazienti che erano stati ri-classificati come cirrotici.

Un cenno a parte meritano infine risultati ottenuti nei pazienti con cirrosi precedentemente non responsivi a monoterapia e/o combinazione inseriti nei così-detti "maintenance" trials (HALT-C), (EPIC-3). In questo contesto Everson e coll. (HALT-C) hanno recentemente ottenuto, nei pazienti con fibrosi F5/F6, una SVR non superiore al 10% dopo ritrattamento con Peg-alpha 2a + RBV (19).

In conclusione, i pazienti con cirrosi epatica HCV correlata, soprattutto se in buon compenso funzionale (Child A), dovrebbero essere considerati per il trattamento antivirale in quanto l'eradicazione del virus si associa ad una riduzione delle complicanze e ad una aumentata sopravvivenza. Tuttavia, all'interno di questo gruppo di pazienti, numerosi quesiti rimangono senza soluzione: non si conosce il tasso SVR ipotizzabile, nè sono noti i predittori indipendenti di SVR (carica virale, risposta virologica rapida, ecc.). Non sono, infine, disponibili dati in merito alla tollerabilità e alla incidenza di effetti collaterali. Con l'obiettivo di ottenere più accurate informazioni Bruno e coll. (20) hanno effettuato una analisi post-hoc sulla coorte di soggetti rigorosamente classificati come affetti da cirrosi completa (F4, N= 90) inclusi nello studio di Hadziyiannis (18). Questa analisi ha permesso di ottenere un dato credibile sul tasso di SVR (35.6%) cumulativo, 27.7% nei genotipi 1) e di identificare come importante fattore prognostico associato alla SVR il valore di albumina pre-trattamento ( $\geq 4$  gr/dl) che, se confermato, permetterà di selezionare con più accuratezza il sottogruppo di pazienti con più probabilità di ottenere la SVR. Inoltre, sono state ottenute affidabili informazioni rispetto agli effetti collaterali in questo gruppo di "difficult to treat" pazienti. Tuttavia, stante l'esiguo numero di pazienti disponibili, si è reso necessario cumulare gli stessi indipendentemente dal braccio di terapia e quindi nessuna informazione è stata ricavata in merito alla migliore schedula di trattamento. A tale scopo è quindi cruciale ed urgente, che vengano disegnati studi dedicati a questa popolazione di pazienti.



## BIBLIOGRAFIA

1. Fattovich G, et al., *Gastroenterology* 1997; 12: 463-72.
2. Benvegnù L, et al., *Gut* 2004; 53: 744-9.
3. Sorensen HT, et al., *Hepatology* 2006; 44: 1075-82.
4. Yoshida H, et al., *Ann Intern Med* 1999; 131: 174-81.
5. Imazeki F, et al., *Hepatology* 2003; 38: 493-502.
6. Shiratori Y, et al., *Ann Intern Med* 2005; 142: 105-14.
7. Camma C, et al., *J Hepatol* 1997; 26: 1187-95.
8. Papatheodoridis A, et al., *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 689-98.
9. Bruno S, et al., *Hepatology* 2007, in press.
10. Wright TL. *Hepatology* 2002; 36: S185-S194.
11. Manns MP, et al., *Lancet* 2001; 358: 958-65.
12. Fried MW, et al., *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82.
13. Heathcote EJ, et al., *N Engl J Med* 2000; 343:1673-1680.
14. Bruno S, et al., *J Hepatol* 2004; 41: 474-81.
15. Lee SS, et al., *EASL 2005 (abstract)*.
16. Gordon A, et al., *EASL 2005 (abstract)*.
17. Shiffman ML, et al., *DDW 2005 (abstract)*.
18. Hadziyannis SJ, et al., *Ann Intern Med* 2004; 140: 346-57.
19. Everson G, et al., *Hepatology* 2006; 44: 1675-84.
20. Bruno S, et al., *AASLD 2006 (abstract)*.

Figura 1: Probabilità cumulativa di sviluppo di epatocarcinoma (HCC), scompenso e mortalità legata a complicanze epatiche in 384 pazienti con cirrosi epatica HCV-correlata compensata. (Fattovich et al., Gastroenterology 1997).

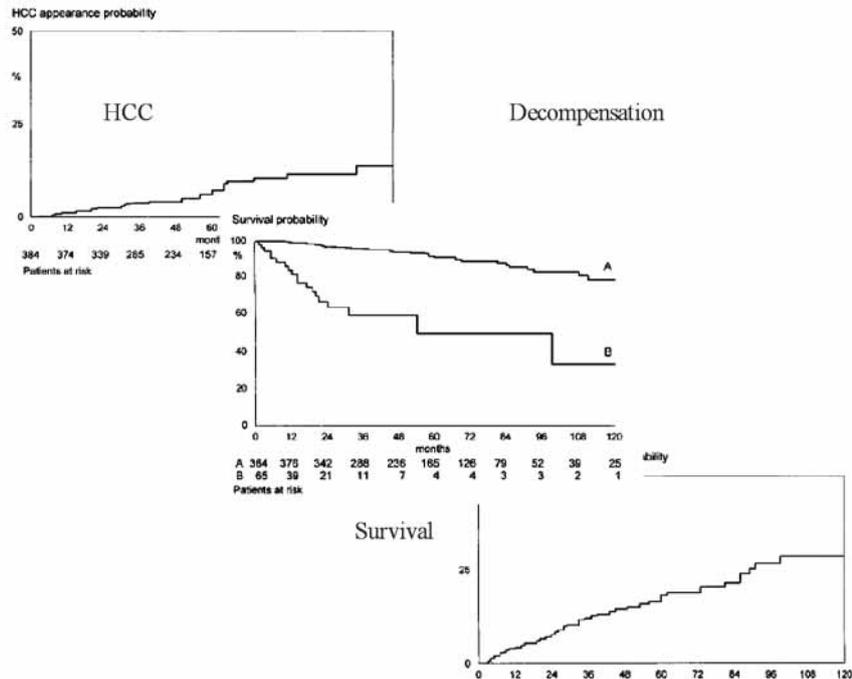


Figura 2: Incidenza e gerarchia della complicanze nel lungo termine in 254 pazienti con cirrosi epatica HCV-correlata. (Benvegnù et al., Gut 2004).

**Follow-up medio: 95.4 ± 37.4 mesi**

At least one complication	78 (30.7%)
HCC	52 (20.5%)
Ascites	45 (17.7%)
Variceal bleeding	12 (4.7%)
Encephalopathy	5 (1.9%)
Liver-related death	42 (16.3%)



Tabella 1: Fattori da considerare nella pianificazione ed interpretazione dei risultati degli studi osservazionali (Sorensen et al., Hepatology 2006).

## Beyond randomized controlled trials: a critical comparison of trials with non randomized studies

### **Factors to consider when planning or interpreting the results of observational studies**

1. Does the database fit the research question ?
2. Does the study population fit to the research hypothesis and clinical decision making ?
3. Is the size of the study population adequate to answer the research question ?
4. Does the study design fit to the research and clinical question ?
5. Is the exposure determined accurately ?
6. Is the outcome measured accurately and is it relevant for clinical practice ?
7. Are confounding factors measured accurately to make it possible to control for confounding ?
8. Are the patients followed for a long enough time period to let the outcome occur? Length should correspond with the study hypothesis ? Is there any loss to follow-up?
9. Are the statistical methods and their assumption suitable for the research question ?



## LA TERAPIA DEL PAZIENTE CON ALT NORMALI

*Claudio Puoti*

*Direttore della Struttura Complessa di Medicina Interna,  
Ospedale di Marino (RM)*

Si calcola che oltre un paziente su tre con infezione cronica da virus della epatite C (HCV) presenta livelli normali di transaminasi. Sebbene inizialmente considerati come soggetti sani o addirittura guariti, è stato successivamente accertato che il 70-80% di essi è viremico, e che solo in una esigua percentuale di casi è rilevabile normalità istologica alla biopsia epatica. Infatti, i veri “portatori sani” (soggetti anti-HCV positivi/HCV RNA positivi senza alcun danno epatico alla biopsia) sono meno del 20%.

Nella maggior parte dei casi esiste un danno epatico, anche se in genere lieve: la fibrosi è usualmente modesta, e globalmente la storia naturale della malattia epatica in pazienti con ALT persistentemente normali è significativamente meno severa rispetto ai pazienti con ALT elevate o fluttuanti. E' tuttavia ben nota la presenza di danno epatico più severo in almeno il 20% dei casi e di cirrosi epatica nel 3-5% dei pazienti, e sono stati segnalati casi di epatocarcinoma, anche in pazienti con fegato istologicamente normale. La evoluzione della fibrosi è più accentuata nei maschi, nei pazienti più anziani, in caso di cofattori (alcol, HBV, steatosi epatica, ecc), in presenza di fibrosi basale di grado avanzato ( $> F2$ ), e in caso di improvvisi flares di transaminasi, più frequenti nei pazienti con infezione da genotipo 2. .

La iniziale “percezione” di questi soggetti come “*infetti ma non malati*” ha portato a lungo a ritenere inutile e forse addirittura dannosa la terapia antivirale. Solo in tempi recenti è stato chiarito che nella maggior parte dei casi è presente un danno epatico (in genere modesto, ma che in diversi casi può essere anche di entità più severa e potenzialmente evolutivo) e che in questo sottogruppo di soggetti la risposta al trattamento antivirale non è diversa rispetto ai pazienti con ALT elevate.

Di conseguenza, la opportunità di trattare con interferone (IFN) più ribavirina i portatori di HCV con transaminasi normali è rimasta in forse sino a tempi recentissimi. Infatti, i primi studi basati sul trattamento con interferone standard in monoterapia (cioè senza la ribavirina) evidenziavano una risposta virologica (negativizzazione dell' HCV RNA) molto modesta (inferiore al 10-15 %) ed un rischio di incremento improvviso e non sempre transitorio delle transaminasi in circa il 50% dei pazienti trattati. In base a tali sconcertanti risultati, le principali Conferenze Internazionali di Consenso (NIH 1997, EASL 1999) avevano sconsigliato il trattamento antivirale di routine dei portatori di HCV.

Negli ultimi anni tuttavia la terapia della epatite cronica C ha subito notevoli progressi, evolvendo dalla monoterapia con IFN standard alla terapia combinata con interferone più ribavirina, somministrata per via orale, sino alla più recente terapia con interferone peghilato, sempre in associazione con ribavirina. I dati di un recente studio internazionale (Zeuzem et al, Gastroenterology 2004) hanno indicato delle valide risposte virologiche sostenute anche nei portatori a transaminasi normali (negativizzazione del virus nel 72% dei pazienti con genotipo 2 trattati per sei mesi e del 40% di quelli con genotipo 1 trattati per 48 settimane). Solo una minoranza di pazienti ha presentato durante il trattamento incremento delle

transaminasi, comunque sempre di limitata entità e reversibile in tutti i casi con la prosecuzione della terapia. E' interessante notare che nei pazienti con risposta virologica sostenuta si è assistito ad una significativa riduzione dei livelli di ALT rispetto ai valori pre-trattamento, peraltro già nella norma.

Alla luce della efficacia dei nuovi trattamenti, si deve ritenere che la terapia dei portatori di HCV con transaminasi nella norma non deve essere esclusa a priori, e che altri fattori che non le sole transaminasi dovrebbero influenzare il trattamento, come l'età e la motivazione del paziente, la eventuale severità delle lesioni istologiche, il genotipo dell' HCV, gli eventuali sintomi, ecc.

Nel suo recente Documento in materia la Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (A.I.S.F.), ha sostenuto che anche i portatori con transaminasi normali dovrebbero a certe condizioni essere candidati alla terapia, in particolare i soggetti giovani, con genotipo favorevole e con malattia epatica istologica più "impegnativa". In caso di soggetti meno giovani, considerando la lentezza della evoluzione della malattia ed i possibili effetti collaterali della terapia antivirale, il trattamento andrebbe consigliato solo in casi particolari.

Con determinazione AIFA dell' 8 marzo 2006, pubblicata sulla G.U. n. 58 del 10 marzo 2006, la nota 32 relativa all'impiego dell'interferone nei pazienti con epatite cronica da HCV è stata modificata, per cui attualmente è consentito il trattamento con Interferone Peghilato alfa-2a più ribavirina nei pazienti con epatite cronica da HCV, indipendentemente dal livello di transaminasi. Rimane invece l'obbligo della presenza di ipertransaminasemia per l' uso dell' interferone peghilato alfa-2b.

Tuttavia, la attuale possibilità di trattare anche al di fuori dei trials i pazienti con ALT normali sta però forse creando più dubbi che certezze, soprattutto per quanto riguarda l'inquadramento clinico di questi soggetti, i tempi e le modalità del follow-up, la opportunità o meno di effettuare la biopsia epatica, la identificazione dei candidati al trattamento, le norme di vita da raccomandare.

A grandi linee si possono proporre tre diversi approcci di trattamento e di biopsia per il portatore di HCV con transaminasi costantemente normali:

- 1) soggetti giovani (meno di 40-45 anni) con genotipo favorevole (2 o 3), carica virale bassa (meno di 850.000 unità), senza controindicazioni, fortemente motivati: la probabilità di risposta è altissima, per cui si potrebbe effettuare il trattamento anche senza preliminare biopsia epatica, che potrebbe essere praticata solo in caso di non risposta.
- 2) Soggetti di età superiore a 45 anni, ovvero tutti i casi con ridotte possibilità di risposta a prescindere dalla età (ad esempio, pazienti giovani ma con genotipo "difficile" e/o alta carica virale; statosi; coinfezione HBV; obesità; controindicazioni relative; scarsa motivazione, ecc) : è opportuno effettuare la biopsia PRIMA di decidere se trattare, ed evitare la terapia in caso di danno epatico modesto (= fibrosi lieve, che si rileva nella maggioranza dei pazienti) perché i rischi del trattamento sono superiori ai vantaggi (probabilità di risposta virologica molto bassa). Questi soggetti andranno seguiti periodicamente, andranno trattati i cofattori, se presenti (obesità, diabete), dovranno evitare gli alcolici, e saran-



no trattati solo se si noteranno incrementi di transaminasi. La terapia andrà riservata quindi ai pazienti di questa categoria con fibrosi più severa (da F2 in su).

- 3) Soggetti oltre i 65 anni, con transaminasi molto basse (meno della metà dei valori massimi normali) con lunga durata di malattia senza incrementi di ALT e senza altre alterazioni biochimiche o ecografiche: non trattare né biopsiare.

#### RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- 1) Puoti C, HCV carriers with persistently normal aminotransferase levels: normal does not always mean healthy. *J Hepatol.* 2003; 38: 529-32.
- 2) Alberti A, Morsica G, Chemello L, et al. Hepatitis C viraemia and liver disease in symptom-free individuals with anti-HCV. *Lancet* 1992; 340: 697-698.
- 3) Puoti C, Magrini A, Stati T, et al. Clinical, histological, and virological features of hepatitis C virus carriers with persistently normal or abnormal alanine transaminase levels. *Hepatology* 1997; 26 [6]:1393-1398.
- 4) EASL International Consensus Conference on Hepatitis C: Consensus Statement. *Journal of Hepatology* 1999; 30:956-961.
- 5) National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel Statement: Management of Hepatitis C. *Hepatology* 1997; 26 [suppl.]:133S-136S.
- 6) Puoti C, Castellacci R, Montagnese F, et al. Histological and virological features and follow up of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: the Italian prospective study of the asymptomatic C carriers [ISACC]. *J Hepatol* 2002; 37[1]:117-123.
- 7) Pradat P, Alberti A, Poynard T, et al. Predictive value of ALT levels for histologic findings in chronic hepatitis C: a European Collaborative Study. *Hepatology* 2002; 36: 973-977.
- 8) Puoti C, Guido M, Mangia A, et al. Clinical management of HCV carriers with normal aminotransferase levels. *Digestive and Liver Disease* 2003; 35:362-369.
- 9) Bacon BR. Treatment of patients with Hepatitis C and normal serum aminotransferase levels. *Proc. of the NIH Consensus Conference Management of Hepatitis C.* *Hepatology* 2002; 36 [Suppl. 1]: S179-S184.
- 10) Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seef LB. Diagnosis, management and treatment of hepatitis C. *AASLD Practice Guideline Hepatology* 2004; 39: 1147-1171.
- 11) Zeuzem S, Diago M, Gane E, et al. Peginterferon alfa-2a [40KD] and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2004;127:1724-32.
- 12) Prati D, Taioli E, Zanella A, et al. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase. *Ann Intern Med* 2002; 137: 1-10.
- 13) Martinot-Peignoux M, Boyer N, Cazals-Hatem D, et al.. Perspective study of anti-Hepatitis C virus-positive patients with persistently normal serum ALT with or without detectable serum HCV RNA. *Hepatology* 2001; 34: 1000-1005.
- 14) Rumi MG, De Filippi F, La Vecchia C, et al. Hepatitis C reactivation in patients with chronic infection with genotypes



- 1b and 2c: a retrospective cohort study of 206 untreated patients. *Gut* 2005;54:402–406
- 15) Persico M, Persico E, Suozzo R, et al. Natural history of hepatitis C virus carriers with persistently normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2000; 118: 760-764.
  - 16) Mathurin P, Moussali J, Cadranel JF, et al. Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C virus patients with persistently normal alanine transaminase activity. *Hepatology* 1998; 27: 868-872.
  - 17) Hui CK, Belaye T, Montegrando K, et al. A comparison in the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C between persistently normal and elevated transaminase. *J Hepatol* 2003; 38: 511-517.
  - 18) Puoti C, Bellis L, Martellino F, et al. Chronic hepatitis C and 'normal' ALT levels: treat the disease not the test. *J Hepatol* 2005; 43: 534-535.
  - 19) Ghany MG, Kleiner DE, Alter H, et al. Progression of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2003;124:97–104.
  - 20) Okanoue T, Makiyama A, Nakayama M, et al. A follow-up study to determine the value of liver biopsy and need for antiviral therapy for hepatitis C virus carriers with persistently normal serum aminotransferase, *J Hepatol* 2005; 43: 599-605.
  - 21) Cividini A, Rebucci C, Silini E, et al. Is the natural history of HCV carriers with normal aminotransferase levels really benign? *Gastroenterology* 2001; 121: 1526-1527.
  - 22) Persico M, Palmentieri B, Coppola L, et al. Occurrence of HCC in asymptomatic HCV-related chronic hepatitis. *Digest Dis Sci* 2002; 11: 2407-2410.
  - 23) Puoti C, Bellis L, Martellino F, L et al. Occurrence of HCC in an apparently healthy HCV carrier. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2005; 17: 1263-1264.
  - 24) Lee SS, Sherman M. Pilot Study of interferon-alpha and ribavirin treatment in patients with chronic hepatitis C and normal transaminase values. *J Viral Hepat* 2001; 8: 202-205.
  - 25) Hui CK, Monto A, Belaye T et al. Outcomes of interferon ? and ribavirin treatment for chronic hepatitis C in patients with normal serum aminotrasnferase. *Gut* 2003; 52: 1644-1648.
  - 26) Jacobson IM, Ahmed F, Russo MW et al. Interferon alpha-2b and ribavirin for patients with chronic hepatitis C and normal ALT. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1700-1705.
  - 27) Zeuzem S, Diago M, Gane E, et al. Peginterferon alfa-2a [40KD] and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2004;127:1724-32.
  - 28) Dienstag JL, McHutchison JG. American Gastroenterological Association [AGA] Medical Position Statement on the Management of Hepatitis C. *Gastroenterology* 2006; 130: 225-264.
  - 29) Alberti A. Towards a more individualised management of HCV patients with initially or persistently normal alanine a42: 266-274.
  - 30) Zeuzem S, Alberti A, Rosenberg W, Marcellin P, Diago M, Negri F, Prati D, Puoti C et al. Management of patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1133-1149.



## TREATMENT OF PATIENTS WITH EXTRAHEPATIC HCV INDUCED DISEASES

*Anna Linda Zignego, Antonio Petrarca*

*Department of Internal Medicine, Center for the Study of Systemic Manifestations of Hepatitis Viruses "MASVE" and Center for Research, Transfer and High Education "DENOTHE", University of Florence*

### Introduction

Hepatitis C virus (HCV) is associated with several extrahepatic disorders (extrahepatic manifestations of HCV = EHMs-HCV)<sup>1, 2</sup>. B-cell lymphoproliferative disorders (LPDs), whose prototype is mixed cryoglobulinemia (MC)<sup>3-5</sup>, represent the most closely related as well as the most investigated EHMs-HCV. HCV-associated manifestations also include porphyria cutanea tarda (PCT), lichen planus (LP), nephropathies, thyreopathies, sicca syndrome, idiopathic pulmonary fibrosis, diabetes, chronic polyarthritis, sexual disfunctions, cardiopathy/atherosclerosis, and psychopathological disorders. A pathogenetic link between HCV and some extrahepatic manifestations (i.e., MC) was confirmed by their responsiveness to antiviral therapy, which is now considered the first choice treatment, whereas in other cases (i.e., PCT, LP) available data about the usefulness and safety of interferon administration are very limited and highly variable<sup>6</sup>.

B-cell LPDs should be considered an ideal model for both therapeutic and pathogenetic deductions about EHMs-HCV.

### Mixed cryoglobulinemia

Most information about treatment of EHMs-HCV is derived from studies concerning MC<sup>7</sup>.

The definition of this disorder refers to the presence of serum immunoglobulins (Igs) that become insoluble below 37°C and can dissolve by warming serum (cryoglobulins, CGs). According to Brouet et al.<sup>8</sup>, type II and type III MC are characterized by a mixture of polyclonal IgG and monoclonal IgM or by polyclonal IgG and IgM, respectively. In MC, IgG and IgM with rheumatoid factor (RF) activity participate in the composition of circulating immunocomplexes (ICC). Type II MC (MC II) accounts for 50-60% of cryoglobulins, and type III (MC III) for the remaining 30-40%. Studies performed in unselected populations of chronic HCV-positive subjects showed a high prevalence of serum CGs, ranging from 19 to >50% according to different studies<sup>9, 10</sup>. However, CGs are generally present at low levels and symptoms are generally absent or very mild, whereas clinically evident MC (MC syndrome) would be shown in 10-15 to 30% of MC subjects and in 5-10% of all HCV infected patients<sup>9-11</sup>.

The most common symptoms of MC syndrome are weakness, arthralgias, and purpura (Meltzer and Franklin triad). Raynaud's phenomenon, peripheral neuropathy, sicca syndrome, renal involvement, lung disorders, fever, and hematocytopenia may also be observed<sup>12</sup>. In a recent study involving 231 Italian MC patients, peripheral neuropathy was observed in the majority of cases, representing the most frequent clinical feature after the triad, followed by sicca syndrome, Raynaud phenomenon and renal involvement<sup>13</sup>.

In MC patients, peripheral neuropathy includes mixed neuropathies, which are prevalently sensitive, axonal, and can manifest themselves as symmetrical distal neuropathies, multiple mononeuritis or

mononeuropathies<sup>14-16</sup>. Involvement of the central nervous system is unusual and generally presents as transient dysarthria and hemiplegia. Pathological findings show axonal damage with epineural vasculitic infiltrates and endoneural microangiopathy.

The association between MC and glomerulonephritis has been clearly demonstrated<sup>17, 18</sup>. At MCS diagnosis, nephropathy is observed in 20% of patients and in 35-60% during follow-up<sup>13, 18</sup>. The presence of renal involvement is one of the worst prognostic indices in the natural history of MC<sup>13</sup>. MC-related nephropathy is clinically characterized by hematuria, proteinuria (sometimes in nephritic range, i.e. > 3g/24 h), edemas, and renal failure of variable grade. The histological picture is similar to that of idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis, but characterized by capillary thrombi consisting of precipitated cryoglobulins under light microscopy and widespread deposits of IgM in capillary loops. Histological analysis shows a thickening of glomerular basal membrane, cellular proliferation and infiltration of circulating macrophages. From a clinical point of view, MC patients frequently present with one or more subclinical signs of renal involvement, including asymptomatic hematuria, without nephrotic proteinuria (<3g/24 h), with normal or only fairly reduced renal function (creatinine <1.5 mg%). In 30% of cases, the clinical manifestation of MC may be acute nephrotic syndrome<sup>3</sup>. In 20% of cases, a nephrotic syndrome represents the clinical manifestation of MC. Hypertension may be seen in 80% of MC patients with renal involvement<sup>19</sup>.

Renal manifestations represent a negative prognostic factor in MC, even if their course may vary. However, in the long term, MC-related nephropathy may progress to terminal chronic renal failure requiring dialysis in up to 15% of patients<sup>20</sup>.

The association between MC and severe liver damage has been widely discussed<sup>1, 2, 21-23</sup>. Recent studies have shown an epidemiological association between MC and severe liver damage<sup>9, 24</sup> as well as between MC and liver steatosis<sup>25</sup>. In the previously cited study performed on 231 MC patients, survival analysis according to the Kaplan-Meier method revealed a significantly lower cumulative 10-year survival, calculated from time of diagnosis, in MC patients when compared with expected death in the age- and sex-matched general population. Moreover, significantly lower survival rates were observed in males and in subjects with renal involvement; the most frequent causes of death being nephropathy (33%), malignancies (23%), liver involvement (13%), and diffuse vasculitis (13%)<sup>13</sup>.

MC syndrome, before the identification of its viral etiology, was interpreted and treated as an "essential" autoimmune/lymphoproliferative disease by using a combination of anti-inflammatory, immunosuppressive drugs, as well as procedures able to reduce the amount of circulating immunocomplexes (cryoglobulins) such as plasma exchange and low antigen content diet (LAC diet). The identification of the viral etiology led to the attempt to eradicate HCV with interferon (IFN)-based treatments. Interestingly, because of its antiproliferative properties, IFN was successfully used in the treatment of MC even before the identification of HCV<sup>26, 27</sup>. Several studies, utilizing different therapeutic protocols, have been carried out, and the usefulness of IFN therapy for HCV-related MC is now firmly established. However, an accurate meta-analysis of performed studies is still hampered by the heterogeneity of regimens used so that an optimum regimen has not yet been determined nor have prognostic criteria been accurately delineated.

Antiviral treatment of MC essentially followed the evolution of treatment of HCV-related chronic liver

disease, with some latency. In a first series of studies, the effects of IFN monotherapy were tested<sup>21, 28-38</sup>. When compared with HCV-related chronic hepatitis, treatment of MC was associated with a relatively poorer response and high relapse rate. The frequent relapse of both HCV replication and MC syndrome at the end of IFN treatment suggested the combination with ribavirin (RBV): this therapeutic option appeared valid in several studies<sup>39-42</sup>. Interestingly, it has been shown that RBV monotherapy also decreases transaminase levels and MC-related symptoms, probably due to the immunomodulatory effects of RBV<sup>43-45</sup>. Further improvement in the sustained virological response (SVR) rate was obtained by the introduction of pegylated IFNs<sup>46-48</sup>. However, additional controlled studies are needed to gain definitive information.

Interestingly, all available studies show that clinico-immunological and virologic response are generally strictly related<sup>34, 39, 41, 47-49</sup>. In recent studies, persistence of isolated lymphatic infection after therapy was significantly associated with persistence of MC syndrome stigmata<sup>50</sup>. By contrast, a long term clinical response was correlated with persistent HCV negativity of different (liver, serum and PBNC) compartments (<sup>50</sup>, Zignego et al, submitted paper).

Disappearance of BL monoclonal infiltrate from bone marrow as well as BL expansion in peripheral blood following IFN therapy has been shown. In particular, the antiviral response was shown to be significantly related to the lack of detection of circulating B-cell clones bearing t(14;18) translocation<sup>51-53</sup>. The reappearance of circulating translocated BL clones after virological relapse at the end of treatment, as well as the persistent detection of t(14;18) positive clones in subjects with unmodified viral load after identical therapy, strongly indicates that clonal expansion of translocated cells depends on modifications of viral replication induced by antiviral treatment<sup>51, 53</sup>. More recently, long-term analysis of HCV+ MC patients showing SVR after therapy (see above) indicated that occult lymphatic infection and persistence of MC stigmata were also associated with persistent determination of expanded t(14;18) carrying B-cell clones (<sup>50</sup>, and Zignego et al, submitted paper). Altogether, the current data suggest that IFN treatment, when successful, may also help prevent the evolution of HCV-related LPDs.

In conclusion, the available data concerning antiviral treatment of MC show that this therapeutic approach should be the first option because of the antiproliferative and immunomodulatory effects of IFN, the usefulness of antiviral therapy as demonstrated in most available studies, the strict correlation between virological and clinical response, as well as the positive effect of inhibition of viral replication on B-cell clonal expansion that is considered the pathogenetic basis of MC. However, in comparison with antiviral treatment of HCV chronic liver disease, antiviral therapy of MC is more complex for several reasons including the absence of standardized treatment protocols, the higher frequency of relapse, and generic and MC-specific contraindications to antiviral treatment (i.e, advanced age, severe liver disease, acute nephritis, widespread vasculitis). In addition, the interpretation of results following IFN treatment in MC patients seems to be much more complex than in MC-negative chronic HCV infection.

Biochemical markers of MC response (cryocrit, RF or complement values) may be more independent of virological response than ALT levels. This may confirm the importance of a multiphase, complex, pathogenetic mechanism in MC, suggesting the need for precise monitoring of this category of patients and the definition of predictive markers which indicate evolution towards pathogenetic phases of the disease. A possible candidate marker may be the evaluation of BL clonal expansion modifications in PBMC sam-

ples, as previously mentioned<sup>51-54</sup>; further studies are needed to better define its clinical value. At present, antiviral therapy is suggested as the first choice treatment of this condition, to be performed even in the absence of different indications, with the exclusion of patients with only biochemical stigmata of MC (i.e, CGs). Particular attention should also be given to the treatment of severe MC (i.e, patients with acute nephritis, widespread vasculitis) In these cases no sufficient data are available supporting the safety of IFN administration and a cautious attitude is strongly suggested, . It is opportune to use alternative, more “traditional” therapeutic approaches in all patients in whom antiviral treatment is contraindicated or not tolerated or who are non-responders. Alternatives include corticosteroids, immunosuppressive drugs, FANS, plasmapheresis and a hypo-antigenic diet<sup>7, 55, 56</sup>. Treatment should be tailored to the single patient, according to the severity of clinical symptoms, and considering the possible additional factors involved (age, co-morbidity etc.), and limited to the time (weeks or months) required for symptom remission. Any therapeutic approach aimed at improving serological parameters in clinically asymptomatic patients should be avoided.

Corticosteroids are the most commonly used therapy for MC before HCV identification due to the fact that, even at low doses, they can control the majority of MC symptoms. On the other hand, corticosteroids may favor HCV replication, may cause several side effects, and do not induce significant modifications in the cryocrit levels or in the natural history of the disease. Cytostatic-immunosuppressive drugs (i.e, cyclophosphamide, chlorambucil and azathioprine) have been used mainly in the absence of response to corticosteroids and/or during the acute phases of MC syndrome (i.e., acute nephritis evolving towards renal failure, hyperviscosity syndrome in association with plasmapheresis)<sup>7</sup>. These molecules generally have some severe side effects, including disease progression secondary to the relevant immunosuppressive effect<sup>57</sup>. A special note must be made of new B-cell specific immunosuppressive therapy based on the use of chimeric antibodies against the CD20, a B cell specific surface antigen (rituximab)<sup>58, 59</sup>. Several studies showed that rituximab is effective in most patients with MC, leading to marked improvement or resolution of the syndrome - with particular reference to skin lesions - and regression of the expanded B-cell clones.<sup>58, 59</sup> However, in spite of the fact that no treatment-induced liver damage has been reported<sup>60</sup>, this drug leads to an increase in HCV replication, explaining interest in its combination with antiviral molecules<sup>56, 58, 59, 61, 62</sup>. Overall, this therapeutic approach appears to be very promising in the management of MC patients, however, future prospective, controlled, and randomized studies are still required to establish evidence-based guidelines to treat HCV-related MC.

Other therapeutic measures are aimed at reducing CG concentration. These include plasmapheresis, and a low antigenic diet (LAC diet)<sup>7</sup>. Plasmapheresis represents the aphaeretic removal of CGs and circulating immunocomplexes. Because of its effectiveness and rapid action, it is especially indicated in the presence of acute manifestations (cryoglobulinemic nephritis, severe sensorimotor neuropathies, cutaneous ulcers, hyperviscosity syndrome). The association with cyclophosphamide has been shown to be effective in reducing the “rebound effect” at the end of aphaeresis. The LAC diet has a reduced content of alimentary macromolecules with high antigenic properties allowing more efficient removal of CGs by the reticulo-endothelial system. This diet can improve minor manifestations of the disease (purpura, arthralgias, paresthesias), and is generally prescribed at the initial stage of the disease<sup>7</sup>.

## Lymphoma

In light of the above observations about MC syndrome, the inclusion of antiviral therapy seems to be rational in therapeutic schemes for HCV-positive NHL<sup>7</sup>. This appears to be confirmed by recent studies, performed in low-grade lymphoma<sup>63</sup> and, in particular, in marginal zone lymphomas.<sup>64, 65</sup> Vallisa et al. treated 13 patients with HCV-associated low-grade B-NHL characterized by an indolent course (i.e., doubling time no less than 1 year, no bulky disease) with pegylated IFN and ribavirin. Hematologic responses were observed in the majority of patients (complete and partial responses, 75%) and were highly significantly associated with clearance or decrease in serum HCV viral load following treatment, strongly providing a role for antiviral treatment in HCV-related, low-grade, B-cell NHL. Hermine et al showed that most patients with HCV and splenic lymphoma with villous lymphocytes (SLVL) entered complete remission upon treatment with IFN<sup>64</sup>. The inclusion of a control group integrated by patients with the same LPD but without HCV infection demonstrated that, in contrast with HCV-infected patients, HCV-negative subjects did not respond to IFN therapy, strongly suggesting that the response observed in HCV-positive patients was not merely due to the antiproliferative effect of IFN. Analogously, regression of clonal proliferation in response to antiviral treatment was shown to be clearly associated with virological response<sup>51, 52</sup>. Interestingly, also in HCV patients without evidence of LPD, a close association between the virological response and the loss of B-cell monoclonality with persistence of expanded t(14:18)-positive B-cell clones in non virological responders was shown, indicating that the more effective the antiviral therapy is, the more likely is loss of B-cell clonality<sup>53</sup>.

Unfortunately, only some lymphomas may be cured with antiviral therapy. In addition, also in cases of responsive SLVL, the rearrangement of the monoclonal immunoglobulin genes observed at diagnosis is still detectable in the blood even after a complete hematological response has been achieved<sup>66</sup>. These data suggest that the multi-step lymphomagenetic cascade is complicated by points of no return, making LPD more and more independent of HCV infection. Although antiviral therapy appears to be an attractive therapeutic tool for low-grade HCV-positive NHL, in intermediate and high-grade NHL, chemotherapy is expected to be necessary and antiviral treatment may be suggested as maintenance therapy after chemotherapy completion<sup>67</sup>. Further studies are needed to better standardize the antiviral therapy for HCV-related NHL patients..

The use of rituximab in HCV-associated NHL, in monotherapy or in combination with antiviral treatment and/or chemotherapy, appears very promising, especially in the setting of low-grade NHL, where rituximab monotherapy has been proposed as first-line treatment<sup>68</sup>. Interestingly, Hainsworth et al showed that the use of rituximab in low-grade NHL with scheduled maintenance at 6-month intervals produced high overall and complete response rates and a longer progression-free survival than has been reported with a standard 4-week treatment<sup>68</sup>.

Few data are at presently available specifically concerning patients with HCV-associated NHL. For example, Somer et al. observed that after rituximab treatment a patient with Sjogren's syndrome (SS) and lymphoma showed improvement of parotidomegaly, ocular tests and salivary flow rate<sup>69</sup>. In addition, Ramos-Casals et al reported two patients with HCV-related SS who developed B-cell lymphoma and who responded successfully to treatment with rituximab<sup>70</sup>.

In synthesis, in spite of the limited number of described cases, it appears reasonable to consider rituximab as a safe and effective therapy for HCV-related indolent B-cell lymphoma.

## REFERENCES

- 1 Zignego AL, Brechot C. Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies. *J Hepatol* 1999; **31**: 369-376.
- 2 Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, Charlotte F, Olivi M, Piette JC, Opolon P. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC Group. Multidepartment Virus C. *Arthritis Rheum* 1999; **42**: 2204-2212.
- 3 Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Borelli G, Marchesi D, Massazza M, Vendramin G, Comotti B, Tanzi E, Scudeller G, et al. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992; **117**: 573-577.
- 4 Ferri C, Monti M, La Civita L, Longombardo G, Greco F, Pasero G, Gentilini P, Bombardieri S, Zignego AL. Infection of peripheral blood mononuclear cells by hepatitis C virus in mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1993; **82**: 3701-3704.
- 5 Zignego AL, Ferri C, Giannini C, La Civita L, Careccia G, Longombardo G, Bellesi G, Caracciolo F, Thiers V, Gentilini P. Hepatitis C virus infection in mixed cryoglobulinemia and B-cell non- Hodgkin's lymphoma: evidence for a pathogenetic role. *Arch Virol* 1997; **142**: 545-555.
- 6 Berk DR, Mallory SB, Keeffe EB, Ahmed A. Dermatologic Disorders Associated With Chronic Hepatitis C: Effect of Interferon Therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006 Aug 16.
- 7 Zignego AL, Ferri C, Pileri SA, Caini P, Bianchi FB. Extrahepatic manifestations of Hepatitis C Virus infection: A general overview and guidelines for a clinical approach. *Dig Liver Dis* 2007; **39**: 2-17.
- 8 Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *Am J Med* 1974; **57**: 775-788.
- 9 Lunel F, Musset L, Cacoub P, Frangeul L, Cresta P, Perrin M, Gripon P, Hoang C, Valla D, Piette JC, et al. Cryoglobulinemia in chronic liver diseases: role of hepatitis C virus and liver damage [published erratum appears in *Gastroenterology* 1995 Feb;108(2):620]. *Gastroenterology* 1994; **106**: 1291-1300.
- 10 Wong VS, Egner W, Eley T, Brown D, Alexander GJ. Incidence, character and clinical relevance of mixed cryoglobulinaemia in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 1996; **104**: 25-31.
- 11 Pawlotsky JM, Roudot-Thoraval F, Simmonds P, Mellor J, Ben Yahia MB, Andre C, Voisin MC, Intrator L, Zafrani ES, Duval J, et al. Extrahepatic immunologic manifestations in chronic hepatitis C and hepatitis C virus serotypes. *Ann Intern Med* 1995; **122**: 169-173.
- 12 Ferri C, Zignego AL, Pileri S. Cryoglobulins. 'Clinical Hematology': Elsevier (Mosby), 2005: 625-636.
- 13 Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, Cazzato M, Longombardo G, Antonelli A, Puccini R, Michelassi C, Zignego AL. Mixed cryoglobulinemia: Demographic, clinical, and serologic features and survival in 231 patients. *Semin Arthritis Rheum* 2004 Jun; **33**: 355-374.
- 14 Ferri C, La Civita L, Cirafisi C, Siciliano G, Longombardo G, Bombardieri S, Rossi B. Peripheral neuropathy in mixed cryoglobulinemia: clinical and electrophysiologic investigations. *J Rheumatol* 1992; **19**: 889-895.
- 15 Tembl JI, Ferrer JM, Sevilla MT, Lago A, Mayordomo F, Vilchez JJ. Neurologic complications associated with hepatitis C virus infection. *Neurology* 1999 Sep 11; **53**: 861-864.
- 16 Lidove O, Cacoub P, Maisonobe T, Servan J, Thibault V, Piette JC, Leger JM. Hepatitis C virus infection with peripheral neuropathy is not always associated with cryoglobulinaemia. *Ann Rheum Dis* 2001 Mar; **60**: 290-292.
- 17 Johnson RJ, Willson R, Yamabe H, Couser W, Alpers CE, Wener MH, Davis C, Gretch DR. Renal manifestations of hepatitis C virus infection. *Kidney Int* 1994 Nov; **46**: 1255-1263.
- 18 Daghestani L, Pomeroy C. Renal manifestations of hepatitis C infection. *Am J Med* 1999 Mar; **106**: 347-354.
- 19 D'Amico G. Renal involvement in hepatitis C infection: cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1998 Aug; **54**: 650-671.
- 20 Tarantino A, Campise M, Banfi G, Confalonieri R, Bucci A, Montoli A, Colasanti G, Damilano I, D'Amico G, Minetti L, et al. Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995 Feb; **47**: 618-623.
- 21 Ferri C, Marzo E, Longombardo G, Lombardini F, La Civita L, Vanacore R, Liberati AM, Gerli R, Greco F, Moretti A, Zignego AL. Interferon-alpha in mixed cryoglobulinemia patients: a randomized, crossover-controlled trial. *Blood* 1993; **81**: 1132-1136.
- 22 Cacoub P, Fabiani FL, Musset L, Perrin M, Frangeul L, Leger JM, Hureau JM, Piette JC, Godeau P. Mixed cryoglobulinemia and hepatitis C virus. *Am J Med* 1994; **96**: 124-132.
- 23 Agnello V. Hepatitis C virus infection and type II cryoglobulinemia: an immunological perspective [published erratum appears in *Hepatology* 1998 Mar;27(3):889]. *Hepatology* 1997; **26**: 1375-1379.
- 24 Kayali Z, Buckwold VE, Zimmerman B, Schmidt WN. Hepatitis C, cryoglobulinemia, and cirrhosis: a meta-analysis. *Hepatology* 2002 Oct; **36**: 978-985.
- 25 Saadoun D, Asselah T, Resche-Rigon M, Charlotte F, Bedossa P, Valla D, Piette JC, Marcellin P, Cacoub P. Cryoglobulinemia is associated with steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2006 Jun; **43**: 1337-1345.

- 26 Bonomo L, Casato M, Afeltra A, Caccavo D. Treatment of idiopathic mixed cryoglobulinemia with alpha interferon. *Am J Med* 1987; **83**: 726-730.
- 27 Casato M, Lagana B, Antonelli G, Dianzani F, Bonomo L. Long-term results of therapy with interferon-alpha for type II essential mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1991; **78**: 3142-3147.
- 28 Ferri C, Zignego AL, Longombardo G, Monti M, La Civita L, Lombardini F, Greco F, Mazzoni A, Pasero G, Gentilini P, et al. Effect of alpha-interferon on hepatitis C virus chronic infection in mixed cryoglobulinemia patients. *Infection* 1993; **21**: 93-97.
- 29 Marcellin P, Descamps V, Martinot-Peignoux M, Larzul D, Xu L, Boyer N, Pham BN, Crickx B, Guillevin L, Belaich S, et al. Cryoglobulinemia with vasculitis associated with hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 1993 Jan; **104**: 272-277.
- 30 Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, Hart J, Bacchi CE, Hartwell P, Couser WG, Corey L, Wener MH, Alpers CE, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection [see comments]. *N Engl J Med* 1993; **328**: 465-470.
- 31 Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Vicari O, Marchesi D, Sironi PL, Zilio P, Vernocchi A, Massazza M, Vendramin G, et al. Interferon alfa-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus [see comments]. *N Engl J Med* 1994; **330**: 751-756.
- 32 Dammacco F, Sansonno D, Han JH, Shyamala V, Cornacchiulo V, Iacobelli AR, Lauletta G, Rizzi R. Natural interferon-alpha versus its combination with 6-methyl- prednisolone in the therapy of type II mixed cryoglobulinemia: a long- term, randomized, controlled study. *Blood* 1994; **84**: 3336-3343.
- 33 Johnson RJ, Gretch DR, Couser WG, Alpers CE, Wilson J, Chung M, Hart J, Willson R. Hepatitis C virus-associated glomerulonephritis. Effect of alpha-interferon therapy. *Kidney Int* 1994 Dec; **46**: 1700-1704.
- 34 Mazzaro C, Pozzato G, Moretti M, Crovatto M, Modolo ML, Mazzi G, Santini G. Long-term effects of alpha-interferon therapy for type II mixed cryoglobulinemia [published erratum appears in *Haematologica* 1994 Sep- Oct;79(5):486]. *Haematologica* 1994; **79**: 342-349.
- 35 Casaril M, Capra F, Gabrielli GB, Bassi A, Squarzone S, Dagradi R, De Maria E, Corrocher R. Cryoglobulinemia in hepatitis C virus chronic active hepatitis: effects of interferon-alpha therapy. *J Interferon Cytokine Res* 1996 Aug; **16**: 585-588.
- 36 Cohen P, Nguyen QT, Deny P, Ferriere F, Roulot D, Lortholary O, Jarrousse B, Danon F, Barrier JH, Ceccaldi J, Constans J, Crickx B, Fiessinger JN, Hachulla E, Jaccard A, Seligmann M, Kazatchkine M, Laroche L, Subra JF, Turlure P, Guillevin L. Treatment of mixed cryoglobulinemia with recombinant interferon alpha and adjuvant therapies. A prospective study on 20 patients. *Ann Med Interne (Paris)* 1996; **147**: 81-86.
- 37 Akriviadis EA, Xanthakis I, Navrozidou C, Papadopoulos A. Prevalence of cryoglobulinemia in chronic hepatitis C virus infection and response to treatment with interferon-alpha. *J Clin Gastroenterol* 1997 Dec; **25**: 612-618.
- 38 Casato M, Agnello V, Pucillo LP, Knight GB, Leoni M, Del Vecchio S, Mazzilli C, Antonelli G, Bonomo L. Predictors of long-term response to high-dose interferon therapy in type II cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus infection. *Blood* 1997; **90**: 3865-3873.
- 39 Calleja JL, Albillos A, Moreno-Otero R, Rossi I, Cacho G, Domper F, Yebra M, Escartin P. Sustained response to interferon-alpha or to interferon-alpha plus ribavirin in hepatitis C virus-associated symptomatic mixed cryoglobulinaemia. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; **13**: 1179-1186.
- 40 Zuckerman E, Keren D, Slobodin G, Rosner I, Rozenbaum M, Toubi E, Sabo E, Tsykounov I, Naschitz JE, Yeshurun D. Treatment of refractory, symptomatic, hepatitis C virus related mixed cryoglobulinemia with ribavirin and interferon-alpha. *J Rheumatol* 2000; **27**: 2172-2178.
- 41 Cacoub P, Lidove O, Maisonobe T, Duhaut P, Thibault V, Ghillani P, Myers RP, Leger JM, Servan J, Piette JC. Interferon-alpha and ribavirin treatment in patients with hepatitis C virus-related systemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 2002 Dec; **46**: 3317-3326.
- 42 Mazzaro C, Zorat F, Comar C, Nascimben F, Bianchini D, Baracetti S, Donada C, Donadon V, Pozzato G. Interferon plus ribavirin in patients with hepatitis C virus positive mixed cryoglobulinemia resistant to interferon. *J Rheumatol* 2003 Aug; **30**: 1775-1781.
- 43 Heagy W, Crumpacker C, Lopez PA, Finberg RW. Inhibition of immune functions by antiviral drugs. *J Clin Invest* 1991 Jun; **87**: 1916-1924.
- 44 Durand JM, Cacoub P, Lunel-Fabiani F, Cosserrat J, Cretel E, Kaplanski G, Frances C, Bletry O, Soubeyrand J, Godeau P. Ribavirin in hepatitis C related cryoglobulinemia. *J Rheumatol* 1998 Jun; **25**: 1115-1117.
- 45 Jaccard A, Loustaud V, Turlure P, Rogez S, Bordessoule D. Ribavirin and immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 1998 May 30; **351**: 1660-1661.
- 46 Alric L, Plaisier E, Thebault S, Peron JM, Rostaing L, Pourrat J, Ronco P, Piette JC, Cacoub P. Influence of antiviral therapy in hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic MPGN. *Am J Kidney Dis* 2004 Apr; **43**: 617-623.
- 47 Cacoub P, Saadoun D, Limal N, Sene D, Lidove O, Piette JC. PEGylated interferon alfa-2b and ribavirin treatment in patients with hepatitis C virus-related systemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 2005 Mar; **52**: 911-915.

- 48 Mazzaro C, Zorat F, Caizzi M, Donada C, Di Gennaro G, Maso LD, Carniello G, Virgolini L, Tirelli U, Pozzato G. Treatment with peg-interferon alfa-2b and ribavirin of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia: a pilot study. *J Hepatol* 2005 May; **42**: 632-638.
- 49 Levine JW, Gota C, Fessler BJ, Calabrese LH, Cooper SM. Persistent cryoglobulinemic vasculitis following successful treatment of hepatitis C virus. *J Rheumatol* 2005 Jun; **32**: 1164-1167.
- 50 Giannini C, Giannelli F, Zignego AL. Association between mixed cryoglobulinemia, translocation (14;18), and persistence of occult HCV lymphoid infection after treatment. *Hepatology* 2006 Apr 20; **43**: 1166-1167.
- 51 Zuckerman E, Zuckerman T, Sahar D, Streichman S, Attias D, Sabo E, Yeshurun D, Rowe JM. The effect of antiviral therapy on t(14;18) translocation and immunoglobulin gene rearrangement in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Blood* 2001; **97**: 1555-1559.
- 52 Zignego AL, Ferri C, Giannelli F, Giannini C, Caini P, Monti M, Marrocchi EM, Di Pietro E, La Villa G, Laffi G, Gentilini P. Prevalence of bcl-2 rearrangement in patients with hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia with or without B-cell lymphomas. *Ann Intern Med* 2002; **137**: 571-580.
- 53 Giannelli F, Moscarella S, Giannini C, Caini P, Monti M, Gragnani L, Romanelli RG, Solazzo V, Laffi G, La Villa G, Gentilini P, Zignego AL. Effect of antiviral treatment in patients with chronic HCV infection and t(14;18) translocation. *Blood* 2003 Aug 15; **102**: 1196-1201.
- 54 Mazzaro C, Franzin F, Tulissi P, Pussini E, Crovatto M, Carniello GS, Efremov DG, Burrone O, Santini G, Pozzato G. Regression of monoclonal B-cell expansion in patients affected by mixed cryoglobulinemia responsive to alpha-interferon therapy. *Cancer* 1996; **77**: 2604-2613.
- 55 Ferri C, Giuggioli D, Cazzato M, Sebastiani M, Mascia MT, Zignego AL. HCV-related cryoglobulinemic vasculitis: an update on its etiopathogenesis and therapeutic strategies. *Clin Exp Rheumatol* 2003 Nov-Dec; **21**: S78-84.
- 56 Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulinemia. Philadelphia (PA): Elsevier, 2006.
- 57 Ballare M, Bobbio F, Poggi S, Bordin G, Bertoncelli MC, Catania E, Monteverde A. A pilot study on the effectiveness of cyclosporine in type II mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 1995; **13 Suppl 13**: S201-203.
- 58 Zaja F, De Vita S, Mazzaro C, Sacco S, Damiani D, De Marchi G, Michelutti A, Baccarani M, Fanin R, Ferraccioli G. Efficacy and safety of rituximab in type II mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2003 May 15; **101**: 3827-3834.
- 59 Sansonno D, De Re V, Lauetta G, Tucci FA, Boiocchi M, Dammacco F. Monoclonal antibody treatment of mixed cryoglobulinemia resistant to interferon alpha with an anti-CD20. *Blood* 2003 May 15; **101**: 3818-3826.
- 60 Petrarca A, Rigacci L, Monti M, Giannini C, Bernardi F, Caini P, Colagrande S, Bosi A, Laffi G, Zignego AL. Improvement in liver cirrhosis after treatment of HCV-related mixed cryoglobulinemia with rituximab. *Digestive and Liver Diseases* 2007; **in press**.
- 61 Zaja F, Russo D, Fuga G, Patriarca F, Ermacora A, Baccarani M. Rituximab for the treatment of type II mixed cryoglobulinemia. *Haematologica* 1999 Dec; **84**: 1157-1158.
- 62 Zaja F, De Vita S, Russo D, Michelutti A, Fanin R, Ferraccioli G, Baccarani M. Rituximab for the treatment of type II mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 2002 Aug; **46**: 2252-2254; author reply 2254-2255.
- 63 Vallisa D, Bernuzzi P, Arcaini L, Sacchi S, Callea V, Marasca R, Lazzaro A, Trabacchi E, Anselmi E, Arcari AL, Moroni C, Berte R, Lazzarino M, Cavanna L. Role of anti-hepatitis C virus (HCV) treatment in HCV-related, low-grade, B-cell, non-Hodgkin's lymphoma: a multicenter Italian experience. *J Clin Oncol* 2005 Jan 20; **23**: 468-473.
- 64 Hermine O, Lefrere F, Bronowicki JP, Mariette X, Jondeau K, Eclache-Saudreau V, Delmas B, Valensi F, Cacoub P, Brechot C, Varet B, Troussard X. Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; **347**: 89-94.
- 65 Kelaidi C, Rollot F, Park S, Tulliez M, Christoforov B, Calmus Y, Podevin P, Bouscary D, Sogni P, Blanche P, Dreyfus F. Response to antiviral treatment in hepatitis C virus-associated marginal zone lymphomas. *Leukemia* 2004 Oct; **18**: 1711-1716.
- 66 Saadoun D, Suarez F, Lefrere F, Valensi F, Mariette X, Aouba A, Besson C, Varet B, Troussard X, Cacoub P, Hermine O. Splenic lymphoma with villous lymphocytes, associated with type II cryoglobulinemia and HCV infection: a new entity? *Blood* 2005 Jan 1; **105**: 74-76.
- 67 Gisbert JP, Garcia-Buey L, Pajares JM, Moreno-Otero R. Systematic review: regression of lymphoproliferative disorders after treatment for hepatitis C infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2005 Mar 15; **21**: 653-662.
- 68 Hainsworth JD, Litchy S, Burris HA, 3rd, Scullin DC, Jr., Corso SW, Yardley DA, Morrissey L, Greco FA. Rituximab as first-line and maintenance therapy for patients with indolent non-hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2002 Oct 15; **20**: 4261-4267.
- 69 Somer BG, Tsai DE, Downs L, Weinstein B, Schuster SJ. Improvement in Sjogren's syndrome following therapy with rituximab for marginal zone lymphoma. *Arthritis Rheum* 2003 Jun 15; **49**: 394-398.
- 70 Ramos-Casals M, Lopez-Guillermo A, Brito-Zeron P, Cervera R, Font J. Treatment of B-cell lymphoma with rituximab in two patients with Sjogren's syndrome associated with hepatitis C virus infection. *Lupus* 2004; **13**: 969-971.



## TREATMENT OF IDU AND HIV+

*Raffaele Bruno*

*Divisione di Malattie Infettive e Tropicali,*

*Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo- Università degli Studi di Pavia*

### **Trattamento nei Tossicodipendenti**

L'uso di droghe per via parenterale rappresenta una delle principali vie di trasmissione dell'epatite C nella popolazione tra i 15 ed i 44 anni. Circa il 33% delle epatiti acute da HCV sono correlate all'uso di droghe per via parenterale. In Italia viene stimato che circa 280.000 soggetti abbiano usato eroina. Nella fascia di età tra i 12 ed i 64 anni 49 persone su 10.000 si sono rivolte ad un SERT nel 2004. Solo il 49.6% dei pazienti dei SERT esegue il test per la ricerca degli anticorpi anti-HCV. Tra i pazienti testati il 79% risulta anti-HCV positivo. Tra i pazienti che hanno usato droghe parenterali da meno di 2 anni circa il 40% presenta anti-HCV positività.

Si può quindi stimare che in Italia vi siano 280.000 soggetti che hanno usato eroina per via parenterale di questi circa 200.000 sono stati o sono in carico ai SERT. Solo il 50% di questi pazienti viene testato per l'epatite da HCV. Tra i soggetti testati il 75% risulta positivo. Pertanto esistono circa 210.000 soggetti che hanno usato o usano eroina e sono anti-HCV positivi. Di questi circa 150.000 si rivolgono ai SERT; tra questi 75.000 sono noti e 75.000 non accertati. La mortalità per cirrosi è pari all'8,7% del totale.

### **Storia naturale**

Non vi sono studi che associno la tossicodipendenza ad una più rapida evoluzione dell'epatite cronica da HCV verso la cirrosi e l'epatocarcinoma. Tuttavia la tossicodipendenza è associata sia a cofattori sfavorevoli anche in assenza di coinfezione da HIV, come l'abuso alcolico e i disturbi del comportamento alimentare, sia a cofattori favorevoli come la giovane età all'infezione.

Il rischio di reinfezione nei soggetti con tossicodipendenza attiva e risposta sostenuta al trattamento è stato poco studiato. Comunque esistono dei dati che dimostrano che la reinfezione è un evento raro in tossicodipendenti attivi soprattutto se adottano i comportamenti opportuni per la riduzione del rischio.

### **Terapia antivirale**

Nei pochi studi prospettici non si è osservata nessuna differenza in termini di risposta virologica sostenuta rispetto al gruppo di controllo, tuttavia la decisione sul trattamento dei pazienti con epatite C in presenza di tossicodipendenza attiva o di terapia sostitutiva deve essere concordata con il paziente ed è fortemente condizionata dalle sue motivazioni. Oltre che sulle motivazioni del paziente la decisione è basata, come per gli altri pazienti con epatite cronica da HCV, su una valutazione dei seguenti elementi: età e comorbidità, storia naturale della malattia, controindicazioni al trattamento e probabili effetti collaterali, aderenza alla terapia, probabilità di risposta sostenuta, stadio della malattia epatica e grado di infiammazione nonché le problematiche correlate ad un differimento del trattamento a un momento successivo in cui siano disponibili trattamenti con un migliore rapporto costo beneficio. Alcuni di questi

aspetti generali meritano particolare considerazione in questa categoria di pazienti.

### **Controindicazioni al trattamento ed effetti collaterali**

I dati sulla presenza di patologia psichiatrica in pazienti con abuso di sostanze danno tassi di comorbidità variabili da più del 50% al 93%, mentre approssimativamente il 50% dei soggetti con una malattia mentale grave sviluppa un abuso.

Grande diffusione ha avuto l'Addiction Severity Index (A.S.I.), intervista semi-strutturata per una valutazione multidimensionale di pazienti tossicodipendenti. In considerazione degli importanti effetti collaterali neuropsichiatrici della terapia con interferoni e ribavirina, una valutazione iniziale è essenziale per escludere dal trattamento i pazienti in cui esso è controindicato ed eventualmente per prescrivere una terapia pre-emptive. E' inoltre necessario durante il trattamento un monitoraggio neuropsichiatrico e psicologico-clinico quest'ultimo con colloquio a cadenza mensile.

### **Terapie concomitanti**

La terapia con agonisti degli oppiacei come il metadone anche in mantenimento e come la buprenorfina ha dimostrato efficacia nel ridurre e spesso eliminare l'uso di oppioidi e quello di diminuire la trasmissione di molte infezioni tra cui l'HIV. Tutti i pazienti con epatite da HCV dovrebbero essere interrogati riguardo alle loro abitudini voluttuarie ed il trattamento dell'abuso di sostanze come eroina ed alcool ed avviati a programmi di trattamento in caso di abuso. Sia l'abuso alcolico che l'uso di droghe per via parenterale sono associate a malattie più floride e progressive. La terapia concomitante con metadone è quindi la priorità dal punto di vista clinico in molti pazienti e la terapia anti-HCV va ad essa subordinata ad eccezione di casi di malattia epatica già avanzata. La dose va adattata dagli specialisti sulla base dell'osservazione della risposta del paziente.

### **Trattamento nei Pazienti con coinfezione HIV-HCV**

Attualmente si stima che ci siano in Italia, circa 60000-80000 persone con co-infezione HIV-HCV, che rappresentano una significativa proporzione del totale dei pazienti con infezione da HIV. L'HCV è quindi responsabile della maggioranza dei casi di epatite cronica e di insufficienza epatica in questi pazienti. L'elevata prevalenza di coinfezioni è da attribuire ai fattori di trasmissione comuni ai due virus, tra cui il più importante è la tossicodipendenza per via endovenosa, che rappresenta anche il principale fattore di rischio per l'epatite acuta da HCV. Circa l'80-90% dei tossicodipendenti abituali è infettato da HCV e, tra questi soggetti, il 15-20% è anche HIV positivo. I fattori di rischio non parenterali, quali la trasmissione per via sessuale o quella verticale, sono più importanti per HIV che per HCV, ma la co-infezione aumenta il rischio di trasmissione di HCV per queste vie.

### **Storia naturale dell'epatite C nel contesto della coinfezione HIV-HCV**

I pazienti HIV-positivi, presentano un maggior rischio di progressione della malattia epatica. Diversi altri cofattori possono aumentare il rischio di una più rapida evoluzione verso la cirrosi. Il deficit del siste-

ma immunitario che si instaura progressivamente nel corso dell'infezione da HIV permette l'aumento della replicazione di HCV, con conseguente maggior frequenza di infezione degli epatociti e di danno cellulare, anche se non esiste una stretta correlazione tra danno epatico e livelli di replicazione virale. La risposta del sistema immunitario nei confronti di HCV è probabilmente ridotta nei pazienti coinfeziti. Infatti, la coinfezione HIV-HCV delle cellule CD3+/CD30+ altera la loro produzione di citochine con uno spostamento della risposta immune dal tipo protettivo Th1, osservato quando queste cellule sono infettate solo da HCV, a quello Th2 che predispone alla cronicizzazione con attivazione di alcune citochine quali il TgFb che stimola le cellule stellate e quindi la fibrogenesi.

Il ruolo del livello di replicazione di HCV sulla velocità di progressione della malattia rimane ancora da definire anche se elevati livelli di viremia sono un fattore predittivo negativo di risposta al trattamento. I valori di viremia osservati in pazienti coinfeziti sono maggiori di 0,5-1 log di quelli presenti nei pazienti solo HCV-positivi e sono inversamente proporzionali al livello di immunodeficienza.

L'insufficienza epatica è comunque diventata una complicanza frequente nei pazienti co-infetti, dove valutando la gerarchia dei fattori di scompenso l'ascite è quella con la maggiore prevalenza. L'HCC, sta diventando sempre più frequente con caratteristiche diverse rispetto ai pazienti monoinfeziti infatti vi è una insorgenza in una età inferiore e un periodo di malattia di durata minore rispetto ai pazienti con solo HCV.

### **Raccomandazioni per il trattamento nei pazienti HIV-HCV**

L'efficacia del trattamento con l'associazione di peginterferone e ribavirina nel trattamento dell'epatite cronica C nei pazienti HIV positivi è stata comprovata nel corso di studi clinici randomizzati controllati (RCT) di grandi e piccole dimensioni. Esiste, quindi, un generale accordo sull'indicazione all'uso di questa terapia.

#### **a. La percentuale di risposta sostenuta varia dal 27% al 44%**

Per il genotipo 1/4 una marcata differenza tra l'interferone standard e quello peghilato è evidenziabile nel protocollo APRICOT (29% vs 7%) con il peginterferone alfa-2a (180 mcg/settimana) e 800 mg/die di ribavirina per 48 settimane di trattamento. In particolare lo studio APRICOT ha dimostrato che le percentuali di SVR nei pazienti coinfeziti variano non solo a seconda del genotipo, ma anche della carica virale iniziale di HCV. Infatti, se si stratificano i pazienti a seconda della viremia, si vede che la percentuale di SVR è alta (61%) anche nei soggetti con genotipo 1-4, se la viremia iniziale è inferiore alle 800.000 UI/ml. Negli altri studi effettuati con l'interferone alfa-2b ed in particolare nello studio RIBAVIC (3) dove la dose di interferone era 1,5 mcg/Kg/settimana e 800 mg/die di ribavirina per 48 settimane di trattamento la differenza tra il peginterferone ed il trattamento con interferone standard + ribavirina è stata del 17% vs 6%. Risultato diverso è stato osservato nello studio di Laguno e coll. dove usando una dose di peginterferone pari a 100/150 mcg/settimana di peginterferone alfa-2b e 1000/1200 mg/die di ribavirina per 48 settimane di trattamento si è avuta una

risposta del 38% vs il 7% ottenuto con l'interferone standard. Inoltre, anche questo studio ha mostrato che nel genotipo 1 i livelli iniziali di HCV-RNA influenzano la risposta. Uno studio italiano (ICOS), multicentrico,(5) in aperto è stato disegnato per valutare l'efficacia e la sicurezza del PEG-IFNalfa2b più RBV rispetto alla monoterapia con PEG-IFNalfa2b nei pazienti coinfecti in HAART e per analizzare i fattori predittivi di risposta. 135 pazienti sono stati randomizzati a ricevere PEG-IFNalfa2b 1,5 mcg/kg una volta la settimana più RBV 800 mg al giorno (n=69, braccio A) o PEG-IFNalfa2b 1,5 mcg/kg una volta la settimana (n=66, braccio B) per 48 settimane. 55 pazienti (28 del braccio A e 27 del braccio B) hanno completato le 48 settimane di terapia. Alla fine del trattamento, 20/28 pazienti del braccio A e 11/27 pazienti del braccio B mostravano HCV RNA <50 copie/ml. All'analisi intention-to-treat, la percentuale di SVR è stata del 11% nel braccio A rispetto al 9% del braccio B. La differenza in termini di SVR tra i due bracci non era significativa.

- b. Per il genotipo 2/3 una marcata differenza tra l'interferone standard e quello peghilato è evidenziabile nel protocollo APRICOT (20% vs 62%) con il peginterferone alfa-2a (180 mcg/settimana) e 800 mg/die di ribavirina per 48 settimane di trattamento. Negli altri studi effettuati con l'interferone alfa-2b questa differenza non sembra così evidente. Nello studio RIBAVIC dove la dose di peginterferone era 1,5 mcg/Kg/settimana e 800 mg di ribavirina per 48 settimane di trattamento non vi è stata alcuna differenza tra il peginterferone ed il trattamento con interferone standard + ribavirina (44%vs 43%). Stesso risultato è stato osservato nello studio di Laguno e coll dove usando una dose di interferone pari a 100/150 mcg/settimana di peginterferone alfa-2b e 1000/1200 mg/die di ribavirina per 24 settimane di trattamento si è avuta una risposta del 53% vs il 47% ottenuto con l'interferone standard. Nello studio ICOS la percentuale di SVR è stata del 34% nel braccio A rispetto al 9% del braccio B. La differenza in termini di SVR tra i due bracci non era significativa.

Le linee guida europee stilate nel corso della recente Consensus Conference di Parigi hanno stabilito che :

- Il trattamento con gli interferoni peghilati è raccomandato senza prima effettuare la biopsia epatica per i pazienti senza controindicazioni, per quelli motivati ad effettuare la terapia e per quelli con genotipo 2-3 o genotipo 1 con bassa viremia intesa come <800.000 UI/ml
- Il trattamento deve essere eseguito tenendo conto dell'esito della biopsia per i pazienti con genotipo 1 ed alta carica virale (>800.000 UI/ml)
- Il trattamento è raccomandato per una durata di 48 settimane sia per i genotipi 1-4 che per quelli 2-3.



## BIBLIOGRAFIA

1. Osservatorio europeo delle droghe e delle tossicodipendenze Relazione annuale 2006
2. Clerici M, Carta I, Cazzullo CL. Substance abuse and psychopathology. A diagnostic screening of Italian narcotic addicts. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 24: 219-226, 1989
3. Pani PP, Carta M, Rudas N. Eterogeneità psicopatologica nel tossicodipendente da oppiacei. *Minerva Psichiatrica* 32, 145-50, 1991
4. Pozzi G, Bacigalupi M, Tempesta E. Comorbidity of drug dependence and other mental disorders: a two-phase study of prevalence at outpatient treatment centres in Italy. *Drug and Alcohol Dependence*, 46: 69-77, 1997
5. Fioritti A, Ferri S, Galassi L, Warner R. Substance use among the mentally ill: a comparison of Italian and American samples. *Community Mental Health Journal*, 33: 429-42, 1997
6. Edlin B Prevention and treatment of Hepatitis C in Injection Drug Users. *Hepatology* 2002; 36:S210-S219
7. Edlin BR, Seal KH, Lorvick J, Kral AH, Ciccarone DH, Moore LD, LO B. Is it justifiable to withhold treatment hepatitis C from illicit-drug users? *N Engl J Med* 2001; 345: 211-14
8. Guadagnino V, Trotta MP, Carioti J, Caroleo B, Antinori A; for the Nocchiero Study Group. Does depression symptomatology affect medication compliance during the first weeks of anti-HCV therapy in intravenous drug users? *Dig Liver Dis.* 2006 Feb;38(2):119-24.
9. Backmund M, Meyer K, Von Zielonka M, Eichenlaub D. Treatment of hepatitis C infection in injection drugs users. *Hepatology* 2001; 34: 188-93
10. Sylvestre DL Treating hepatitis C in methadone maintenance patients: an interim analysis *Drug Alcohol Depend* 2002; 67: 117-123
11. Dalgard O, Bjoro K, Hellum K, Myrvang B, Skaug K, Gutigard B, Bell H. Treatment of chronic hepatitis C in injection drugs users: five years follow up *Eur Addict Res* 2002; 8:45-49
12. Sulkowski M, Wright T, Rossi S, Arora S, Lamb M, Wang K, Gries JM, Yalamanchili S. Peginterferon alfa-2a does not alter the pharmacokinetics of methadone in patients with chronic hepatitis C undergoing methadone maintenance therapy. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77:214-24.
13. Puoti M, Spinetti A, Ghezzi A, Donato F, et al Mortality for liver disease in patients with HIV infection: a cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2000 Jul 1;24(3):211-7.
14. Bruno R, Sacchi P, Puoti M, Soriano V, Filice G. HCV chronic hepatitis in patients with HIV: clinical management issues. *Am J Gastroenterol.* 2002 Jul;97(7):1598-606.
15. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, APRICOT Study Group. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2004 Jul 29;351(5):438-50.
16. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS.* 2004 Sep 3;18(13):F27-36.
17. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, RIBAVIC Study Team. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2004 Dec 15;292(23):2839-48.



18. Chung RT, Andersen J, Volberding P, et al AIDS Clinical Trials Group A5071 Study Team. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin versus interferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C in HIV-coinfected persons. *N Engl J Med.* 2004;351:451-459.
19. Cargnel A, Angeli E, Mainini A et al, Open, randomized, multicentre italian trial on PEG-IFN plus ribavirin versus PEG-IFN monotherapy for chronic hepatitis C in HIV-coinfected patients on HAART. *Antivir Ther.* 2005;10(2):309-17
20. Alberti A, Clumeck N, Collins S, et al. Short statement of the first european consensus conference on the treatment of chronic hepatitis b and c in hiv co-infected patients. *Journal of Hepatology* 42 (2005) 615–624



## LA TERAPIA DELLA EPATITE RICORRENTE DA HCV DOPO TRAPIANTO DI FEGATO

*Pierluigi Toniutto*

*DPMSC, Sezione di Epatologia e Trapianto di Fegato, Clinica di Medicina Interna  
Azienda Ospedaliero-Universitaria, Udine.*

### **Premessa**

L'infezione da virus dell'epatite C colpisce circa il 1.5%-2% della popolazione dei paesi industrializzati<sup>1</sup>. Una delle più importanti caratteristiche di questa infezione è l'alta probabilità di cronicizzazione, alla quale segue, in una considerevole percentuale di casi, lo sviluppo di cirrosi epatica ed epatocarcinoma (HCC)<sup>2</sup>. In base a queste prerogative, la cirrosi epatica con o senza HCC legata ad infezione da HCV è attualmente l'indicazione più frequente al trapianto di fegato (OLTx) non solo negli USA<sup>3</sup> ma anche in Europa.

Valutando la percentuale di sopravvivenza dei pazienti trapiantati per patologia da HCV rispetto a quelli sottoposti a OLTx per altre indicazioni, è emerso come i primi abbiano una sopravvivenza significativamente minore ad un follow-up di 5 anni<sup>4</sup>. Tale dato è legato alla costante reinfezione del graft da parte del virus<sup>5</sup>, la quale è in grado di provocare, a distanza di 5 anni dal trapianto, la ricomparsa di cirrosi nel 20%-30% dei pazienti<sup>6</sup>. La storia naturale della infezione ricorrente da HCV del graft si dimostra quindi nettamente più rapida e più severa rispetto a quanto accade al di fuori del contesto del trapianto di fegato<sup>7</sup>.

### **Caratteristiche biochimiche ed istologiche della reinfezione da HCV nel graft**

La reinfezione da HCV del graft è valutabile a livello virologico sia con l'aumento progressivo dei livelli plasmatici di viremia dopo il trapianto, sia evidenziando la presenza di antigeni virali di HCV nel graft. Per quanto concerne la determinazione del HCV-RNA nel siero, è stato dimostrato come già nella fase di riperfusione del graft sia determinabile una elevata viremia<sup>8</sup>, confermando come la reinfezione avvenga già nella fase intraoperatoria. E' stato evidenziato come i livelli di viremia determinati già il quarto giorno dopo il trapianto superavano quelli pre-trapianto e come il loro incremento era maggiore nei pazienti ai quali venivano somministrati corticosteroidi<sup>9</sup>. Analogamente, la ricerca tessutale degli antigeni di HCV permette di evidenziarli precocemente dopo il trapianto nelle biopsie del graft, rispettivamente nel 25% dei pazienti dopo 10 giorni dal trapianto e nel 50% dei pazienti dopo 3 settimane dal trapianto<sup>10</sup>.

Dal punto di vista degli esami biochimici una franca elevazione delle transaminasi legata alla reinfezione da HCV è abitualmente osservabile tra il primo e il terzo mese dopo il trapianto<sup>11</sup>. A questo punto praticamente tutti i pazienti presentano una positività per HCV-RNA nel siero e in oltre il 90% di essi sono evidenziabili antigeni di HCV nel tessuto del graft<sup>11</sup>.

Dal punto di vista istologico la reinfezione da HCV del graft è caratterizzata da un quadro di infiltrato infiammatorio portale e globulare, in associazione alla presenza di corpi di Councilman, analogamente a quanto è possibile osservare nella epatite da HCV al di fuori del contesto del trapianto. Questo quadro può evolvere verso una forma di epatite cronica con persistente anormalità dei livelli di transaminasi<sup>12</sup>.

Accanto a questo tipo di reinfezione, in meno del 10% dei pazienti, si assiste ad una sofferenza del graft caratterizzata dal punto di vista biochimico da un marcato incremento degli indici di colestatici e della bilirubina, accompagnati da ittero, denominata epatite colestatica da HCV<sup>13</sup>. Il decorso in questi casi è generalmente severo, causando una insufficienza epatica nell'arco di 6 mesi. Essa è più frequente in coloro che assumono alte dosi di steroidi o che sono stati trattati con OKT3<sup>12</sup>. Dal punto di vista istologico è caratterizzata da un quadro di colestatici con scarsi elementi flogistici, associato a ballooning epatocitario<sup>13</sup>. Infine, circa il 20%-30% dei pazienti mostrano un quadro biochimico di normalità dei livelli di transaminasi e non sviluppano nel tempo segni clinici di epatite<sup>7</sup>, benché sia ragionevole pensare che istologicamente, in analogia a quanto accade al di fuori del contesto del trapianto, un danno a lenta progressione sia dimostrabile<sup>14</sup>.

### *Trattamento antivirale della epatite ricorrente da HCV*

La elevatissima percentuale di reinfezione HCV del graft, associata allo sviluppo in oltre il 70% dei casi di una epatite cronica e in circa il 30% dei casi di una cirrosi epatica a distanza di 5 anni dal trapianto, giustifica il tentativo di attuare una terapia antivirale.

L'obiettivo primario della terapia in questo contesto dovrebbe essere quello di prevenire la reinfezione del graft o di eradicare la reinfezione nel momento in cui essa si instaura. Gli obiettivi secondari dovrebbero essere quelli di prevenire o ritardare lo sviluppo della cirrosi epatica e dello scompenso epatico legato allo sviluppo di cirrosi.

Nel valutare l'efficacia del trattamento antivirale nella epatite ricorrente da HCV del graft è importante considerare come nei dati della letteratura vi sia una notevolissima eterogeneità per quanto riguarda il timing e la durata del trattamento, la tipologia e la posologia dei farmaci impiegati. Oltre a questo è importante sottolineare come diversi siano gli end-points considerati, dal punto di vista istologico, virologico e biochimico.

Lo scopo di questa breve review è quello di descrivere e commentare i risultati ottenuti negli studi che hanno valutato l'efficacia della terapia antivirale iniziata dopo il trapianto di fegato nella epatite ricorrente da HCV.

Schematicamente è possibile suddividere il timing nel quale la terapia antivirale viene effettuata nel periodo post-trapianto in due momenti principali: a) molto precoce (giorni o settimane dopo il trapianto) e prima che compaiano i segni clinici, istologici e biochimici della epatite ricorrente, b) più tardiva, quando si siano già manifestati i segni clinici, biochimici ed istologici della epatite ricorrente.

#### *a) Terapia antivirale post-trapianto effettuata precocemente*

Il razionale clinico originario che giustificava l'inizio precoce della terapia antivirale dopo il trapianto di fegato era precedente ai dati derivanti dagli studi di cinetica virale post OLTx. L'assunzione di base era rappresentata infatti dalla convinzione che una terapia antivirale molto precoce potesse avere una valenza preventiva nella reinfezione del graft. Tale concetto, alla luce dei dati di cinetica virale dopo trapianto oggi disponibili<sup>8</sup>, non appare più sostenibile, in quanto la reinfezione del graft è già in atto nel periodo perioperatorio, rendendo di fatto inattuabile una strategia di terapia antivirale preventiva da iniziare nel periodo post trapianto. Attualmente quindi il termine improprio di terapia antivirale preventiva

applicato a questo schema terapeutico è stato sostituito con il termine più corretto di terapia antivirale preemptive. Il termine di terapia preemptive descrive la strategia terapeutica di trattare precocemente con farmaci antivirali i pazienti sottoposti a trapianto epatico, prima che sia clinicamente evidente la presenza non dell'infezione ma della epatite ricorrente del graft<sup>15, 16</sup>. Attualmente, il razionale che giustifica la strategia terapeutica preemptive è basato sostanzialmente sulla presunzione che l'efficacia antivirale di questo schema terapeutico possa essere maggiore rispetto a quella ottenibile nel trattare l'epatite ricorrente clinicamente manifesta. La motivazione di questa convinzione si basa sul fatto che la terapia preemptive, in quanto iniziata precocemente, verrebbe impiegata in presenza di una bassa carica virale di HCV ed in assenza di fibrosi del fegato<sup>17</sup>. E' noto infatti che questi due fattori si associano ad una maggiore percentuale di risposta virologica sostenuta (SVR) alla terapia antivirale nel contesto dei pazienti HCV positivi immunocompetenti<sup>18</sup>. Se concettualmente il razionale "virologico" ed "istologico" di trattare precocemente con la terapia antivirale i pazienti sottoposti a OLTx per infezione da HCV può essere sostenibile, non è possibile dimenticare alcune considerazioni opposte, che viceversa lo rendono maggiormente problematico. Queste sono rappresentate dalla concreta possibilità che l'efficacia della terapia antivirale effettuata precocemente possa essere ridotta a causa dei più elevati livelli di immunosoppressione, tipici della fase precoce post trapianto, e che la sua tollerabilità sia ridotta a causa della concomitante presenza di complicanze precoci del trapianto quali ad esempio le infezioni, la compromessa funzione renale e la presenza di anemia e leuco-piastrinopenia. In aggiunta, il rischio di rigetto acuto è maggiore nelle fasi precoci dopo il trapianto e l'impiego di un farmaco ad azione immunomodulante come l'interferone potrebbe teoricamente incrementare significativamente tale rischio<sup>17</sup>. Considerando infine che solamente circa un terzo dei pazienti sottoposti a OLTx svilupperanno una forma severa di epatite ricorrente da HCV, tale da comportare lo sviluppo di cirrosi del graft dopo 5 anni dal trapianto, la terapia preemptive attuata su tutti i pazienti, inevitabilmente esporrebbe a rischi inutili anche i pazienti nei quali il decorso dell'infezione risulterebbe spontaneamente più favorevole.

Negli studi che hanno valutato l'efficacia e la tollerabilità della terapia antivirale preemptive nella epatite ricorrente da HCV dopo trapianto di fegato, numerosi sono stati i regimi terapeutici impiegati. In letteratura sono presenti 3 studi randomizzati e controllati che hanno considerato l'impiego della monoterapia con interferone alfa (IFN- $\alpha$ ) versus la non terapia: due con IFN- $\alpha_{2b}$  e uno con interferone alfa peghilato (PEG-IFN- $\alpha$ )  $\alpha_{2a}$  nella epatite ricorrente da HCV. Le principali caratteristiche e i principali risultati di questi studi sono riassunti nella tabella 1. Nello studio di Sheiner et al.<sup>19</sup> l'impiego della monoterapia con IFN- $\alpha_{2b}$  per 12 mesi si è associato ad una ritardata comparsa della epatite ricorrente e ad una minore severità istologica della stessa rispetto a quanto osservato nei pazienti non trattati. Lo studio di Chalasani et al.<sup>20</sup> ha evidenziato come nei soggetti trattati con PEG-IFN- $\alpha_{2a}$ , i livelli medi di HCV-RNA nel siero erano significativamente più bassi e che una maggior proporzione di pazienti trattati evidenzia una progressione della fibrosi epatica più lieve rispetto ai soggetti non trattati. Un dato importante deriva dall'analisi dello studio di Singh et al.<sup>21</sup> dove la monoterapia con IFN- $\alpha_{2b}$  condotta per soli 6 mesi non ha dimostrato alcuna maggior efficacia in ciascuno degli end points considerati, rispetto ai soggetti non trattati. E' da considerare come tuttavia in tutti gli studi che hanno impiegato la monoterapia con IFN o con PEG-IFN la SVR è risultata essere assai scarsa, a fronte di una considerevole quota di pazienti che ha dovuto sospendere la terapia a causa di importanti effetti collaterali. I principali risultati degli

studi di terapia preemptive che hanno impiegato la combinazione di IFN o PEG-IFN con ribavirina (RIB) sono riassunti nella tabella 2. Da questi studi è possibile commentare alcuni importanti aspetti. Nello studio di Shergill et al.<sup>16</sup>, che rappresenta quello con maggior numero di pazienti, appare importante il dato che solo il 41% dei 124 pazienti sottoposti allo screening per ricevere la terapia antivirale preemptive soddisfacevano i criteri per poterla effettuare. I pazienti sottoposti a trapianto di fegato da donatore vivente viceversa erano eleggibili alla terapia antivirale preemptive con maggiore frequenza rispetto a quelli che ricevevano un graft da donatore cadavere. Questa differenza era spiegata dalla dimostrazione che i pazienti maggiormente eleggibili alla terapia preemptive erano coloro che presentavano al momento del trapianto un basso punteggio dello score di MELD, evenienza come noto più frequente nei candidati a ricevere un trapianto da donatore vivente. Questo concetto è stato bene evidenziato nello studio di Sugurawa et al.<sup>22</sup> che ha considerato 23 pazienti trapiantati con fegato da donatore vivente, nei quali, seppur con una analisi intention to treat, la SVR è risultata nettamente più elevata di quanto osservato negli altri studi.

In conclusione, la terapia antivirale preemptive non è applicabile in tutti i pazienti sottoposti a trapianto di fegato per infezione da HCV; i potenziali migliori candidati appaiono i soggetti con malattia epatica meno severa al momento del trapianto. I dati disponibili della letteratura indicano che nell'ambito della terapia antivirale preemptive, l'efficacia della combinazione con IFN o PEG-IFN e RIB è superiore rispetto alla monoterapia con IFN. La scarsa tollerabilità della terapia rimane un punto importante, in quanto la percentuale dei pazienti nei quali è necessaria una riduzione del dosaggio o una sospensione completa dei farmaci antivirali rimane molto elevata e legata preferenzialmente alla concomitante presenza di leuco-piastrinopenia nelle fasi precoci post trapianto. La frequente presenza di una riduzione della funzionalità renale in questo contesto rende inoltre maggiormente problematico l'impiego della RIB. La terapia antivirale preemptive non dovrebbe essere considerata la terapia di scelta nella epatite ricorrente da HCV in quanto le percentuali di SVR ottenibili non sono significativamente maggiori rispetto a quelle ottenibili dall'impiego della terapia antivirale con inizio più tardivo. Tuttavia, per avvalorare in maniera scientifica questa affermazione sarebbe necessario avere a disposizione i dati di trials clinici randomizzati e controllati che confrontino l'efficacia e la tollerabilità della terapia antivirale preemptive rispetto a quella iniziata nelle fasi più tardive dopo il trapianto, in cui l'epatite ricorrente è manifesta clinicamente ed istologicamente.

### ***b) Terapia antivirale post-trapianto effettuata in corso di manifesta epatite ricorrente***

Come per la terapia preemptive, anche in questo caso, la valutazione dell'efficacia e della tollerabilità della terapia antivirale risente della estrema variabilità della posologia, della durata, del timing di somministrazione, e degli end-points presi in considerazione nei vari studi pubblicati in letteratura, per la maggior parte non controllati.

Nonostante non sia ancora chiaro quale sia il timing ottimale per iniziare la terapia antivirale, la decisione di iniziare a trattare il paziente nel momento in cui l'epatite ricorrente del graft è istologicamente manifesta, rappresenta la modalità di trattamento più seguita. Nella maggior parte degli studi in questo ambito infatti l'inizio della terapia antivirale avviene dopo un tempo medio dal trapianto di circa 6 mesi e in presenza di una istologia epatica probante per una ricorrenza epatitica nel graft. Gli studi che hanno

impiegato la monoterapia con IFN<sup>23-26</sup> o con PEG-IFN<sup>20</sup>, dei quali le principali caratteristiche sono riportate nella tabella 3, hanno dimostrato come la percentuale di SVR ottenibile fosse estremamente bassa e tale da non giustificare il ricorso a questo tipo di approccio terapeutico. I dati di efficacia antivirale della terapia di combinazione con IFN<sup>27-39</sup> o PEG-IFN<sup>40-49</sup> con la RIB derivano da numerose osservazioni largamente appartenenti a studi non randomizzati e controllati. I principali risultati degli studi che hanno valutato l'efficacia della terapia antivirale di combinazione impiegando l'associazione di IFN e RIB sono riportati nella tabella 4, mentre nella tabella 5 sono riportati i principali risultati degli studi che hanno impiegato la terapia di combinazione con PEG-IFN e RIB. I risultati degli studi pubblicati in letteratura suggeriscono che la terapia di combinazione con IFN e RIB è in grado di ottenere una SVR compresa tra il 20% e il 35%, mentre la terapia di combinazione con PEG-IFN e RIB, è in grado di determinare una SVR compresa tra il 17% e il 45%. Il confronto tra queste percentuali deve essere fatto con molta cautela, in quanto non sono disponibili trials clinici randomizzati e controllati che confrontino "testa a testa" le percentuali di SVR ottenibili con i due diversi schemi terapeutici. Un nostro studio<sup>41</sup> che ha analizzato 24 pazienti trattati per epatite ricorrente da HCV del graft, ha confrontato in maniera non randomizzata, i risultati di SVR ottenuti con i due diversi schemi di terapia di combinazione, impiegando IFN- $\alpha$  e PEG-IFN- $\alpha$  in associazione alla RIB. Non è stata notata alcuna differenza significativa in termini di SVR nei due gruppi di trattamento, mentre un dato significativo è risultato essere la maggiore tossicità del PEG-IFN- $\alpha$  rispetto al IFN- $\alpha$ . Il dato della maggiore tossicità della terapia antivirale nel contesto del trapianto epatico appare essere concorde nelle varie esperienze e spesso è legata allo sviluppo di anemia legata all'impiego della RIB. La tossicità ematologica della terapia antivirale condiziona in maniera pesante la possibilità di utilizzare dosaggi terapeutici sia di RIB che di IFN- $\alpha$  o PEG-IFN- $\alpha$  e costringe una considerevole quota di pazienti a sospendere il trattamento o a ridurre ulteriormente il dosaggio dei farmaci impiegati<sup>50</sup>. Nonostante alcuni studi avessero indicato come l'impiego del IFN- $\alpha$  potesse indurre un aumento del rischio di rigetto acuto, tale dato non appare essere confermato da studi più recenti<sup>20, 34</sup>. Un recente report indicherebbe come l'impiego del PEG-IFN- $\alpha$  nella terapia dell'epatite ricorrente da HCV si associ allo sviluppo più frequente di epatite autoimmune "de novo" nel graft<sup>51</sup>. Molto più difficile da valutare è il beneficio della terapia antivirale in questo contesto rispetto al miglioramento istologico del graft. Nell'unico studio randomizzato che ha valutato l'efficacia della terapia antivirale di combinazione con IFN- $\alpha$  e RIB versus nessun trattamento, a fronte di una percentuale di SVR del 21% nei soggetti trattati versus 0% nel gruppo non trattato, alla fine del follow-up non è stata dimostrata alcuna differenza significativa in termini di punteggio di staging alla biopsia del graft<sup>34</sup>. Negli studi che hanno valutato i pazienti con SVR dopo un lungo periodo di follow-up compreso tra 3 e 5 anni, è emerso come i punteggi di fibrosi epatica fossero per la maggior parte stabili e in una piccola quota di pazienti migliorati rispetto al basale<sup>40, 52</sup>. Un dato importante da sottolineare è come in circa il 20% dei pazienti che ha ottenuto una SVR, nel lungo follow-up istologico sia osservabile ugualmente un peggioramento della quota di fibrosi del graft<sup>53</sup>.

Un ulteriore punto importante è rappresentato dalla identificazione della durata ottimale della terapia. Nella maggior parte degli studi la durata della terapia antivirale è stata di 12-15 mesi. Dovendo trattare pazienti immunosoppressi cronicamente, una durata maggiore della terapia antivirale potrebbe idealmente ridurre la frequenza di relapse nei pazienti che ottengono una risposta virologica al termine della

terapia (ETR). In uno studio che ha analizzato 15 pazienti che avevano ottenuto una ETR, la persistenza del HCV-RNA nel tessuto epatico era in grado di predire lo sviluppo di relapse, mentre la sua assenza era in grado di predire l'ottenimento di una SVR<sup>44</sup>.

Analogamente a quanto osservato nella terapia della epatite cronica HCV relata nei pazienti immunocompetenti, anche nel contesto del trapianto epatico due fattori squisitamente virologici quali il genotipo e la carica virale, si sono dimostrati in grado di influenzare pesantemente la risposta alla terapia antivirale, in quanto le percentuali di SVR si sono dimostrate significativamente minori nei pazienti con genotipo 1<sup>34, 37</sup>. Il valore predittivo positivo di una risposta virologica precoce, determinata dopo tre mesi di terapia, nell'ottenere una SVR, si è dimostrato importante anche nel contesto del trapianto epatico. Nei due studi che hanno valutato questo aspetto, la maggior parte dei pazienti trattati con terapia antivirale che aveva ottenuto una SVR presentava una viremia HCV negativa al terzo mese di terapia<sup>42, 43</sup>.

### *Conclusioni*

Le epatopatie croniche terminali legate all'infezione da HCV rimangono l'indicazione più frequente al trapianto di fegato negli USA e in Europa. La attuale strategia terapeutica nel curare la ricorrenza della epatite HCV relata del graft rimane insoddisfacente. Considerando le attuali opzioni terapeutiche da impiegare nel periodo post-trapianto, la somministrazione della terapia antivirale ai pazienti che presentano una recidiva epatitica istologicamente e clinicamente precoce sembra essere giustificata. Analogamente è raccomandabile trattare con terapia antivirale i pazienti che presentano una progressione cronica del danno istologico del graft legato alla ricorrenza epatitica. La terapia antivirale di combinazione con IFN e RIB si è dimostrata superiore in termini di SVR rispetto alla monoterapia con IFN, anche se la percentuale di SVR rimangono insoddisfacenti. Percentuali di SVR superiori sono ottenibili con l'impiego della combinazione di PEG-IFN e RIB, tuttavia largamente inferiori a quelle ottenibili nella terapia dei pazienti immunocompetenti.

La durata ottimale della terapia antivirale e l'utilizzo di fattori di crescita granulocitari e della eritropoietina, per ridurre gli effetti della tossicità midollare della terapia, rimangono due importanti questioni aperte che richiedono di essere valutate in studi futuri.

Considerando che attualmente la risposta alla terapia antivirale nella epatite ricorrente da HCV dopo trapianto di fegato è insoddisfacente è auspicabile l'impiego in questo contesto di nuove strategie terapeutiche con l'utilizzo di nuovi farmaci antivirali in combinazione con quelli attualmente disponibili. La possibilità di trattare i pazienti prima del trapianto, al fine di ridurre o negativizzare la carica virale al momento del trapianto appare una strategia promettente, anche se attuabile in una minoranza dei pazienti, nel ridurre la frequenza e la severità della epatite ricorrente del graft. La possibilità di accoppiare questa strategia ad una terapia di profilassi della reinfezione del graft, da attuare nel periodo peri-trapiantologico rappresenta un'ulteriore potenzialità terapeutica da valutare nel prossimo futuro.

**Tabella 1.** Principali caratteristiche e risultati degli studi pubblicati sulla terapia preemptive della epatite ricorrente da HCV dopo trapianto di fegato (OLTx), che hanno impiegato la monoterapia con interferone alfa (IFN- $\alpha$ ).

Autore	Studio	Regime	N. pz.	Inizio terapia da OLTx (settimane)	Sospensione della terapia	SVR	Rigetto
Sheiner et al. <sup>19</sup>	RCT	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, 12 mesi	30-41	3	33%	NR	57%-56%
Singh et al. <sup>21</sup>	RCT	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, 6 mesi	12-12	2	0%	0%-0%	50%-42%
Chalasani et al. <sup>20</sup>	RCT	PEG-IFN- $_{2a}$ 180 mcg qwk, 12 mesi	26-28	3	31%	8%-0%	12%-21%

RCT = studio randomizzato e controllato di confronto tra terapia antivirale Vs nessun trattamento.

SVR = risposta virologica sostenuta (HCV-RNA negativo dopo 6 mesi dal termine della terapia)

NR = non riportato

**Tabella 2.** Principali caratteristiche e risultati degli studi pubblicati sulla terapia preemptive della epatite ricorrente da HCV dopo trapianto di fegato (OLTx), che hanno impiegato la terapia di associazione con interferone alfa (IFN- $\alpha$ ), interferone alfa peghilato (PEG-IFN- $\alpha$ ) e ribavirina (RIB).

Autore	Studio	Regime	N. pz.	Inizio terapia da OLTx (settimane)	Riduzione o sospensione della terapia	SVR	Rigetto
Mazzaferro et al. <sup>54</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 10 mg/Kg, 12 mesi	36	3	47%	33%	0%
Shergill et al. <sup>16</sup>	RCT	IFN- $\alpha_{2b}$ or PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ Vs IFN- $\alpha_{2b}$ or PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ plus RIB, 12 mesi <sup>1</sup>	22-22	2-6	85%-37%	4%-18%	NR
*Sugawara et al. <sup>22</sup>	UNC	IFN- $_{2b}$ 3 MU tiw 12 mesi plus RIB 400-600 mg qd	23	4	35%	39% <sup>§</sup>	NR

\*Studio effettuato su riceventi un organo da donatore vivente

UNC = studio non controllato; RCT = studio randomizzato e controllato.

<sup>1</sup>Confronto tra IFN- $\alpha_{2b}$  3 MU tiw o PEG-IFN- $\alpha_{2b}$  1.5 mcg/Kg qwk versus IFN- $\alpha_{2b}$  3 MU tiw o PEG-IFN- $\alpha_{2b}$  1.5 mcg/Kg Qwk in associazione a RIB 600-1200 mg qd.

SVR = risposta virologica sostenuta (HCV-RNA negativo dopo 6 mesi dal termine della terapia)

<sup>§</sup>Analisi intention to treat

NR = non riportato

**Tabella 3.** Principali caratteristiche e risultati degli studi pubblicati sulla terapia della epatite ricorrente da HCV dopo trapianto di fegato (OLTx), che hanno impiegato la monoterapia con interferone alfa (IFN- $\alpha$ ) o interferone alfa peghilato (PEG-IFN- $\alpha$ ).

<b>Autore</b>	<b>Studio</b>	<b>Regime</b>	<b>N. pz.</b>	<b>SVR</b>	<b>Rigetto</b>
<b>Wright et al.<sup>23</sup></b>	<b>UNC</b>	<b>IFN-<math>\alpha_{2b}</math> 3 MU tiw, 6 mesi</b>	<b>11</b>	<b>0%</b>	<b>0%</b>
<b>Wright et al.<sup>24</sup></b>	<b>UNC</b>	<b>IFN-<math>\alpha_{2b}</math> 3 MU tiw 4 mesi</b>	<b>18</b>	<b>0%</b>	<b>4%</b>
<b>Feray et al.<sup>25</sup></b>	<b>UNC</b>	<b>IFN-<math>\alpha_{2b}</math> 3 MU tiw 6 mesi Vs storico non terapia</b>	<b>14-32</b>	<b>7%-0%</b>	<b>35%-3%</b>
<b>Gane et al.<sup>26</sup></b>	<b>RCT</b>	<b>IFN-<math>\alpha_{2b}</math> 3 MU tiw 6 mesi Vs RIB 1200 mg qd, 6 mesi</b>	<b>14-16</b>	<b>NR</b>	<b>0%-0%</b>
<b>Chalasanani et al.<sup>20</sup></b>	<b>RCT</b>	<b>PEG-IFN-<math>\alpha_{2a}</math> 180 mcg qwk, 12 mesi Vs non terapia</b>	<b>34-33</b>	<b>12%-0%</b>	<b>12%-0%</b>

UNC = studio non controllato; RCT = studio randomizzato e controllato.

SVR = risposta virologica sostenuta (HCV-RNA negativo dopo 6 mesi dal termine della terapia)

NR = non riportato

**Tabella 4.** Principali caratteristiche e risultati degli studi pubblicati sulla terapia antivirale della epatite ricorrente da HCV dopo trapianto di fegato (OLTx), che hanno impiegato la terapia di associazione con interferone alfa (IFN- $\alpha$ ) e ribavirina (RIB).

Autore	Studio	Regime	N. pz.	Riduzione o sospensione della terapia	SVR	Istologia nei SVR
Bizzollon et al. <sup>27</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 1000 mg qd, 12 mesi	54	NR	26%	Migliorata nel 86%
Gotz et al. <sup>28</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 12mg/Kg qd, 12 mesi	10	0%	NR	NR
Gopal et al. <sup>29</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 1-3 MU tiw RIB 600-1200 mg qd*	12	NR	8%	NR
Alberti et al. <sup>30</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 600 mg qd, 12 mesi	18	22%	27%	Ridotto il grading
Narayanan et al. <sup>31</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 800-1000 mg qd, 12 mesi	26	50%	35%	Ridotto il grading
Ahmad et al. <sup>32</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3-5 MU tiw, RIB 1200 mg qd, 12 mesi	20	25%	20%	Aumentato lo staging
Shakil et al. <sup>33</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 800 mg qd, 18 mesi <sup>§</sup>	38	42%	7%	Invariata
Samuel et al. <sup>34</sup>	RCT	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 1000-1200 mg qd, 12 mesi	28	43%	21%	Invariata
Lavezzo et al. <sup>35</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 800 mg qd, 6 o 12 mesi	27-30	5%	22%-18%	Ridotto il grading
Firpi et al. <sup>36</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 800-1000 mg qd, 12 mesi	54	6%	30%	Ridotto il grading
Giostra et al. <sup>37</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 10 mg/Kg qd, 15 mesi**	31	29%	29%	Ridotto il grading
Berenguer et al. <sup>38</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 1.5-3 MU tiw, RIB 600-1200 mg qd, 12- 18 mesi***	24	29%	12%	Invaraita
Mukherjee et al. <sup>39</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw, RIB 1000-1200 mg qd, 12 mesi	38	37%	26%	Invariata

\*Durata della terapia variabile da 39 a 515 giorni

§Durata di 12 mesi di combinazione IFN e RIB, seguita da altri 6 mesi di monoterapia con RIB

\*\*Durata di 3 mesi con sola RIB e successivamente 12 mesi con terapia di associazione IFN e RIB

\*\*\*Durata di 12 mesi con terapia di combinazione IFN e RIB, successivamente 6 mesi di monoterapia con RIB

UNC = studio non controllato; RCT = studio randomizzato e controllato.

SVR = risposta virologica sostenuta (HCV-RNA negativo dopo 6 mesi dal termine della terapia). NR = non riportato

**Tabella 5.** Principali caratteristiche e risultati degli studi pubblicati sulla terapia antivirale della epatite ricorrente da HCV dopo trapianto di fegato (OLTx), che hanno impiegato la terapia di associazione con interferone alfa peghilato (PEG-IFN- $\alpha$ ) e ribavirina (RIB).

Autore	Studio	Regime	N. pz.	Riduzione o sospensione della terapia	SVR	Istologia nei SVR
Abdelmalek et al. <sup>40</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 1.5-3 MU tiw o PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ , 90-180 mcg qwk plus RIB 400-1000 mg qd, 12 mesi	119	NR	24%	Migliorata
Toniutto et al. <sup>41</sup>	UNC	IFN- $\alpha_{2b}$ 3 MU tiw o PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 0.5 mcg/kg qwk plus RIB 600-800 mg qd, 12 mesi	24	50%	NR	NR
Castells et al. <sup>42</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 1.5 mcg/kg qwk plus RIB 600 mg qd, 6-12 mesi	24	NR	8%	NR
Dumortier et al. <sup>43</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 0.5-1.0 mcg/kg qwk plus RIB 400-1200 mg qd, 12 mesi	20	20%	45%	Migliorata
Neff et al. <sup>44</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 1.5 mcg/kg qwk plus RIB 400-600 mg qd, 12 mesi	57	16%	NR	NR
Rodriguez-Luna et al. <sup>45</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 0.5-1.0 mcg/kg qwk plus RIB 400-1000 mg qd, 12 mesi	37	37%	26%	Migliorato il grading
Ross et al. <sup>46</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 1.5 mcg/kg qwk plus RIB 800-1200 mg qd, 12 mesi	16	6%	NR	NR
Biselli et al. <sup>47</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 1.0 mcg/kg qwk plus RIB 600 mg qd, 6-12 mesi	20	45%	45%	NR
Fernandez et al. <sup>48</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 1.5 mcg/kg qwk plus RIB 800-1000 mg qd, 12 mesi	47	21%	23%	Migliorato il grading
*Bizollon et al. <sup>49</sup>	UNC	PEG-IFN- $\alpha_{2b}$ 1.5 mcg/kg qwk plus RIB 800-1000 mg qd, 12 mesi	27-21	7%-0%	30%	Migliorato lo staging nei trattati

UNC = studio non controllato. SVR = risposta virologica sostenuta (HCV-RNA negativo dopo 6 mesi dal termine della terapia). NR = non riportato

\*Lo studio è stato effettuato su un campione di pazienti non responders ad un preventivo tentativo di terapia con IFN- $\alpha$  e RIB. I risultati ottenuti nei 27 soggetti trattati sono stati confrontati con quelli osservati in 21 pazienti non trattati, arruolati nello stesso periodo. L'analisi della SVR è stata effettuata come intention to treat.



## NEW KIDS ON THE BLOCKS FOR ANTI-HCV THERAPY

*Alessio Aghemo and Massimo Colombo*

*A. M. Migliavacca Center for Liver Disease, Division of Gastroenterology, Department of Medicine, IRCCS Maggiore Hospital, University of Milan, Milan, Italy.*

### **Corresponding Author**

Massimo Colombo MD

### INTRODUCTION

There are several products being developed to address the current need within the difficult-to-treat HCV infected patient population and to further increase the rate of success in easy-to-treat patients with HCV. Only a few molecules, however, have reached phase 3 studies.

#### 1. IMMUNOMODULATORY AGENTS

These include anti-HCV immunoglobulin (Ig), vaccines, interferons (IFNs), immunoenhancers like toll-like receptor agonists and ribavirin (Rbv)-like agents.

##### Ig and vaccines

Passive immunization is the basis for prevention and modification of hepatitis B in liver transplant recipients. HCV infection might be similarly prevented/modified by specific antibodies. In principle, antibodies that neutralize immunodominant epitopes, like the CD81 binding region of the envelope E2 of HCV, should protect susceptible liver cells and other target cells from HCV infection. Due to the poor results with IFN therapy of the infected grafts, prevention of HCV transmission to liver transplant recipients would be a major achievement, since the rate of HCV progression leading to graft failure after transplantation may be as high as 25% after just 5 years. Passively administered polyclonal Ig reduced the risk of HCV transmission in HBV transplanted patients (Farci 1996) and in sexually-exposed partners of HCV seropositive individuals (Piazza 1997). Polyclonal Ig from HCV donors with high titers of anti-E Ig (Civacir, Nabi) prevented/delayed acute infection in chimpanzees (Yu 2004), but failed to prevent graft reinfection in phase I studies of liver transplant recipients (Willems 2002; Davis 2005). The same was true, in a proof-of-concept study of a combination of anti-HCV monoclonal Ig (Schiano 2006). Since poor performance of HCV specific Ig could relate to the use of insufficient amounts of antibody and high levels of circulating HCV-RNA in liver transplanted patients, more studies are needed to clarify whether high cumulative doses of a mixture of Ig with a second monoclonal antibody that binds to a different E2 epitope, and pharmacological suppression of serum HCV-RNA may result in better outcomes of anti-HCV prophylaxis in the liver transplant setting.

The therapeutic use of HCV Ig is under evaluation, too. In a phase I study, single and multiple infusions (up to 120 mg) of combination of neutralizing human monoclonal anti-HCV Ig (HCV-Ab 68, XTL Biopharmaceuticals Ltd), which bind to a conformational epitope on the E2 protein and precipitate viral particles of different genotypes, caused a modest, transient decrease (~ 1 log decrease) in HCV-RNA levels in patients with chronic hepatitis C who were dosed for 4 weeks (Galun 2007). A pilot clinical study to demonstrate the antiviral activity of a combination of anti-HCV monoclonal antibodies directed against different epitopes of the envelope E2 of the virus in patients with chronic hepatitis C is currently ongoing.



Active immunoprophylaxis is another option for neutralization of extracellular HCV, but is limited by several factors including isolate specific ability of neutralizing anti-E antibodies, and the lack of suitable models for testing the efficacy of such a vaccine. A E1-E2 heterodimeric vaccine administered 4 times within a 1-year period to healthy volunteers led to the appearance of anti-E1-E2 and CD81 antibodies (Di Bisceglie 2005). In a phase 2 study when 35 patients with chronic hepatitis C were randomized to receive multiple doses of 20 mcg of recombinant E1 vaccine (Innogenetics n.v.), 38% had a significant improvement of histological scores for liver inflammation with a parallel increase in anti-E1 antibody levels (Nevens 2003). In a phase 2 study, the synthetic IC41 vaccine (Intercell, AG) incorporating 5 epitopes of HCV was well tolerated and capable of inducing IFN- $\gamma$  cytotoxic and T-helper immunoresponses in prior non responders to anti-HCV therapy (Manns 2004). All these data generate renewed optimism regarding future treatment options for HCV infected patients, since the combination of virus-neutralizing antibodies and chemotherapy likely better prevents the development of clinically significant resistance than the use of antiviral agents alone (Seiler 2000).

#### New IFNs and IFN inducers

In the search for IFN molecules with improved half-life leading to longer dosing intervals and better patient compliance to therapy, Albuferon (Alb-IFN, HGS Novartis), resulting from the genetic fusion of IFN alfa 2b with human serum albumin, is being currently tested in phase 2 and 3 trials. In a sequential, dose-ranging phase 1/2 study in treatment experienced patients, alb-IFN at doses up to 1200 mcg demonstrated safety and antiviral activity (Balan 2006). In a phase 2 study in naïve patients with HCV-1 infection (Bain 2006) subcutaneous injections of alb-IFN 14 days apart caused a 2 log<sub>10</sub> IU/ml or greater reduction in HCV-RNA at week 4 in 69% of the patients treated with 900 to 1200 mcg. This compares favourably with the reported virological response rate at week 4 of approximately 42% for both Peg-IFN alfa 2a and alfa 2b in combination with ribavirin in genotype 1 HCV. The median terminal half life was 141, and antiviral activity was maintained for 28 days, supporting dosing every 4 weeks. At all doses evaluated, the viral kinetics demonstrated a biphasic response comparable to that of Peg-IFN alfa. One patient (2%) developed antibodies to human serum albumin, without any reductions in serum albumin levels or change in serum complement levels. Unfortunately, Alb-IFN seems to have a potent myelosuppressive effect with neutropenia developing in 23% of the treated patients. Alb-IFN is currently being investigated in phase 3 trials.

Other IFNs (IFN alfacon-1, Infergen, Amgen and Interimmune/Yamanouchi and gene-shuffled IFN) could have better intrinsic antiviral efficacy than IFN alfa-2a and 2b. However, phase 2 studies are not showing real advantage for these new compounds, since they are likely to have similar delivery issues and side-effects profiles that are common with this class of immunomodulatory molecules.

The oral nucleoside analogue isotoribine (Ana 245, Anadys Ph) is a toll-like receptor 7 agonist that is believed to induce the IFN system. A prodrug (Ana 975) with greater oral bioavailability than ANA 245 is under evaluation. The oligodeoxy nucleotide CPG-10101 (Actilon, Coley Ph) is a toll-like receptor 9 agonist that modulates host innate and adaptive immunoresponses, as well. Despite phase 1 studies demonstrated weak antiviral activity of these compounds (~ 1 log<sub>10</sub> reduction of HCV-RNA), phase 2 studies in treatment-experienced patients are in progress.



The last category of immunomodulators being under clinical evaluation, are Rbv-like molecules. The intrinsic toxicity of Rbv is in fact an issue, since it accounts for non compliance or premature treatment discontinuation while receiving combination therapy. Virmidine (Taribavirin, Valeant Ph) is an inactive prodrug of Rbv that is activated through deamination in the liver cells by adenosine deaminase and is poorly uptaken by erythrocytes, thus resulting in reduced hemolytic anemia. In a phase 2 proof-of-concept study of 180 treatment-naïve patients, the Peg-IFN alfa + 600 mg daily virmidine group exhibited similar 24 wk viral response rates (37% vs 44%) as patients receiving standard combination therapy, but less anemia (4% vs 27%) (Gish 2005). A phase 3 study (Viser 1) of 970 treatment-naïve patients with multiple genotypes (Benhamou 2006), however, did not meet the non-inferiority efficacy end-point on ITT basis (600 mg virmidine 38% vs weight-based doses of Rbv: 52%, both in association with Peg-IFN 2b 1.5 mcg/Kg). The rate of anemia (Hb < 10 g/dl) was 5% with Virmidine vs 24% with Rbv. Another phase 3 study (Viser 2) of 962 patients receiving 180 mcg Peg-IFN alfa 2a with the same criteria as in Viser 1 confirmed the safety advantage of Virmidine over Rbv, but did not meet the non-inferiority end-point on ITT analysis. Both studies showed a relationship between exposure to virmidine and SVR rates, suggesting the existence of a clear dose response. Therefore, a phase 2 study was designed in treatment naïve, genotype 1 patients to compare weight-based doses of virmidine (20 to 30 mg/Kg/day) with 1 or 1.2 gr Rbv associated to Peg-IFN alfa 2b. The general message of these investigations is that Rbv is impossible to circumvent in the current anti-HCV therapeutic strategies.

### PROTEASE INHIBITORS

During HCV replication, the large polyprotein of HCV is processed by cellular and viral proteases into numerous polypeptides. The viral NS3/NS4A protease impairs activation of IFN regulatory factors necessary for inducing IFN-related, innate defense against HCV, thus facilitating virus spread into the liver. Inhibition of HCV protease, therefore, might be important from a therapeutic point of view. Protease inhibitors (PI) belong to the broader group of Specifically Targeted Antiviral Therapies for hepatitis C (STAT-C), that directly target HCV, aiming at disrupting steady-state HCV replication kinetics. BILN2061 (Ciluprevir, Boehringer) was one of the first PIs to have been clinically studied, but it was halted following demonstration of significant cardiotoxicity in animals.

The orally bioavailable VX-950 (Telaprevir, Vertex) appears free of major side effects and significantly reduces HCV-RNA within days, causing more than 4 log decrease in HCV-RNA. Unfortunately, this drug requires every 8 hours administration and may be associated with rebound due to the emergence of mutant genotypes (A156 S/V/T, V36M/4 and R155 K/T). Although mutants are sensitive to IFN (Reesink 2006; Kieffer 2006), they may create problems of cross resistance with other STAT-C molecules like SCH503034. To prevent resistance, VX-950 was administered in combination with Peg-IFN (Lawitz 2006) with further increase to 5.5 log reduction in median HCV-RNA and elimination of HCV-RNA rebound. In a phase 2b triple therapy study, 750 mg of Telaprevir Q8h caused HCV-RNA clearance in all genotype 1 treatment naïve patients by day 28. Subsequently, two large phase 2b studies (Prove 1 in US and Prove 2 in UE) have assessed safety and effectiveness of triple therapy with various schedules of treatment. Phase 3 studies are near to start in both US and UE. The Schering-Plough compound SC-503034 has reached the phase 1 and 2 demonstrating potent activity in genotype 1 IFN expe-



rienced patients (Zeuzem 2005). The largest decline was observed in the group administered 400 mg 3 times daily ( $\geq 2 \log_{10}$  reduction) compared to patients administered 400 mg TD who had 1-2  $\log_{10}$  declines, only. One patient (2%) exhibited a single resistant variant (V170A). In a combination study with Peg-IFN alfa 2b in treatment-experienced, genotype 1 patients, 4 of 10 patients achieved undetectable HCV-RNA, with average maximum reductions in HCV-RNA of 2.9  $\log_{10}$  (range: 2.3-4.1) (Zeuzem 2006).

### POLYMERASE INHIBITORS

Both nucleoside and non-nucleoside HCV polymerase inhibitors have been developed, but most of these molecules are still in pre-clinical study phase. Valopicitabine (NM283, Idenix/Novartis) is a nucleoside inhibitor now entering a phase 3 study. Monotherapy with oral doses of 800 mg daily for 2 wks induced a dose-dependent 1.2  $\log_{10}$  decline in HCV-RNA in genotype 1 infected patients (Afdhal 2004). In combination with Peg-IFN alfa 2a previous non-responders to Peg-IFN alfa 2a exhibited 3  $\log_{10}$  decline of HCV-RNA after 4 weeks, however, with a significant prevalence of GI effects (Afdhal 2006). In a phase 2 trial in naïve genotype-1 patients receiving 200 mg Valopicitabine 68% of the patients had  $< 20$  IU/ml HCV-RNA after 24 weeks of therapy (Dieterich 2006). In the non responders trial the S282T breakthrough mutation was described. Altogether, this STAT-C molecule appears to be less effective than VX-950 in reducing HCV-RNA and to be associated with more side effects, particularly on the gastrointestinal tracts. Another potential drawback of this molecule is that Rbv in vitro antagonizes NM-283 with negative prospects for triple therapy (Coelmont 2006). A polymerase inhibitor (R1626) has been developed by Roche, too, whose ability of suppressing HCV-RNA was 2.6  $\log_{10}$  after 14 days of 3 g/d dosing. Higher doses of 4.5g further suppressed HCV-RNA by 3.7  $\log_{10}$ , however, at the expenses of safety (Roberts 2006).

### CONCLUSIONS

Interferon is likely to remain foundation of therapy for years to come. Combination therapy with Rbv and the use of new agents able to target different processes of the HCV replication cycle will be key, since it may allow lower doses or shorter duration of poorly tolerated drugs.



## REFERENCES

1. Farci P, Shimoda A, Wong D, Cabozon T, De Gioannis D, Strazzera A, Shimizu Y, Shapiro M, Alter HJ, Purcell RH. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:15394-9.
2. Piazza M, Sagliocca L, Tosone G, Guadagnino V, Stai MA, Orlando R, Borgia G, Rosa D, Abrignani S, Palumbo F, Manzin A, Clementi M. Sexual transmission of the hepatitis C virus and efficacy of prophylaxis with intramuscular immune serum globulin. *Arch Intern Med* 1997;157:1537-44.
3. Yu MY, Bartosch B, Zhang P, Guo ZP, Renzi PM, Shen LM, Granier C, Feinstone SM, Cosset FL, Purcell RH. Neutralizing antibodies to hepatitis C virus (HCV) in immune globulins derived from anti-HCV-positive plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 101 7705-10.
4. Willems B, Ede M, Marotta P, Wall W, Greig P, Lilly L, Kneteman N, Wong W, Roy A, Marleau D, Scudamore C, Yoshida E, Rinfret A. Anti-HCV human immunoglobulins for the prevention of graft infection in HCV-related liver transplantation, a pilot study. *J Hepatol* 2002;36 (Suppl 2); 32.
5. Davis GL, Nelson DR, Terrault N, Pruettt TL, Schiano TD, Fletcher CV, Sapan CV, Riser LN, Li Y, Whitley RJ, Gann JW and the Collaborative Antiviral Study Group. A randomized, open-label study to evaluate the safety and pharmacokinetics of human hepatitis C immune globulin (CIVACIR) in liver transplant recipients. *Liver Transplant* 2005;11:941-9.
6. Galun E, Terraults NA, Eren R, Zauberman A, Nussbaum O, Terkieltaub D, Zohar M, Buchnik R, Ackerman Z, Safadi R, Ashur Y, Misrachi S, Liberman Y, Rivkin L, Dagan S. Clinical evaluation (Phase I) of a human monoclonal antibody against hepatitis C virus: safety and antiviral activity. *J Hepatol* 2007;46:37-44.
7. Schiano TD, Charlton M, Yanoussi Z, Galun E, Pruettt T, Tur-Kaspa R, Eren R, Dagan S, Graham N, Williams PV, Andrews J. Monoclonal antibody HCV-Ab<sup>XTL</sup>68 in patients undergoing liver transplantation for HCV: results of a phase 2 randomized study. *Liver Transplant* 2006;12:1381-9.
8. Di Bisceglie A, Frey S, Gorse GJ, Ray R, Houghton M, Schultze V, Abrignani S, Coates S, Belshe R. A phase 1 study and immunogenicity trial of a novel E1E2/MF59C.1 hepatitis C vaccine candidate in healthy HCV-negative adults. *Hepatology* 2005;42:750A.
9. Nevens F, Roskams T, Van Vlierberghe H, Horsmans Y, Sprengers D, Elewaut A, Desmet V, Leroux-Roels G, Quinauz E, Depla E, Dincq S, Vander Stichele C, Maertens G, Hulstaert F. A pilot study of therapeutic vaccination with envelope protein E1 in 35 patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:1289-96.
10. Manns MP, Berg T, Wedemayer H, Hinrichsen H, Cholewinska G, Zeuzem S, Blum H, Buerger V, Klade C, Tauber E, Jelovcan S, Buschle M, Firsch J. Immunization with the therapeutic hepatitis C virus (HCV) peptide vaccine IC41 in 66 chronic hepatitis C non-responder patients. *Hepatology* 2004;40:251A.
11. Seiler P, Senn BM, Klenerman P, Kalinke U, Hengartner H, Zinkernagel RM. Additive effect of neutralizing antibody and antiviral drug treatment in preventing virus escape and persistence. *J Virol* 2000;74:5896-5901.
12. Balan V, Nelson DR, Sulkowski MS, Everson GT, Lambiase LR, Wiesner RH, Dickson RC, Post AB, Redfield RR, Davis GL, Neumann AU, Osborn BL, Freimuth WW, Subramanian GM. A phase 1/2 study to evaluate the safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of escalating doses of recombinant human albumin-interferon alpha fusion protein in patients with chronic hepatitis C who have failed previous interferon alpha-based therapy. *Antiviral Ther* 2006;11:35-45.
13. Bain VG, Kaita KD, Yoshida E, Swain MG, Heathcote EJ, Neumann AI, Fiscella M, Yu R, Osborn BL, Cronin PW, Freimuth WW, McHutchison JG, Subramanian GM. A phase 2 study to evaluate the antiviral activity, safety, and pharmacokinetics of recombinant human albumin-interferon alpha fusion protein in genotype 1 chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2006;44:671-8.
14. Gish RG, Nelson D, Arora S, Fried MW, Reddy KR, Xu Y, Murphy B. Virologic response and safety outcomes in therapy-naïve patients treated for chronic hepatitis C with viremide in combination with pegylated interferon alpha-2a. *J Hepatol* 2005;44 Suppl. 2:39.
15. Benhamou Y, Pockros P, Rodriguez-Torres M, Gordon S, Shiffman M, Lurie Y, Afdhal N, Lamon K, Kim Y, Murphy B. The safety and efficacy of viremide plus pegylated interferon alpha-2b versus ribavirin plus pegylated interferon alpha-2b in therapy-naïve patients infected with HCV: phase 3 results. *J Hepatol* 2006;44:S273.
16. Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ, Forestier N, Van Vliet A, Van de Wetering de Rooij J, McNair L, Purdy S, Kauffman R, Alam J, Jansen PLM. Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patient treated with VX-950: a phase 1b, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology* 2006;131:997-1002.



17. Kieffer T, Sarrazin C, Miller J, Traver S, Zhou Y, Bartels D, Hanzelka B, Muh U, Lin C, Reesing H, Kwong A, Zeuzem S. Combination of telaprevir (VS-950) and Peg-IFN-alfa suppresses both wild-type virus and resistance variants in HCV genotype 1-infected patients in a 14-day phase 1b study. *Hepatology* 2006;44 Suppl. 1:222A.
18. Pockros P, O'Brien C, Godofsky E, Rodriguez Torres M, Afdhal N, Pappas SC, Lawitz E, Bzowej N, Rustgi V, Sulkowski M, Sherman K, Jacobson I, Chao G, Knox S, Pietropaolo K, Brown N. Valopicitabine (NM283), alone or in combination with PEG-interferon, compared to PEG Interferon/Ribavirin (pegIFN/RBV) retreatment in hepatitis C patients with prior non-response to pegIFN/RBV: week 24 results. *Gastroenterology* 2006;130 (Suppl 2):A748.
19. Zeuzem S, Sarrazin C, Wagner F, Rouzier R, Forestier N, Gupta S, Hussaom M, Shah A, Cutler D, Zhang J. The HCV NS3 protease inhibitor SCH 503034 in combination with Peg-IFN alfa-2b in the treatment of HCV-1 Peg-IFN alfa 2b non responders: antiviral activity and HCV variant analysis. *J Hepatol* 2006;44 Suppl 2:S35.
20. Afdhal N, Godofsky E, Dienstag J, Rustgi V, Schick L, McEntry D, Zhou XJ, Chao G, Fang C, Fielman B, Myers M, Brown N. Finale phase I/II trial results for NM283, a new polymerase inhibitor for hepatitis C: antiviral efficacy and tolerance in patients with HCV-1 infection including previous interferon failures. *Hepatology* 2004;40 Suppl. 1:726A.
21. Afdhal N, O'Brien C, Godofsky E, Rodriguez-Torres M, Pappas SC, Pockros P, Lawitz E, Bzowej N, Rustgi V, Sulkowski M, Sherman K, Jacobson I, Chao G, Knox S, Pietropaolo K, Brown N. Valopicitabine (NM283), alone or with Peg-Interferon, compared to Peg Interferon/ribavirin (Peg-IFN/RBV) re-treatment in hepatitis C patients with prior non-response to Peg-IFN/RBV: week 24 results. *J Hepatol* 2006;44 Suppl. 2: S19.
22. Lawitz E, Nguyen T, Younes Z, Santoro J, Gitlin N, McEniry D, Chasen R, Goff J, Knox S, Kleber K, Belanger B, Brown NA, Dieterich D. Valopicitabine (NM283) plus Peg-Interferon in treatment-naïve hepatitis C patients with HCV genotype-1 infection: HCV-RNA clearance during 24 weeks of treatment. *Hepatology* 2006;44 Suppl 1:223A.
23. Coelmont L, Paeshuyase J, Windisch MP, De Clercq E, Bartenschlager R, Neyts J. Ribavirin antagonized the in vitro anti-hepatitis C virus activity of 2'-C-Methylcytidine, the active component of valopicitabine. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3444-6.
24. Roberts S, Cooksley G, Dore G, Robson R, Shaw D, Berns H, Brandt M, Fettner S, Hill G, Ipe D, Klumpp K, Mannino M, O'Mara E, Tu Y, Washington C. Results of a phase 1b, multiple dose study of R1626, a novel nucleoside analog targeting HCV polymerase in chronic HCV genotype 1 patients. *Hepatology* 2006;44 Suppl.1:692A.



## SELECTED REFERENCES

- Piazza M, Sagliocca L, Tosone G, Guadagnino V, Stai MA, Orlando R, Borgia G, Rosa D, Abrignani S, Palumbo F, Manzin A, Clementi M. Sexual transmission of the hepatitis C virus and efficacy of prophylaxis with intramuscular immune serum globulin. *Arch Intern Med* 1997;157:1537-44.  
Single blind, randomized, controlled trial of 899 partners of HCV positive patients treated with placebo versus every 2 month administration of intramuscular polyvalent immune serum globulins (Ig) obtained from unselected blood donors. The study describes a positive effect of immunization with Ig in preventing sexual transmission of HCV, since treated patients showed lower rates of infection than controls (0.002% vs 1.2%; p=0.03).
- Bain VG, Kaita KD, Yoshida E, Swain MG, Heathcote EJ, Neumann AI, Fiscella M, Yu R, Osborn BL, Cronin PW, Freimuth WW, McHutchison JG, Subramanian GM. A phase 2 study to evaluate the antiviral activity, safety, and pharmacokinetics of recombinant human albumin-interferon alfa fusion protein in genotype 1 chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 2006;44:671-8.

A phase 2, open-label, dose-ranging study in HCV-1 naïve patients treated with two 14-days apart injections of recombinant human albumin-interferon alfa (Alb-IFN). A 2 Log or greater decrease in HCV-RNA levels was observed in 69% of the patients. The side effect profile was similar to that reported for pegylated-IFN, except for neutropenia that developed in 23% of the treated patients. Antiviral activity was maintained for 28 days after administration in the higher dose cohorts (900 and 1200 mcg), providing the rationale for alb-IFN dosing at 4 week interval in further studies.

- Benhamou Y, Pockros P, Rodriguez-Torres M, Gordon S, Shiffman M, Lurie Y, Afdhal N, Lamon K, Kim Y, Murphy B. The safety and efficacy of viramidine plus pegylated interferon alpha-2b versus ribavirin plus pegylated interferon alpha-2b in therapy-naïve patients infected with HCV: phase 3 results. *J Hepatol* 2006;44:S273.

A randomized, double-blind, active-control, phase 3 multicenter study to compare treatment with Pegylated IFNalpha2b coupled with weight based ribavirin against Pegylated IFNalpha2b coupled with fixed dose viramidine (the oral prodrug of ribavirin) in HCV positive treatment naïve patients. Viramidine did not meet the non-inferiority efficacy endpoint when compared with ribavirin as SVR rates were significantly lower (38% vs 52%). Frequency of treatment-related anaemia was significantly lower for viramidine. While weight-based dosing of viramidine is currently being evaluated, this study shows no advantage in terms of hard endpoints in the use of combination treatment with viramidine.

- Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ, Forestier N, Van Vliet A, Van de Wetering de Rooij J, McNair L, Purdy S, Kauffman R, Alam J, Jansen PLM. Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patient treated with VX-950: a phase 1b, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology* 2006;131:997-1002.

A randomized, dose-escalation, double-blind, placebo-controlled study of a 14 day treatment with the NS3-4A protease inhibitor VX-950, in chronic hepatitis C genotype 1 infected patients. All patients in the 750 mg q8h group (the dosage currently being further investigated) had a  $> 3 \log_{10}$  viral decline. The treatment was safe, however selection of HCV variants with decreased sensitivity to VX-950 was reported in the study. In-vitro data suggests that these variants are sensitive to Pegylated IFN, hence combination treatment studies are currently underway.

- Coelmont L, Paeshuyase J, Windisch MP, De Clercq E, Bartenschlager R, Neyts J. Ribavirin antagonized the in vitro anti-hepatitis C virus activity of 2'-C-Methylcytidine, the active component of valopicitabine. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3444-6.

In vitro study that confirms the previously reported finding that ribavirin antagonizes such pyrimidine analogues as AZT and Valopicitabine. On the contrary, an additive effect was observed in vitro by combining

