



HAL
open science

Optimisation du traitement anti-VHC : place des dosages pharmacologiques et des cinétiques virales à l'ère des antiviraux directs

François Bailly

► **To cite this version:**

François Bailly. Optimisation du traitement anti-VHC : place des dosages pharmacologiques et des cinétiques virales à l'ère des antiviraux directs. Virologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2013. Français. NNT : 2013LYO10328 . tel-01074132

HAL Id: tel-01074132

<https://theses.hal.science/tel-01074132>

Submitted on 13 Oct 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE BMIC

DIPLOME DE DOCTORAT

(Arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 20 décembre 2013

par

François BAILLY

OPTIMISATION DU TRAITEMENT ANTI-VHC

**PLACE DES DOSAGES PHARMACOLOGIQUES ET DES CINETIQUES VIRALES
A L'ERE DES ANTIVIRAUX DIRECTS**

Thèse en cotutelle dirigée par le Pr. Christian Trépo et le Pr. Fabien ZOULIM

JURY

Pr. Paul DENY	Président
Pr. Albert TRAN	Rapporteur
Pr. Vincent LEROY	Rapporteur
Dr. Marie-Claude GAGNIEU	Examineur
Pr. Christian DUCERF	Examineur
Pr Christian TREPO	Directeur de thèse

Table des matières

RESUME	4
ABSTRACT	5
1. Introduction.....	6
2. Rappel sur le traitement de l'hépatite chronique C.....	6
2.1. Objectifs du traitement et définition de la réponse	6
2.2. Bithérapie interféron pégylé et ribavirine.....	7
2.2.1. Modalités thérapeutiques	7
2.2.2. Les résultats du traitement en bithérapie :.....	9
2.2.3. Facteurs prédictifs de réponse au traitement.....	10
2.2.4. Les effets secondaires de la bithérapie	11
2.3. Traitement en trithérapie : interféron pégylé, ribavirine et inhibiteur de protéase	12
2.3.1. Modalités du traitement en trithérapie	12
2.3.2. Les résultats du traitement en trithérapie	14
2.3.3. Facteurs prédictifs de réponse au traitement.....	15
2.3.4. Tolérance du traitement	15
2.3.5. Expérience d'une cohorte locale	16
3. Rappel sur la Ribavirine	17
3.1. Données de pharmacologie clinique	17
3.2. Mécanismes d'action.....	18
3.3. Effets secondaires, toxicité hématologique	20
3.4. Efficacité	21
3.4.1. Efficacité en monothérapie	21
3.4.2. Efficacité en bithérapie.....	21
3.4.3. Efficacité en trithérapie	21
3.4.4. Bénéfice de la ribavirine dans les traitements sans IFN.....	22
4. Le dosage de ribavirine.....	22
4.1. Plasma ou sérum	22
4.2. Erythrocyte	23
4.3. Sang total.....	23
5. Corrélation AUC/taux résiduels/SVR en bithérapie	24
6. Intérêt du dosage dans des situations thérapeutiques particulières.....	27
6.1. Patients insuffisants rénaux et dialysés	27

6.2. Patients co-infectés VIH-VHC	32
6.3. Pharmacocinétique de la ribavirine lors des trithérapies	34
6.4. Discussion	36
7. Intérêt prédictif de la cinétique virale sous traitement	37
7.1. Intérêt de la charge virale à S2 lors des traitements en trithérapie (Annexe 4)	38
7.1.1. Prédicibilité de la réponse.....	39
7.1.2. Identification rapide des mutations de résistance.....	40
7.2. Discussion	41
8. Conclusions et perspectives	43
REFERENCES	45
Annexe 1 : Article en cours de publication dans <i>Journal of Viral Hepatitis</i>	53
Annexe 2 : Article soumis pour publication à <i>HIV Medicine</i>	73
Annexe 3 : Article soumis à <i>Antiviral Therapy</i>	88
Annexe 4 : Article finalisé et prochainement soumis.....	99

RESUME

Contexte : Le traitement du VHC connaît une évolution rapide avec le développement d'antiviraux à action directe plus efficaces et mieux tolérés qui vont modifier les stratégies thérapeutiques, les facteurs prédictifs de réponse et les modalités de suivi des patients.

Objectifs : Notre travail s'intéresse aux paramètres de suivi du traitement que sont les dosages pharmacologiques de ribavirine et le suivi des cinétiques virales lors d'une trithérapie.

Résultats :

1. L'étude d'une cohorte prospective incluant 186 patients sous trithérapie par IP montre que 60% d'entre-eux présentent une SVR12 et que les facteurs prédictifs sont le génotype de l'IL28B et la réponse au précédent traitement. Une diminution de la filtration glomérulaire réversible est également observée.
2. La mesure du taux résiduel de ribavirine permet de réduire les risques hématologiques chez des patients insuffisants rénaux, la réalisation de l'ASC témoigne d'une moins bonne exposition à la ribavirine chez des patients co-infectés par le VIH/VHC et la biodisponibilité de la ribavirine et la sévérité des anémies augmentent chez des patients traités par télaprévir.
3. Au sein de la cohorte CUPIC, la négativation ou la diminution >50-70% de la charge virale initiale à S2 de trithérapie sont fortement prédictives de la SVR12. Cette mesure à S2 permet aussi de dépister les échappements viraux précoces.

Conclusion : La place de la ribavirine est importante dans les associations thérapeutiques actuelles et futures. Sa surveillance pharmacologique peut avoir un intérêt au cours de futures multi-thérapies exposant à d'éventuelles interactions médicamenteuses.

Mots clés : VHC, ribavirine, facteur prédictif de réponse, monitoring pharmacologique, inhibiteurs de protéase

ABSTRACT

Context: The rapid development of new direct antiviral agents (DAA) against HCV gives hope of more potent and well tolerated treatments. These new compounds will deeply modify therapeutic schedules, virological response prognostic factors and patients' monitoring.

Objectives: The aim of our work was to define the relevance of ribavirin plasma concentration and viral kinetics monitoring during triple therapy.

Results:

1. The study of a prospective cohort including 186 patients under triple therapy showed an SVR12 rate of 60%. Associated predictive factors were IL-28B genotype and previous treatment response. A reversible decrease of glomerular filtration rate was also observed.
2. Ribavirin plasma concentration monitoring reduced hematological risks among patients with renal insufficiency. Early ribavirin plasma exposure showed an underexposure among HIV/HCV patients and ribavirin biodisponibility with severe anemia increased among telaprevir-treated patients.
3. Within the CUPIC cohort, the initial viral load undetectability or decrease up to 50% or 70% at week 2 of triple therapy were predictive of SVR12. Moreover, this week 2 viral load assessment allowed the detection of early viral breakthrough.

Conclusion: Ribavirin still plays a major role in current and future therapeutic strategies. Ribavirin monitoring could also be important during future multi-drug therapy that could be associated with drug interactions.

Key words: HCV, ribavirin, predictive factor of response, therapeutic drug monitoring, protease inhibitor.

1. Introduction

Alors qu'il a longtemps reposé sur l'association de l'interféron et de la ribavirine, le traitement des hépatites chroniques C connaît depuis deux ans une évolution rapide et spectaculaire. Le développement d'antiviraux à action directe et non médiée par l'immunité est à l'origine de ces progrès rapides. Le traitement antiviral repose actuellement, et encore pour quelques mois, sur une association des anciens traitements (interféron et ribavirine) et des nouvelles molécules antivirales avant que ces dernières ne se substituent totalement à la bithérapie classique. Cette évolution suscite un grand intérêt parmi les praticiens et leurs patients avec l'espoir de thérapies plus efficaces et mieux tolérées, mais elle conduit aussi à une remise en cause des stratégies thérapeutiques, des facteurs prédictifs de réponse et des modalités de suivi des patients traités.

Notre travail s'inscrit dans cette phase de mutation et s'intéresse à la place actuelle et future des paramètres de suivi du traitement antiviral que sont les dosages pharmacologiques de la ribavirine et le suivi des cinétiques virales. Nous rappellerons la place de ces outils au cours des traitements en bithérapie par interféron et ribavirine et nous présenterons nos travaux sur l'utilisation des dosages de ribavirine lors des traitements par anti-protéase du VHC ou en association avec les antirétroviraux et sur l'intérêt des cinétiques virales précoces lors des traitements par anti-protéase du VHC.

2. Rappel sur le traitement de l'hépatite chronique C

2.1. Objectifs du traitement et définition de la réponse

L'objectif du traitement de l'hépatite C est de guérir l'infection grâce à une élimination durable du virus et de prévenir la progression de la fibrose hépatique et l'évolution vers la cirrhose ou le carcinome hépatocellulaire. Actuellement, cet objectif peut être atteint chez un nombre croissant de patients grâce à l'interféron pégylé et la ribavirine associés ou non à un inhibiteur de protéase. Le succès du traitement varie selon les caractéristiques du patient et le génotype viral et les schémas thérapeutiques sont adaptés à ces facteurs prédictifs de réponse.

L'efficacité du traitement est évaluée par l'indéteçtabilité de l'ARN du VHC. L'objectif est d'obtenir une réponse virologique soutenue (SVR) définie par un ARN VHC indéteçtable 6 mois après l'arrêt du traitement. Plus de 99% des patients qui présentent une SVR conservent un ARN VHC indéteçtable 5 ans après la fin du traitement [1]. Le suivi de la charge virale est un outil essentiel pour adapter les modalités de traitement et faire un pronostic quant à son efficacité. L'évolution de la charge virale aux différents stades du traitement permet de définir différents types de réponses qui sont définis dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Définition des différents types de réponse virologique au cours du traitement de l'hépatite C.

Abréviation	Type de réponse	Définition
RVR	Réponse virologique rapide	ARN VHC indétectable 4 semaines après le début du traitement
eRVR	Réponse virologique rapide étendue	ARN VHC indétectable à la 4 ^{ème} et 12 ^{ème} semaine du traitement
EVR	Réponse virologique précoce	Indétectabilité ou décroissance de l'ARN VHC $\geq 2\log_{10}$ 12 semaines après le début du traitement
cEVR	Réponse virologique précoce complète	ARN VHC indétectable à la 12 ^{ème} semaine du traitement
pEVR	Réponse précoce partielle	Décroissance de l'ARN VHC $\geq 2\log_{10}$, qui reste détectable 12 semaines après le début du traitement
ETR	Réponse en fin de traitement	ARN VHC indétectable à la fin du traitement
SVR 24	Réponse virologique prolongée à 24 semaines	ARN VHC indétectable 24 semaines après la fin du traitement
SVR 12	Réponse virologique prolongée à 12 semaines	ARN VHC indétectable 12 semaines après la fin du traitement
PR	Réponse partielle	Décroissance de l'ARN VHC $\geq 2\log_{10}$, sans obtenir l'indétectabilité
NR	Non réponse	Absence de décroissance de l'ARN VHC $\geq 2\log_{10}$ après 24 semaines de traitement

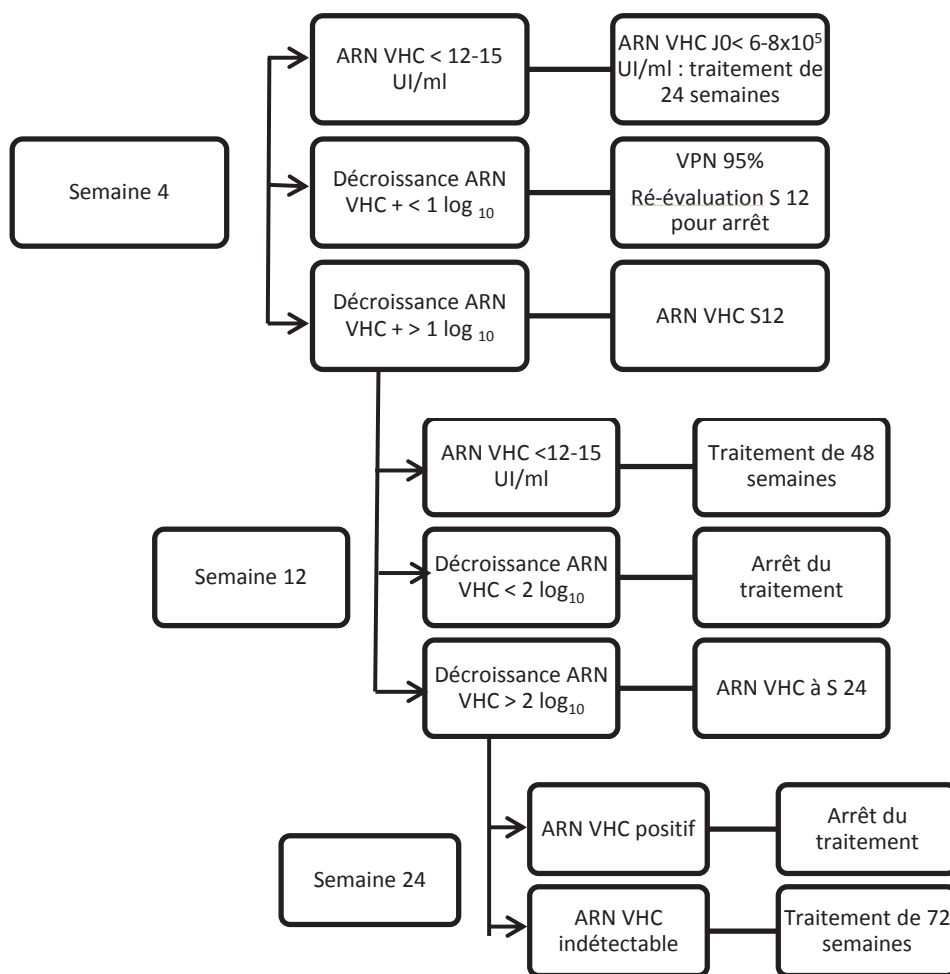
2.2. Bithérapie interféron pégylé et ribavirine

2.2.1. Modalités thérapeutiques

Depuis plus de dix ans, le traitement de référence des hépatites chroniques C associe l'interféron pégylé α -2a ou α -2b et la ribavirine. L'interféron pégylé est administré par voie sous-cutanée une fois par semaine à une dose fixe pour l' α -2a (180 μ g/sem) ou adaptée au poids pour l' α -2b (1,5 μ g/kg/sem). Les deux types d'interféron ont une efficacité comparable [2]. La ribavirine est administrée per os à une posologie adaptée au poids (1000 mg/j si < 75kg ou 1200 mg/j si > 75 kg). Une posologie adaptée au poids d'au moins 11 mg/kg semble préférable à une dose fixe de ribavirine dans différentes études [3,4]. Cette association est prescrite pour une durée de 24 à 48 semaines selon le génotype viral et la réponse virologique observée sous traitement. Dans le cas des infections par un génotype 1, 4, 5 ou 6, le traitement est prescrit pour une durée initiale de 48 semaines et permet d'obtenir une négativation

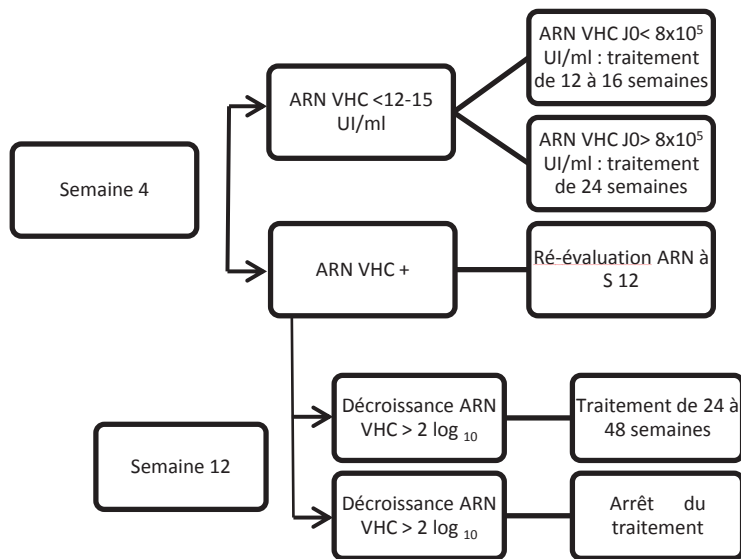
durable de la réplication virale C (réponse virologique prolongée) dans 40% à 50% des cas. Lorsqu'il s'agit d'un génotype 2 ou 3, le traitement est prescrit pour une durée de 24 semaines et permet d'obtenir une réponse virologique prolongée dans environ 80% des cas [3,5,6]. Dès les premières études, la cinétique de la décroissance de la charge virale s'est révélée être prédictive de la réponse au traitement et a permis de définir des règles d'arrêt du traitement en l'absence de réponse satisfaisante. Une réponse virologique précoce a été définie par une diminution d'au moins 2 log₁₀ de la charge virale par rapport aux valeurs pré-thérapeutiques à la douzième semaine de traitement. Dans cette situation, la probabilité d'une réponse virologique prolongée (valeur prédictive positive) était d'environ 65%. A l'inverse, en l'absence de réponse virologique précoce, la probabilité d'une réponse virologique prolongée n'excédait pas 3% [5,7]. Ces résultats ont conduit à recommander, pour les infections par un virus de génotype 1, de contrôler la charge virale à la douzième semaine et d'interrompre le traitement en l'absence de décroissance de l'ARN viral d'au moins 2 log₁₀ en raison de la probabilité presque nulle d'obtenir une réponse en poursuivant le traitement. Lorsque la réponse virologique précoce est obtenue, le traitement est poursuivi mais la présence d'un ARN viral détectable à la 24^{ème} semaine est associée à une valeur prédictive négative de 100% et il est donc recommandé d'arrêter le traitement à ce moment. Certaines études ont par la suite montré que chez les patients qui présentaient à la douzième semaine une réponse virologique précoce, avec un ARN VHC toujours détectable, puis qui négativaient leur charge virale à la 24^{ème} semaine, il y avait un bénéfice à prolonger le traitement antiviral jusqu'à la 72^{ème} semaine [8,9]. A l'inverse, chez certains malades de génotype 1 dont la charge virale initiale était basse (< 600 000 UI/ml) et qui présentaient un ARN indétectable dès 4 semaines de traitement, un traitement de 24 semaines apportait d'aussi bons résultats qu'un traitement de 48 semaines [10]. Ces schémas de traitements sont résumés dans la Figure 1.

Figure 1 : Schéma de traitement en bithérapie pour les génotypes 1, 4, 5 et 6



Des stratégies équivalentes ont été proposées pour réduire de 24 à 16 semaines les durées de traitement au cours des infections à génotype 2 et 3 [11]. La négativation de l'ARN viral C dès la quatrième semaine de traitement, appelée réponse virologique rapide, est associée à une très forte probabilité de réponse virologique prolongée (85 à 90%) [11,12]. Cette valeur ne définit pas de règle d'arrêt de traitement mais permet au contraire dans certains cas de réduire la durée de celui-ci sans perte de chance pour le patient (Figure 2).

Figure 2 : Schéma de traitement en bithérapie pour les génotypes 2 et 3



2.2.2. Les résultats du traitement en bithérapie :

Les résultats des grandes études pivots ont montré des résultats identiques quel que soit l'interféron pégylé utilisé en association avec la ribavirine. Pour les patients naïfs de génotype 1, une réponse virologique prolongée est obtenue après 48 semaines de traitement dans 42 à 46% des cas. Pour les infections par un génotype 2 ou 3 un traitement de 24 semaines permet d'obtenir une réponse virologique prolongée dans 73 à 82% dans cas [3,5,6].

Chez les patients non répondeurs ou rechuteurs à la bithérapie un retraitement avec le même traitement permet d'obtenir 6% de SVR chez les patients non répondeurs et 23% chez les rechuteurs. De nombreuses tentatives d'optimisation des bithérapies, en prolongeant les durées de traitement, en augmentant les posologies d'interféron ou en optimisant les doses de ribavirine n'ont permis qu'une augmentation modeste de la réponse virologique chez ces patients en échec [13].

2.2.3. Facteurs prédictifs de réponse au traitement

Un certain nombre de facteurs prédictifs de la réponse au traitement ont été identifiés. Avant l'initiation du traitement, les facteurs associés à une moins bonne réponse à la bithérapie sont : l'âge (>40 ans), une fibrose extensive ou une cirrhose, la présence d'une insulino-résistance ou d'un syndrome métabolique, le génotype 1, une charge virale > 600 000 UI/ml et une coinfection par le VIH [2].

Au cours du traitement, la cinétique virale précoce apparaît être très prédictive de la SVR. Chez les patients infectés par un génotype 1 qui présentent une réponse virologique rapide (RVR) avec un ARN VHC indétectable à la quatrième semaine de traitement, la probabilité d'obtenir une SVR est d'environ 90% [10,14]. Des résultats similaires sont observés pour les infections à génotype 2 et 3 y compris lorsque la durée de traitement est réduite.

Une corrélation entre la survenue d'une anémie sous traitement et l'obtention d'une réponse virologique prolongée a été retrouvée dans certaines études et confirmée par une large étude multicentrique nord-américaine comparant les bithérapies par interféron pégylé α -2a et α -2b. Dans cette étude, la SVR était associée à l'importance de la décroissance de l'hémoglobine : 43,7% pour une baisse > 3g/dl versus 29,9% pour une baisse \leq 3g/dl. L'introduction de l'EPO n'apportait un bénéfice sur la réponse que lorsque l'anémie survenait précocement avant 8 semaines de traitement en réduisant les arrêts prématurés de traitement pour effets secondaires [15]. Ces résultats suggéraient de façon indirecte l'importance d'une exposition suffisante à la ribavirine pour obtenir une réponse virologique prolongée. Plus récemment, un polymorphisme nucléotidique situé sur le chromosome 19 en amont du gène codant pour l'interleukine 28B s'est révélé être fortement associé avec la survenue d'une réponse virologique prolongée à la bithérapie [16-18]. L'impact de ce paramètre apparaît aussi important que le génotype viral. Chez les patients homozygotes CC (rs 12979860) d'origine caucasienne sans fibrose extensive, la probabilité d'obtenir une réponse virologique prolongée est estimée à 86% alors qu'elle n'est que de 36% et 43% pour les génotypes TT et CT respectivement [19]. Ce polymorphisme a un impact sur la cinétique virale sous traitement : une réponse virologique rapide (S4) est en effet obtenue chez 30% des patients de génotype CC contre seulement 5% pour les génotypes CT et TT. Cet impact est observé dès le premier jour du traitement antiviral [20]. Le caractère prédictif du polymorphisme de l'IL28B est retrouvé chez les patients infectés par un virus de génotype 4 [21]. Dans le cas des génotypes 2 et 3 le caractère prédictif de ce polymorphisme n'est retrouvé que chez les patients qui ne présentent pas une réponse virologique rapide sous bithérapie [22]. Cet impact du polymorphisme de l'IL28B pourrait être en partie médié par l'expression des « gènes stimulés par l'interféron » (ISGs) dont l'up-régulation est associée à une mauvaise réponse à la bithérapie. L'ISG hépatique est fortement associé au polymorphisme de l'IL28B et son expression est augmentée chez les patients ayant un génotype TT ou CT [23,24].

Un autre paramètre est impliqué dans la prédiction de la réponse au traitement : la protéine 10 inductible par l'interféron γ (CXCL10 ou IP-10). Il s'agit d'une chémokine ayant un rôle central dans l'inflammation et dont l'augmentation a été décrite dans le foie et le sérum au cours des hépatites C. Chez les patients de génotype 1, un titre bas d'IP10 avant le traitement prédit la cinétique virale précoce et est associé à la survenue d'une SVR [25]. L'IP 10 n'est pas une variable indépendante du génotype de l'IL28B. Une étude a en effet montré que les génotypes de l'IL28B favorables (CC, TT ou AA selon les polymorphismes étudiés) prédisant la SVR étaient associés à des titres plus bas d'IP10 avant le traitement. Chez les patients infectés par un génotype 1, porteurs de ces mêmes génotypes, un titre d'IP10 inférieur à 150 pg/ml était significativement associé à une décroissance plus rapide de l'ARN viral entre le premier et le quatrième jour du traitement. Cette première pente de décroissance virale est aussi prédictive de la SVR [26].

Dans la pratique, deux paramètres peuvent être actuellement assez simplement utilisés : le suivi de la cinétique virale et le génotypage de l'IL28B. Ces deux paramètres sont liés puisque le génotype de l'IL28B prédit la cinétique virale précoce. On constate en effet qu'une réponse virologique rapide est observée chez 30% des homozygotes CC contre 5% chez les CT et les TT. Chez les patients qui présentent une RVR, la probabilité de SVR est proche de 90% indépendamment du génotype de l'IL28B. A l'inverse chez les homozygotes CC sans RVR, les chances de SVR ne sont que d'environ 60% [19]. L'association de ces deux paramètres a donc une très forte valeur prédictive positive vis-à-vis de la SVR et peut permettre d'identifier précocement des patients ayant de forte chance d'éradication virale s'ils parviennent au terme de leur traitement.

2.2.4. Les effets secondaires de la bithérapie

Les bithérapies associant l'interféron pégylé et la ribavirine s'associent à des effets secondaires cliniques et biologiques fréquents et parfois sévères ayant un impact important sur la qualité de vie des patients traités. Ces effets secondaires représentent un obstacle important au traitement et une cause d'échec de celui-ci. Ils nécessitent une prise en charge spécifique et justifient le souhait de vouloir, lorsque cela est possible, réduire la durée du traitement. Les principaux effets secondaires observés sous bithérapie sont décrits dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Incidence des effets secondaires observés sous bithérapie PEG IFN + Ribavirine [3,5]

Effets secondaires	Incidence sous bithérapie PEG IFN + Ribavirine
Céphalées	47-62%
Fièvre	40-46%
Myalgies	37-56%
Frissons	24-48%
Arthralgies	24-34%
Nausées	35-43%
Anorexie	21%
Perte de poids	29%
Diarrhée	22%
Alopécie	21-36%
Rash/éruptions cutanées	20-24%
Rougeur au site d'injection	25%
Prurit	25-29%
Dyspnée	26%
Asthénie	48-64%
Troubles du sommeil	33-40%
Irritabilité	24-35%
Dépression	22-31%

2.3. Traitement en trithérapie : interféron pégylé, ribavirine et inhibiteur de protéase

2.3.1. Modalités du traitement en trithérapie

L'arrivée en 2011 de deux antiviraux à action directe, inhibiteurs de protéase du VHC actifs sur les virus de génotype 1 a conduit à une modification complète des stratégies thérapeutiques durant ces deux dernières années. Le traitement de première intention des infections à VHC de génotype 1 repose actuellement sur une trithérapie associant l'interféron pégylé, la ribavirine et le bocéprévir ou le télaprévir pour une durée de 24 à 48 semaines. Le télaprévir et le bocéprévir sont deux inhibiteurs de la sérine protéase NS3-4A du VHC de génotype 1. Ces deux molécules ont une action antivirale moins importante sur les virus de génotype 2 et très faible sur les virus de génotype 3 et 4 et. Ils ne sont donc indiqués que dans les infections par les virus de génotype 1.

Les modalités de traitement par ces deux molécules sont issues des études de phase 3 qui ont conduit à leur enregistrement et à leur mise sur le marché. Ces modalités sont différentes pour le bocéprévir et le télaprévir.

Dans le cas du bocéprévir, le traitement est débuté par une phase d'initiation en bithérapie par interféron pégylé et ribavirine aux posologies habituelles pendant 4 semaines. A l'issue de cette période, le bocéprévir est introduit en association avec la bithérapie à la posologie de 2400 mg par jour en trois prises. La durée de la trithérapie varie selon la sévérité de l'atteinte hépatique, la rapidité de la réponse virologique obtenue et selon la réponse à une éventuelle bithérapie reçue préalablement. Chez les patients naïfs de traitement et non cirrhotiques, le traitement en trithérapie sera poursuivi pendant 24 semaines si une eRVR est obtenue. En l'absence de réponse rapide chez un patient naïf ou dans le cas de patients répondeurs partiels ou rechuteurs à la bithérapie, la trithérapie sera poursuivie jusqu'à la 36^{ème} semaine et sera suivie d'une phase de bithérapie pendant 8 semaines, jusqu'à une durée totale de 48 semaines de traitement. Chez les patients répondeurs nuls à la bithérapie et chez tous les patients cirrhotiques, le traitement comportera 4 semaines de bithérapie suivies de 44 semaines de trithérapie (Figure 3).

Dans le cas du télaprévir, le traitement est débuté d'emblée en trithérapie et associe l'interféron pégylé et la ribavirine aux posologies habituelles et le télaprévir à la posologie de 2250 mg par jour, initialement en trois prises et maintenant possible en deux prises quotidiennes. Le télaprévir est arrêté à 12 semaines et à l'issue de cette période la bithérapie est poursuivie pendant 12 semaines chez les patients non cirrhotiques naïfs de traitement ou rechuteurs à une bithérapie qui ont présenté une eRVR. Chez les patients qui ne présentent pas de réponse virologique rapide ainsi que chez tous les patients cirrhotiques ou non répondeurs, la bithérapie est poursuivie pendant 36 semaines pour atteindre une durée totale de traitement de 48 semaines (Figure 4).

En raison du risque d'émergence de souches virales résistantes et des effets secondaires nombreux du traitement, des règles d'arrêt précoce ont été définies afin de ne pas poursuivre le traitement antiviral lorsque les probabilités de réponse virologique prolongée sont faibles ou nulles. Les règles actuellement inscrites dans le cadre de l'AMM sont issues des essais de phase 3 avec les deux molécules. Ces règles, différentes pour les deux molécules, ont été définies a priori au moment de la conception des essais afin de réduire le risque d'émergence de mutants résistants aux inhibiteurs de protéase. La pertinence de ces règles n'a donc pas été validée par des résultats cliniques.

Ces règles sont identiques chez les patients naïfs de traitement et chez les patients en échec après un traitement en bithérapie. Pour le bocéprévir, l'arrêt des trois molécules est préconisé si l'ARN VHC est > 100 UI/ml à la 12^{ème} semaine de traitement ou si l'ARN VHC reste détectable à la 24^{ème} semaine de traitement. Pour le télaprévir, l'arrêt des trois molécules est indiqué si l'ARN VHC est > 1000 UI/ml à la 4^{ème} semaine ou à la 12^{ème} semaine et la bithérapie est interrompue si l'ARN reste détectable à la 24^{ème} semaine.

Les recommandations françaises indiquent cependant qu'il peut être envisagé de poursuivre le traitement antiviral tant qu'il existe une décroissance continue de la charge virale et qu'à l'inverse, toute stagnation de la charge virale à 4 semaines d'intervalle et à fortiori toute remontée de la charge virale sous traitement doit conduire à l'arrêt du traitement. C'est dans ce contexte qu'un contrôle de l'ARN VHC après deux semaines de trithérapie est proposé dans ces recommandations afin de dépister d'éventuels échappements virologiques précoces qui interviendraient entre S2 et S4 [27]. L'intérêt de ce contrôle de la charge virale à S2 et son caractère prédictif de la réponse sera l'objet de l'une des études présentée dans ce travail.

Figure 3 : Modalités d'utilisation du bocéprévir selon l'AMM [27]

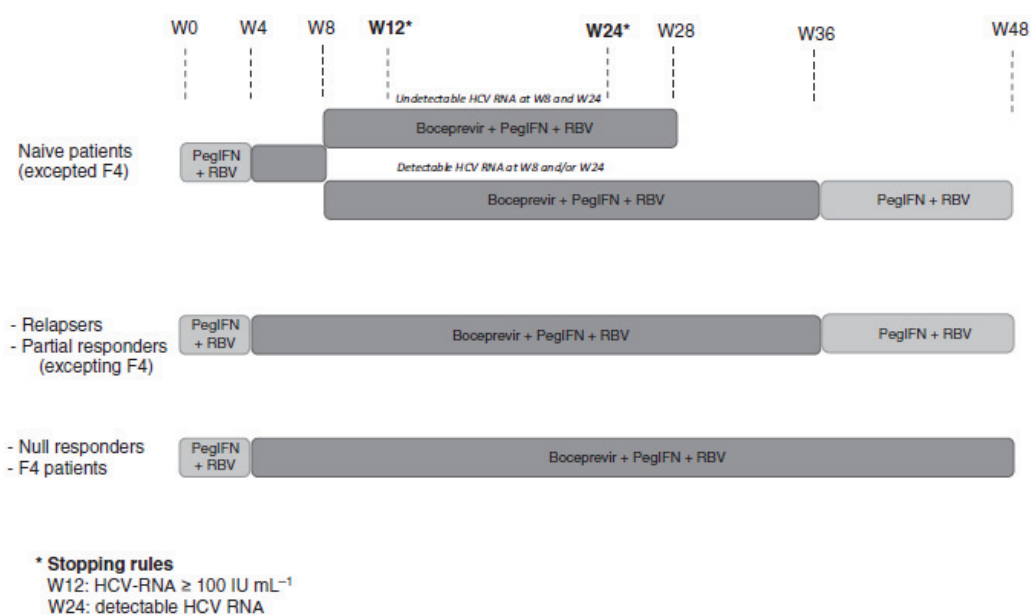
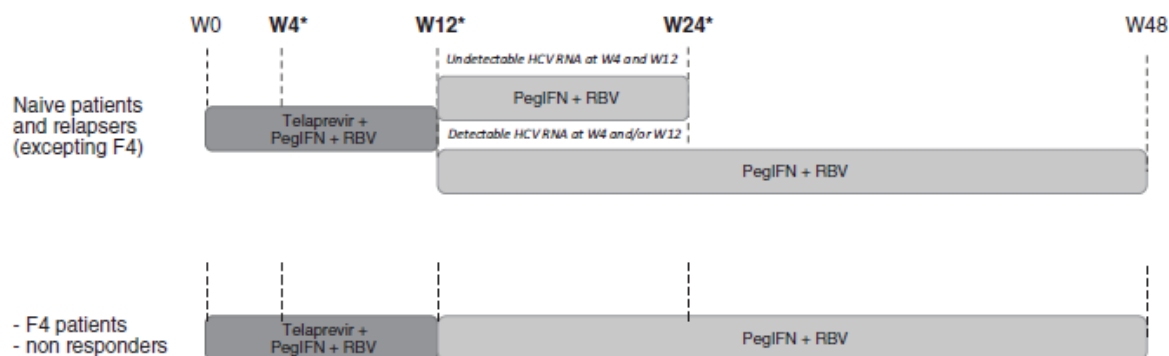


Figure 4 : Modalités d'utilisation du télaprévir selon l'AMM [27]



*** Stopping rules**

W4: HCV-RNA ≥ 1000 UI mL⁻¹
W12: HCV-RNA ≥ 1000 UI mL⁻¹
W24: detectable HCV RNA

2.3.2. Les résultats du traitement en trithérapie

Les résultats disponibles sont issus pour la plupart des résultats des études d'enregistrement de phase 3 des deux molécules et ne concernent que des patients infectés par un virus de génotype 1. Chez les patients naïfs de traitement, les résultats de l'essai SPRINT 2 montraient une réponse virologique prolongée de 63 et 66% dans les deux bras de traitement recevant du bocéprévir et 38% dans le bras bithérapie [28]. On note cependant que seuls 9% des patients inclus dans cet essai présentaient une fibrose sévère ou une cirrhose (F3-F4). L'essai ADVANCE, qui a inclus 21% de patients porteurs d'une fibrose sévère permet d'observer une réponse virologique prolongée chez 69 et 75% des patients ayant reçu du télaprévir contre 44% pour ceux traités en bithérapie [29].

Chez les patients en échec de bithérapie, l'essai RESPOND-2 a comparé deux stratégies d'utilisation du bocéprévir à un retraitement en bithérapie chez 403 patients rechuteurs ou répondeurs partiels à la bithérapie. Une réponse virologique prolongée était obtenue dans 59 et 66% des cas dans les bras bocéprévir et dans 21% des cas en bithérapie [30]. L'essai REALIZE a comparé un retraitement en bithérapie à un traitement par télaprévir précédé ou non d'une phase de bithérapie chez des patients rechuteurs, répondeurs partiels ou répondeurs nuls à la bithérapie et dont près de 50% présentaient une fibrose sévère. Une réponse virologique prolongée était observée dans 64 et 66% des cas sous télaprévir et dans seulement 17% des cas en bithérapie [31].

Les résultats de ces traitements hors du contexte des essais thérapeutiques et chez des patients non sélectionnés semblent très dépendants de la sévérité de l'atteinte hépatique. Un certain nombre de cohortes observationnelles sont en cours en Europe et aux Etats Unis qui permettront de connaître les résultats virologiques et la tolérance de ces stratégie thérapeutique dans la « vraie vie ». La cohorte française CUPIC est l'une des premières à apporter des résultats de tolérance et de SVR chez des patients cirrhotiques répondeurs partiels ou rechuteurs à une bithérapie et retraités soit par télaprévir (n=299), soit par bocéprévir (n=212). Chez ces patients cirrhotiques qui présentaient dans plus de 30% des signes

d'hypertension portale, une SVR a été observée chez 52% des patients traités par télaprévir et chez 43% de ceux traités par bocéprévir [32,33].

Nous rapportons dans notre travail les résultats d'efficacité et de tolérance des traitements par inhibiteurs de protéase dans une cohorte de 186 patients traités consécutivement dans notre service.

2.3.3. Facteurs prédictifs de réponse au traitement

Pour le bocéprévir, les facteurs prédictifs d'une réponse prolongée identifiés dans l'essai SPRINT-2 étaient : une charge virale basse, un âge < 40 ans, l'origine ethnique (impact défavorable de la race noire), l'absence de cirrhose, un génotype 1b, un traitement par statine [28]. Dans l'essai RESPOND-2, c'est la réponse à la précédente bithérapie qui était le meilleur facteur prédictif de réponse, les patients rechuteurs répondant beaucoup mieux que les patients non répondeurs. Dans les 2 essais, le génotype de l'IL28B était un facteur indépendant associé à la SVR, même si l'impact de ce facteur apparaissait moins important qu'en bithérapie : 80% de SVR chez les patients CC, 71% chez les patients CT et 59% chez les patients TT dans SPRINT-1. Enfin, le paramètre associé le plus fortement à la survenue d'une SVR était la décroissance > 1 log₁₀ de l'ARN VHC à la 4^{ème} semaine de traitement, à la fin de la phase initiale de bithérapie [28,34].

Dans l'étude ADVANCE, la SVR après un traitement à base de télaprévir était associée à l'âge < 40 ans, le sexe féminin, l'absence de fibrose extensive, un BMI < 25 kg/m² et une infection par un génotype 1b [29]. Le génotype de l'IL28B était là encore associé à la réponse : SVR de 90% pour le génotype CC, 71% pour le génotype CT et 73% pour le génotype TT [35]. Chez les patients en échec de bithérapie, dans l'essai REALIZE, les facteurs significativement associés à la réponse à la trithérapie par télaprévir étaient le stade de fibrose, la réponse antérieure à la bithérapie, les concentrations de LDL-cholestérol à l'inclusion et l'eRVR, qui était le facteur prédictif de réponse le plus important. Dans cette étude, le génotype de l'IL28B avait un impact moins important et les taux de SVR et d'échappement étaient comparables selon les différents génotypes de l'IL28B (CC : 79%, CT : 60%, TT : 61%) [36]. Chez ces patients en échec de bithérapie, la réponse au traitement antérieur apparaît être le meilleur facteur prédictif de réponse avant la sévérité de la maladie. En effet, dans l'étude REALIZE, le degré de fibrose n'avait pas d'impact sur la réponse chez les patients rechuteurs (SVR : F0-F2 : 86%, F3 : 85%, F4 : 84%) alors que cet impact était majeur chez les patients répondeurs partiels (SVR: F0-F2 : 72%, F3 : 56%, F4 : 34%) et chez les répondeurs nuls (SVR : F0-F2 : 41%, F3 : 39%, F4 : 14%).

Dans l'observatoire CUPIC, la réponse au traitement antérieur, le génotype 1b, la réponse virologique rapide à S4 sous télaprévir et à S4 et à S8 sous bocéprévir étaient associés à la SVR.

2.3.4. Tolérance du traitement

La tolérance des trithérapies est caractérisée par les effets secondaires habituellement observés sous interféron pégylé et ribavirine auxquels s'associent des effets indésirables propres au bocéprévir et au télaprévir.

Parmi ces effets secondaires, l'anémie est le plus fréquent et son risque de survenue est majoré d'environ 20% par rapport à une bithérapie. Une anémie <10g/dl est observée dans 40% des cas sous télaprévir et dans 50% des cas sous bocéprévir [28,29]. Il s'agit assez rarement d'une cause d'arrêt de traitement mais le recours aux réductions de dose, à l'utilisation d'EPO et éventuellement à la transfusion est fréquent au cours des traitements. Comme cela a été décrit en bithérapie, la survenue d'une anémie est corrélée à la réponse virologique prolongée chez les patients traités par bocéprévir (SVR 70-74% en cas d'anémie vs

58% en l'absence d'anémie) [37,38]. Ce constat n'a pas été retrouvé dans les études de phase 3 avec le télaprévir [39]. Avec l'une ou l'autre des molécules, les diminutions de doses de ribavirine nécessitées par l'anémie n'ont eu aucun impact sur la SVR quel que soit le moment de ces diminutions par rapport à l'initiation du traitement. Une étude a comparé de façon prospective deux stratégies de prise en charge de l'anémie chez des patients traités par bocéprévir : réduction de dose de ribavirine ou EPO. La réduction de dose de ribavirine est plus efficace sur l'anémie et n'a pas d'impact défavorable sur la réponse jusqu'à une diminution de 50% des posologies initiales. Il s'agit donc de la stratégie recommandée en première intention lors d'une anémie sous trithérapie. L'EPO est utilisée en seconde intention si les réductions de doses s'avèrent inefficaces. Toutefois, cette étude n'incluant que peu de patients cirrhotiques, il est recommandé d'être prudent lors des diminutions de posologie précoces et importantes chez les patients cirrhotiques [40,41]. Alors que des effets secondaires cutanés, le plus souvent bénins, mais parfois invalidants, sont observés dans 20 à 25% des cas sous bithérapie, des lésions cutanées surviennent lors des trithérapies incluant du télaprévir dans 54% des cas. Il s'agit dans la majorité des cas de lésions eczématiformes de sévérité et d'extension variable, souvent associées à un prurit intense. Les critères de gravité sont définis par l'extension des lésions mais aussi par l'apparition de lésions vésiculeuses ou bulleuses, d'atteinte muqueuse ou de signes généraux. Ces symptômes peuvent faire suspecter un syndrome de Steven Johnson, un érythème polymorphe ou un DRESS syndrome et justifient un arrêt rapide du traitement et une prise en charge spécialisée rapide. Des éruptions sévères de par leur extension surviennent dans environ 5% des cas sous télaprévir. Les effets secondaires graves avec atteinte bulleuse ou les DRESS syndromes sont par contre exceptionnels et ont été décrits dans moins de 1% des cas. Dans la majorité des cas, les lésions cutanées permettent la poursuite du traitement grâce à une prise en charge dermatologique et des soins locaux adaptés [42,43]. Des troubles digestifs sont observés dans 20 à 40% des cas avec les deux molécules. Des effets secondaires graves sont rapportés dans 3 à 10% des cas dans les études de phase 3 et ces effets secondaires sont responsables d'arrêts prématurés des traitements dans environ 16% des cas.

Les études de cohortes et en particulier l'étude CUPIC ont montré que les effets secondaires étaient plus sévères et plus fréquents chez les patients cirrhotiques. Dans cette étude, 44 à 55% des patients ont présenté un effet secondaire grave, 17 à 24% ont arrêté leur traitement en raison de ces effets secondaires, 4 à 10% ont présenté des infections graves et 9 à 12% un taux d'hémoglobine <8g/dl. Une thrombopénie < 100000/mm³ et une albuminémie < 35g/l étaient les deux facteurs associés au risque de survenue d'un effet indésirable grave [32,33].

2.3.5. Expérience d'une cohorte locale

Nous avons récemment étudié l'effet d'un traitement par trithérapie associant un inhibiteur de protéase (le télaprévir ou le bocéprévir), l'IFN pégylé et la ribavirine chez des patients n'ayant pas répondu à une bithérapie classique IFN pégylé/ribavirine (**Annexe 1: article en cours de publication dans Journal of Viral Hepatitis**).

Dans cette étude basée sur 186 patients infectés par un VHC de génotype 1, nous avons évalué l'efficacité et la tolérance d'un retraitement par trithérapie. Une eRVR (réponse virologique rapide étendue, cf. Tableau 1) a été observée chez 60% des patients traités par télaprévir et 50% des patients ayant reçu du bocéprévir (p=0.231). Les taux de SVR étaient respectivement de 55% et 47% (p=0.336). Au total, 14% des patients traités par télaprévir ont interrompu leur traitement pour effets indésirables vs 8% des patients traités par bocéprévir (p=0.300). Il est intéressant de noter que 29% des patients n'ayant pas eu d'eRVR

ont tout de même eu une SVR soulignant ainsi l'importance de ne pas interrompre le traitement chez ces patients.

L'analyse du score de MELD montre une augmentation significative du score pendant le traitement par inhibiteur de protéase avec chez les patients traités par télaprévir une baisse significative et un retour à la normale à l'arrêt du télaprévir.

Une baisse significative du débit de filtration glomérulaire (DFG) a également été observée dans les 2 groupes de traitement (télaprévir ou bocéprévir) après l'introduction de l'inhibiteur de protéase. Un retour à la normale est observé 3 mois après l'arrêt du télaprévir mais chez les patients ayant reçu du bocéprévir, le DFG restait sous la valeur initiale.

Au total, plus de 40% des patients ont eu une baisse du $DFG > 20 \text{ ml/mn}/1.73 \text{ m}^2$ (40% pour le télaprévir, 48% pour le bocéprévir). Il semblerait que la réponse virologique soit associée à une altération de la fonction rénale avec 86% des patients sous télaprévir et avec une baisse de $DFG > 20 \text{ ml/mn}/1.73 \text{ m}^2$ ayant une eRVR vs seulement 51% des patients avec une baisse de $DFG < 20 \text{ ml/mn}/1.73 \text{ m}^2$ ($p < 0.001$).

En conclusion, cette étude montre que les trithérapies basées sur le télaprévir ou le bocéprévir conduisent à un taux élevé de SVR, ceci même chez des patients initialement non-répondeurs à une bithérapie classique associant l'IFN pégylé et la ribavirine. Cette étude suggère également d'être prudent quant à l'interprétation des résultats d'eRVR puisque une part importante (environ 1/3) des patients n'ayant pas de eRVR développeront tout de même une SVR (répondeurs lents). Enfin nos résultats soulignent l'importance du suivi de la fonction rénale au cours des traitements par inhibiteurs de protéase.

3. Rappel sur la Ribavirine

La ribavirine (1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide), analogue nucléosidique de la guanosine, est un antiviral à large spectre, connu depuis une trentaine d'année, actif in vitro et/ou in vivo sur de nombreux virus à ARN ou ADN [44-46]. Cette molécule est principalement utilisée dans le traitement de l'hépatite C, des infections sévères à virus respiratoire syncytial, certaines fièvres hémorragiques et plus récemment dans le traitement des hépatites E chez les patients immunodéprimés [47].

3.1. Données de pharmacologie clinique

Les données de la littérature montrent que la concentration plasmatique après une dose orale unique évolue en 3 phases : une phase d'absorption rapide avec une moyenne de 1.5h pour obtenir la concentration maximale (Cmax), une phase de distribution rapide (demi-vie approximative de 3.7h) et une longue phase d'élimination, la dernière concentration mesurable se situant approximativement 100h après la prise [48,49]. La ribavirine est absorbée par un mécanisme actif à 90% au niveau du grêle proximal grâce à un transporteur N1 de nucléosides. Sa biodisponibilité est de 45 à 65%, avec une importante variabilité intra et inter-individuelle atteignant 30% après l'absorption d'une dose unique [50]. L'état d'équilibre est atteint en quatre semaines, la demi-vie est de 300 heures.

La ribavirine est ensuite transportée au niveau de toutes les cellules de l'organisme grâce à un transporteur-es. Elle est alors phosphorylée. La ribavirine triphosphate est le métabolite principal en intracellulaire. Le transport vers le milieu extracellulaire nécessite une déphosphorylation. Cette propriété

est déficiente au niveau érythrocytaire, ce qui explique le défaut de déphosphorylation de la molécule et donc son accumulation. La demi-vie de la ribavirine au niveau érythrocytaire est de 40 jours ; son élimination s'effectue via l'hémolyse splénique. L'excrétion rénale de la ribavirine et de ses métabolites rend compte de 40% au plus de sa clairance [51].

Bruchfeld et Coll. [52] se sont intéressés à la pharmacocinétique de la ribavirine chez des patients infectés par le virus de l'hépatite C et ayant une insuffisance rénale, en incluant dans leur modèle la clairance calculée de la créatinine. Les auteurs ont démontré que l'élimination de la ribavirine était fortement liée à la fonction rénale, et que par conséquent la prescription de la ribavirine, seule ou en association avec l'interféron [53,54] devait être adaptée non seulement au poids mais surtout à la fonction rénale. Cependant, dans cette étude, l'effet de la fonction rénale sur la clairance de la ribavirine n'apparaissait que pour une clairance de la créatinine inférieure à 34 ml/min. Dans ce travail Suédois, les auteurs proposaient une formule de calcul permettant d'établir une posologie de ribavirine en tenant compte de la concentration cible de ribavirine et de la clairance de la créatinine. Ils concluaient que le suivi des concentrations était particulièrement nécessaire chez les patients ayant une insuffisance rénale.

D'autres études ont montré que la clairance de la ribavirine était affectée par le poids, le sexe, l'âge, et la créatinine, mais que ces 4 covariables expliquaient seulement 27 à 40% de la variation inter-individuelle des concentrations [52,55].

Le métabolisme explique majoritairement les mécanismes d'élimination de la ribavirine, mais les sites de celui-ci sont inconnus. Il est possible que le foie joue un rôle bien que Glue et al aient montré que l'insuffisance hépatique n'a pas d'impact important sur la clairance de la ribavirine. Seuls les C_{max} moyennes et les profils de concentration en fonction du temps entre 0 et 6 heures étaient différents entre les groupes à fonction hépatique normale, atteinte hépatique modérée et sévère [56]. Le tractus gastro-intestinal a été suggéré comme candidat potentiel du site majeur de l'élimination de premier passage [48]. Enfin, les repas riches en graisses peuvent augmenter la biodisponibilité de la ribavirine de 46% par rapport au jeûne [57].

3.2. Mécanismes d'action

Malgré son ancienneté, le mode d'action de la ribavirine reste imparfaitement élucidé et largement débattu. La ribavirine a vraisemblablement un effet antiviral ainsi qu'un effet immunomodulateur. Plusieurs hypothèses sont évoquées concernant son effet antiviral.

Les deux premières hypothèses proposées sont de moins en moins retenues :

- La ribavirine inhiberait l'ARN polymérase du virus de l'hépatite C par une action antivirale directe, comme démontré dans le modèle réplicon.

L'étude de Pawlotsky et Coll. [58] a montré une légère diminution initiale de la charge virale d'environ 0.5 log chez certains patients traités avec la ribavirine en monothérapie (corrélé à la concentration plasmatique de la ribavirine) [59].

- La ribavirine entraînerait une diminution du pool de GTP (guanosine triphosphate) et par ailleurs le métabolite 5' mono-phosphate de la ribavirine est un puissant inhibiteur de l'IMP déshydrogénase [60].

Par ce mécanisme, la ribavirine empêcherait la synthèse de novo de GTP, nécessaire à la réplication virale [61,62].

- D'autres mécanismes d'action antivirale ont été suggérés et sont de mieux en mieux argumentés. Des études [63,64] ont en effet évoqué la possibilité d'une action de la ribavirine sur la deuxième pente de décroissance virale de façon dose-dépendante chez les patients ayant une faible efficacité de l'interféron. Ils émettent l'hypothèse que la ribavirine n'augmenterait pas le taux de mortalité des cellules infectées mais diminuerait l'infectivité virale par mutagenèse virale. La ribavirine triphosphate, sur le modèle du poliovirus, pourrait s'incorporer en lieu et place d'un nucléotide de guanosine triphosphate et par là augmenter le nombre d'erreurs de réplication et entraîner des mutations létales (mutations catastrophes) pour le virus [65].

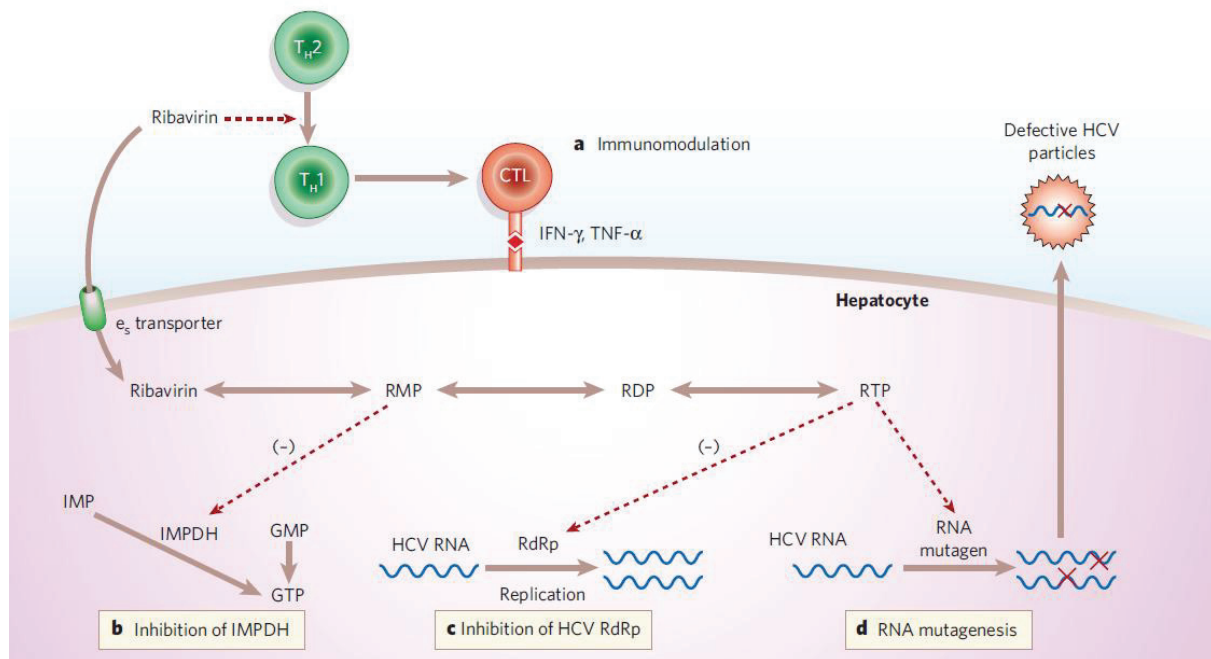
Le pouvoir mutagène inhérent à la ribavirine pourrait être faible en cas de monothérapie. Cependant, en présence d'interféron, la production de virus pourrait diminuer, et la concentration relative de ribavirine par génome viral en réplication dans les cellules infectées pourrait augmenter, entraînant la fréquence des mutations. Dans le système réplicon HCV, il a été montré que la ribavirine pouvait inhiber la capacité des génomes produits à infecter de nouvelles cellules, bien que le taux de réplication soit resté identique [63,64]. Mais une autre étude semble aller contre cette hypothèse, séduisante [66].

Feld et Coll. [67] ont suggéré que la ribavirine augmentait l'activité des gènes de réponse à l'interféron et qu'un pré-traitement par la ribavirine pouvait majorer leur induction rendant les cellules plus sensibles à l'interféron en augmentant la production d'interféron endogène. D'autres mécanismes comme la régulation négative des gènes impliqués dans les systèmes inhibiteurs de l'interféron et de l'activation des cellules stellaires ou un effet positif sur l'apoptose ont aussi été suggérés dans cette étude. Des observations similaires ont été faites in vitro avec le virus respiratoire syncytial [68]. Ces résultats suggèrent qu'une exposition suffisante et précoce à la ribavirine (absorption et distribution) pourrait influencer favorablement l'action de l'interféron et la baisse de la charge virale très précoce.

La ribavirine a donc une action antivirale probablement complexe et agissant à plusieurs niveaux de la réplication virale.

En outre la ribavirine a un effet immunomodulateur puisqu'elle régule positivement la balance des lymphocytes T auxiliaires TH1/TH2. Cette propriété pourrait rendre compte d'une grande partie de son activité clinique, en particulier sur les transaminases.

Figure 5 : Mécanisme d'action de la ribavirine (d'après Feld et Hoofnagle [69])



(a) Immunomodulation stimulant la transition T_H1-T_H2 ; (b) Inhibition de l'IMPDH entraînant une déficience de GTP ; (c) Inhibition de la polymérase de l'ARN du VHC ; (d) Stimulation de la mutagenèse de l'ARN viral entraînant une diminution de l'infectivité

3.3. Effets secondaires, toxicité hématologique

La ribavirine engendre des effets secondaires responsables d'un arrêt de traitement chez 3 à 11% des patients allant jusqu'à 35% chez les patients cirrhotiques (29). Ces effets sont en général réversibles à l'arrêt du traitement. La ribavirine est responsable de manifestations allergiques comme une toux sèche chronique, ou un prurit. Le plus fréquent des effets secondaires est l'anémie hémolytique secondaire à l'accumulation intra érythrocytaire. Au cours de la bithérapie pégylée, 25 % des patients présentent une anémie avec un taux d'hémoglobine <10g/dL au cours du traitement, et 13 % nécessiteraient une modification des doses de ribavirine [3,5].

Cette anémie induite par la ribavirine serait corrélée de façon prépondérante à la concentration plasmatique de ribavirine et non à la posologie rapportée au poids [70]. Un travail Japonais publié uniquement sous forme d'abstract [71] retrouve la corrélation entre la chute de l'hémoglobine et la concentration plasmatique de ribavirine, et montre aussi que la sévérité de l'anémie est indépendante du taux initial de l'hémoglobine.

Par ailleurs le phénotype de l'haptoglobine a été retrouvé comme un facteur déterminant dans le risque hémolytique induit par la ribavirine [72].

3.4. Efficacité

3.4.1. Efficacité en monothérapie

Administrée en monothérapie, dans le traitement de l'hépatite C, la ribavirine entraîne une normalisation progressive en plusieurs mois des transaminases dans 30% à 50% des cas avec une rechute constante à l'arrêt du traitement [73]. Le bénéfice histologique avec des traitements prolongés est suggéré mais reste à démontrer sur de grandes séries [74].

Tableau 3 : Réponse à la monothérapie par ribavirine en fonction de la sévérité de l'atteinte hépatique (d'après Zoulim et Coll. [74])

Réponse	Hépatite chronique (n=50)	Cirrhose (n=45)	p
Réponse complète*	27 (54%)	11 (24%)	0.003
Non-réponse	23 (46%)	34 (76%)	
Clairance ARN VHC	5 (10%)	2 (4%)	0.37

**définie par une normalisation des transaminases*

Le travail de Bonaventure et Coll. [75] a évalué rétrospectivement l'effet d'un traitement par monothérapie de ribavirine chez 129 patients traités en moyenne 60 mois. Les résultats ont montré une faible efficacité antivirale (diminution de 0,2 log), une réponse biochimique dans 60 % des cas, une amélioration histologique avec 44% d'amélioration du score d'activité quelle que soit la réponse, et 24% d'amélioration du score de fibrose chez les patients ayant normalisé leurs transaminases.

3.4.2. Efficacité en bithérapie

1994, Brillanti et Coll. ont mis en évidence les résultats prometteurs de la ribavirine en association avec l'IFN- α [76]. Celle-ci est ensuite devenue un composant clé des traitements anti-VHC à base d'IFN [77,78] et ensuite d'IFN pégylé [3,5,6] augmentant les taux de SVR d'environ 25-30%. Cet effet bénéfique de la ribavirine a été largement attribué à une réduction du taux de rechute à l'arrêt du traitement. Il a été montré en effet que la ribavirine prévenait la rechute en accélérant significativement la seconde pente de décroissance de l'ARN viral chez les patients répondant à l'IFN pégylé [79].

3.4.3. Efficacité en trithérapie

Des données récentes d'études associant des agents antiviraux directs (DAA) avec de la ribavirine suggèrent également un effet bénéfique de la ribavirine dans ces stratégies thérapeutiques. La première étude rapportant un impact potentiel de la ribavirine impliquait le RG1626, un inhibiteur de nucléoside, et montrait un effet synergique de la ribavirine [80].

L'effet bénéfique de la ribavirine dans les traitements avec inhibiteurs de protéase a été montré à la fois dans les études *in vitro* [81] et dans trois larges études de phase 2, PROVE II [42], PROVE III [43], et SPRINT-1 [82]. En résumé, les patients qui n'ont pas reçu de ribavirine dans les études PROVE et ceux avec faible

dose de ribavirine dans l'étude SPRINT-1 avaient une probabilité d'échappement ou de rechute plus importante, ainsi qu'un taux de SVR plus faible. Ces données montrent donc qu'une dose standard de ribavirine est nécessaire pour une réponse optimale à un traitement à base d'inhibiteur de protéase de première génération.

3.4.4. Bénéfice de la ribavirine dans les traitements sans IFN

Des études récentes ont montré qu'un traitement sans IFN associant un inhibiteur de protéase ainsi qu'un inhibiteur de polymérase était bien plus efficace avec addition de ribavirine [83,84]. Ces études associant des DAA suggèrent un effet bénéfique de la ribavirine surtout lorsque les molécules associées présentent une faible barrière génétique [85].

4. Le dosage de ribavirine

Les données cliniques et pharmacodynamiques actuelles suggèrent qu'une exposition suffisante et précoce à la ribavirine augmente le taux de réponse virologique soutenue en diminuant notamment le pourcentage de rechute.

Le but du dosage potentiellement suivi par une adaptation posologique est de réduire la variabilité des concentrations plasmatiques en rapport avec la variabilité inter-individuelle des paramètres de pharmacocinétique. De plus, pour la ribavirine, il existe une double relation entre la concentration plasmatique et l'efficacité antivirale d'une part, et la toxicité d'autre part, alors qu'il n'y a pas de corrélation directe entre la dose de ribavirine ingérée et la concentration plasmatique [49]. Il a été suggéré par ailleurs que des cofacteurs tels que le poids, le sexe, l'âge, la prise alimentaire, et le taux de créatinine, intervenaient en partie dans la pharmacocinétique de la ribavirine, probablement avec d'autres cofacteurs pharmacogénétiques non encore établis [55].

4.1. Plasma ou sérum

La plupart des études suscitées se sont intéressées aux dosages plasmatiques de la ribavirine. Cependant, *in vitro*, il a été démontré que la concentration plasmatique de ribavirine diminuait avec le temps si l'échantillon sanguin n'était pas analysé immédiatement après le prélèvement, en raison d'un passage intra-érythrocytaire de celle-ci via des transporteurs d'équilibrage. Cette diminution est d'environ 30% après une heure de conservation du prélèvement à température ambiante à 60% après 3 heures. L'hypothèse la plus plausible pour cette diminution est que la phosphorylation de la ribavirine contenue dans les globules rouges se poursuit *in vitro* induisant une diminution continue de ce pool intra-érythrocytaire, compensée par le passage de la ribavirine du plasma vers les globules rouges. La phase pré-analytique de mesure des concentrations plasmatiques de ribavirine a ainsi été standardisée : la mesure résiduelle plasmatique est effectuée à partir d'un échantillon sanguin déposé dans la glace sitôt que le prélèvement est réalisé et centrifugé dans les 15 minutes. Il est possible qu'une partie de la variabilité des concentrations plasmatiques de ribavirine soit attribuable à cette étape initiale de traitement de

l'échantillon si ces mesures pré-analytiques ne sont pas respectées notamment lors du temps de transport du tube de prélèvement du service clinique vers le laboratoire.

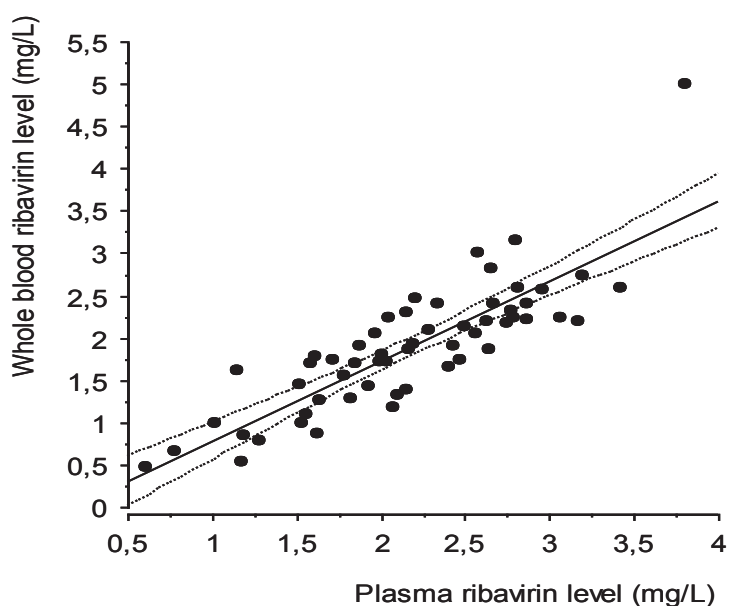
4.2. Erythrocyte

La mesure de la concentration intra-érythrocytaire a été suggérée comme plus pertinente par Dahari et al (16). Leur travail montre que l'accumulation précoce intra-érythrocytaire de la ribavirine est plus importante chez les patients qui vont avoir une SVR. Cependant, l'accumulation irréversible de ribavirine-triphosphate n'est probablement pas un bon reflet du turn-over de la drogue dans les autres cellules cibles comme les hépatocytes où l'activation de la ribavirine en métabolites tri-phosphates est réversible. Il n'y a actuellement aucune preuve scientifique que le dosage de la ribavirine intra-érythrocytaire soit une meilleure approche que les dosages plasmatiques.

4.3. Sang total

Nous avons proposé de mesurer les concentrations de ribavirine sur sang total congelé immédiatement après prélèvement, dans le but de diminuer la variabilité des concentrations en limitant cette étape pré-analytique. Les concentrations de ribavirine mesurées sur sang total congelé ont été comparées à celles obtenues sur plasma. Cette comparaison plasma/sang total a d'abord été évaluée sur le plan analytique à l'aide de 57 échantillons de patients atteints d'hépatite chronique C et traités par bithérapie pégylée. La concentration moyenne de Ribavirine dans le sang total ($1,89 \pm 0,75$ mg/L) est équivalente à celle du plasma ($2,17 \pm 0,67$ mg/L) (Figure 6).

Figure 6 : Concentration de ribavirine dans le plasma et le sang total de 57 patients traités par ribavirine. Coefficient de corrélation: 0,841; $r^2 = 0,71$; Intervalle de confiance 95%: 0,743 - 0,904



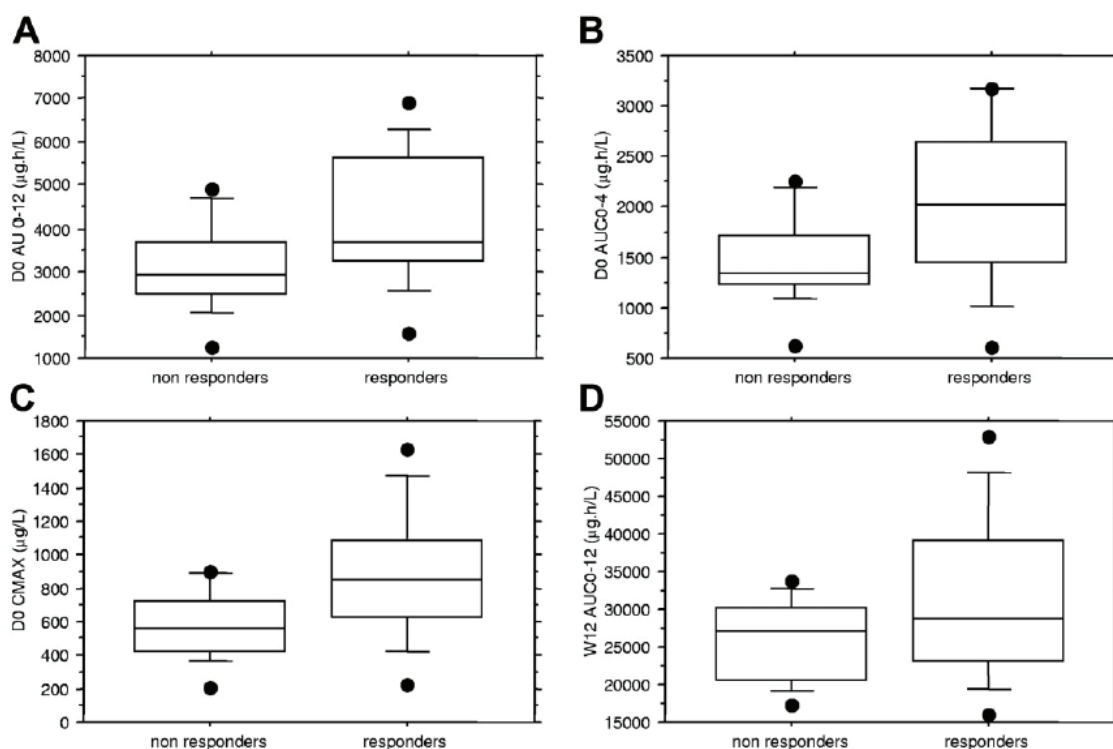
5. Corrélation AUC/taux résiduels/SVR en bithérapie

Les premières tentatives d'étude PK-PD dans la littérature ont été basées sur des stratégies de dosages uniques. Dans leur modèle de réponse, Jen et Coll. ont conclu que les concentrations sériques à l'état d'équilibre (W4) avaient un impact sur la SVR mais que cet impact était moindre que le génotype et la charge virale [86]. Cependant, l'intervalle entre la dernière prise de ribavirine et le prélèvement sanguin n'était pas rapporté ni prédéterminé. Larrat et Coll. ont aussi montré une relation entre la SVR et une concentration unique de ribavirine prélevée 2 à 4 heures après la prise du matin à la semaine 12 (n=24; p=0.03) [87].

Plusieurs études ont démontré que la réponse virologique de la bithérapie peginterferon alfa-2a/b plus ribavirine s'accroît proportionnellement avec la concentration plasmatique effective de la ribavirine. Initialement, Jen et al. montraient que le taux de réponse virologique à S24 passait de 30,9% à 45,2% pour une concentration de ribavirine de 1,5 mg/L à 3,0 mg/L, respectivement [55].

Une mesure très précoce de l'ASC, à J0, a été proposée comme valeur prédictive de la SVR par Loustaud-Ratti et Coll. [88]. Cette étude prospective, observationnelle, conduite chez 27 patients infectés par un VHC de génotype 1, rapporte que l'ASC_{0-12h} et l'ASC_{0-4h} abrégée, déterminée après la 1^{ère} dose de ribavirine à J0, sont significativement corrélées à la SVR et non l'ASC_{0-12h} à S12. Deux valeurs seuils ont été définies pour les ASC à J0 (courbe ROC) : 3 014 µg/h/L pour l'ASC_{0-12h}, avec une sensibilité de 91 % et une spécificité de 61 % et 1 755 µg/h/L pour l'ASC_{0-4h}, avec une sensibilité de 72 % et une spécificité de 85 %. La mesure de l'ASC_{0-4h} devrait être retenue offrant une meilleure accessibilité de mise en œuvre chez des patients ambulatoires, avec une puissance prédictive similaire sur la SVR. Compte tenu de l'importance d'obtenir une décroissance virale très rapide dans les premières semaines voire les premiers jours du traitement, une adaptation de posologie très précoce grâce à la mesure de l'ASC_{0-4h} à J0 pourrait accroître la probabilité d'obtention d'une SVR.

Figure 7 : Diagrammes montrant l'exposition à la ribavirine à J0. (A) J0 AUC_{0-12h}, (B) J0 AUC_{0-4h}, (C) J0 Cmax, (D) S12 AUC_{0-12h} chez des patients avec SVR (n=11) et chez des patients sans SVR (n=13) (les barres au milieu des boîtes représentent la médiane, les extrémités des boîtes représentent les 25^e et 75^e centiles, les moustaches les 10^e et 90^e centiles et les points noirs les extrêmes (d'après Loustaud-Ratti et Coll.[88]).



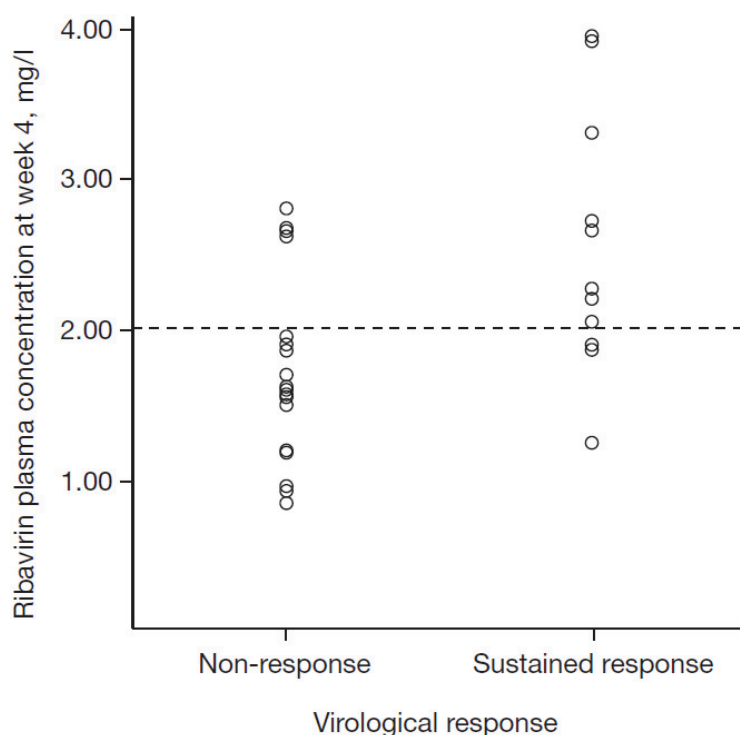
Dans une étude prospective portant sur 31 patients VHC de génotype 1 et dont l'objectif était de déterminer le seuil de concentration résiduelle de ribavirine associé à la SVR [89], nous avons proposé un seuil de 2mg/L à S4 comme prédictif de la SVR. L'analyse par courbe ROC montrait que ce seuil était associé à une sensibilité de 73% et une spécificité de 80%. Parmi les patients présentant une concentration >2mg/L à S4, 67% allaient obtenir une SVR contre seulement 16% des patients ayant une concentration <2mg/L (p=0,007).

Tableau 4 : Analyse uni- et multivariée par régression logistique pour la réponse virologique soutenue (d'après Maynard et Coll. [89]).

	Univariate		Multivariate	
	EOR (95% CI)	P-value	EOR* (95% CI)	P-value
Ribavirin plasma concentration (>2 mg/l versus ≤2 mg/l)	10.7 (1.91–59.6)	0.007	–	–
Age	0.92 (0.83–1.03)	0.16	26.6 (2.66–267)	0.005
Gender (female versus male)	2.80 (0.61–12.9)	0.19	12.4 (1.93–79.1)	0.008
Patient status (naïve versus non-responder)	4.72 (0.86–20.0)	0.08	8.92 (1.52–52.3)	0.015
Weight	0.95 (0.90–1.01)	0.10	8.39 (1.44–48.9)	0.018
Baseline viral load (<800,000 versus >800,000)	1.75 (0.39–7.92)	0.47	13.3 (2.05–86.3)	0.007

The multivariate analysis evaluates the effect of ribavirin concentration using serial regression models with two covariates each. *Each estimated odds ratio (EOR) of the multivariate model reflects the effect of ribavirin independently of each specific covariate. 95% CI, 95% confidence interval.

Figure 8 : Concentration plasmatique de ribavirine à S4 et réponse virologique soutenue (SVR) chez 31 patients VHC de géotype 1 (d'après Maynard et al. [89]).



D'autres études ont évalué l'association entre la concentration de ribavirine ou l'ASC et la SVR chez les patients mono-infectés VHC. Ces études sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Récapitulatif des études ayant évalué l'association entre la concentration de ribavirine (CRBV) ou l'ASC et la SVR chez les patients mono-infectés VHC (d'après Solas et Coll.[90])

Jen et al. [55] 929 patients naïfs, tous géotypes confondus	CRBV à S4 prédictive de la SVR CRBV à S4 > 3,5-4 µg/mL associée à 49 % de SVR
Larrat et al. [87] 24 patients naïfs, Génotype 1	CRBV à S12 et S24 significativement plus élevées chez les patients avec SVR par rapport aux non répondeurs CRBV S12 et S24 > 3 µg/mL associée à la SVR
Tsubota et al. [91] 27 patients naïfs, Génotype 1	CRBV à S4 > 2 µg/mL prédictif de la SVR
Maynard et al. [89] 31 patients (8 naïfs, 23 non répondeurs à un 1 ^{er} traitement), Génotype 1	CRBV à S4 > 2 µg/mL prédictif de la SVR
Arase et al. [92] 68 patients naïfs, Génotype 1	CRBV à S8 ≥ 3 µg/mL prédictif de la SVR
Lindahl et al. [93]	Utilisation de fortes doses de ribavirine calculée pour atteindre une C _{RBV} à S4 > 3,6 µg/mL

10 patients naïfs, Génotype 1	$C_{RBV} > 3,5 \mu\text{g/mL}$ à S12 chez tous les patients et SVR chez 9/10 patients
Loustaud-Ratti et al. [88] 28 patients naïfs, Génotype 1	ASC _{0-12h} à J0 corrélée à ASC _{0-4h} à J0, toutes deux prédictives de la SVR AUC_{0-4h} à J0 > 1 755 $\mu\text{g.h/L}$ prédictive de la SVR (sensibilité : 72 % ; spécificité : 85 %)
Christensen et al. [94] 382 patients, Génotypes 2/3	C_{RBV} à S4 > 2 $\mu\text{g/mL}$ prédictive de la SVR (VPP = 91 %)

ASC : aire sous la courbe ; **C_{RBV}** : concentration de ribavirine ; **SVR** : réponse virologique soutenue ; **S** : semaine ; **VHC** : virus de l'hépatite C ; **VPP** : valeur prédictive positive

6. Intérêt du dosage dans des situations thérapeutiques particulières

6.1. Patients insuffisants rénaux et dialysés

Alors que l'interféron standard puis l'interféron pégylé étaient utilisés de longue date en cas d'insuffisance rénale ou de dialyse à posologie adaptée, la ribavirine a longtemps été contre-indiquée chez les patients insuffisants rénaux sévères ou les dialysés [95]. Le peu de données disponibles concernant d'éventuelles adaptations posologiques et la crainte d'anémie hémolytique sévère expliquaient cette attitude. Les travaux de Bruchfeld ont été parmi les premiers à utiliser la ribavirine dans ces situations et, en s'appuyant sur les dosages pharmacologiques, à faire des recommandations posologiques adaptées à la fonction rénale [52-54]. Deux études pilotes incluant respectivement 6 et 5 patients ont traité des patients dialysés par une association interféron standard et ribavirine. Les posologies de ribavirine étaient de 600 mg par semaine pour l'une et de 200 à 400 mg par jour pour l'autre et les patients recevaient de l'EPO. Cette association a permis une négativation de l'ARN viral chez 9 des 11 patients. Le traitement a dû être interrompu pour intolérance chez 3 patients [54,96]. Par la suite Bruchfeld puis d'autres équipes ont associés la ribavirine et l'interféron pégylé chez des patients dialysés en utilisant des posologies de ribavirine adaptées mais non guidées par les dosages pharmacologiques. Deltenre et Coll. ont traité 31 patients dialysés par interféron pégylé α -2a ou α -2b et ribavirine. Les posologies médianes de ribavirine reçues étaient de 112 mg par jour et deux stratégies d'utilisation de l'EPO ont été comparées (posologie augmentée en fonction du taux d'hémoglobine ou doublement initial de la posologie d'EPO avant l'introduction des antiviraux). 18 à 40% des patients ont été transfusés selon la stratégie utilisée et une réponse virologique prolongée a été observée chez 48% des patients [97]. Plus récemment, une étude taiwanaise randomisée a comparé, chez des patients dialysés un traitement par interféron pégylé α -2a (135 $\mu\text{g/sem}$) à une bithérapie interféron pégylé et ribavirine (200 mg/j). Une anémie était plus fréquemment observée dans le bras bithérapie mais il n'y avait pas plus d'arrêts de traitement qu'en monothérapie. Une réponse virologique prolongée était observée chez 64% des patients traités en bithérapie contre 33% en monothérapie ($p < 0,001$) [98]. Enfin, une étude pilote récemment publiée a montré qu'il était possible de traiter par une trithérapie à base de télaprévir 4 patients dialysés avec de bons résultats virologiques et une tolérance acceptable [99].

Dans ce contexte, nous avons étudié rétrospectivement 63 patients, suivis dans deux hôpitaux lyonnais, insuffisants rénaux, dialysés ou non, et ayant bénéficié d'un traitement antiviral par interféron (pegylé ou standard) et ribavirine (article collaboratif en cours de rédaction). L'objectif de ce travail était d'étudier l'efficacité et la tolérance de la ribavirine chez ces patients, de rechercher un lien éventuel entre la réponse virologique et les concentrations plasmatiques résiduelles de ribavirine à S4, S8 et S12 et de

définir une valeur seuil de concentration résiduelle à atteindre qui pourrait servir de référence pour des adaptations posologiques.

Patients et méthodes

63 patients (40 hommes et 23 femmes) insuffisants rénaux dialysés ou non, porteurs d'une hépatite chronique C et traités par une association d'interféron (standard ou pégylé) et de ribavirine ont été inclus dans cette étude rétrospective. 42 patients présentaient une insuffisance rénale modérée ($30 \leq \text{Cl créatinine} \leq 60 \text{ ml/mn}$), 4 patients une insuffisance rénale sévère ($15 \leq \text{Cl créatinine} \leq 29 \text{ ml/mn}$) et 17 patients étaient dialysés. Parmi les insuffisants rénaux, 18 étaient transplantés hépatiques, dont 2 ayant bénéficié d'une double greffe foie-rein. 13 patients avaient des antécédents de transplantation rénale dont 10 étaient retournés en dialyse au moment du traitement. En raison des effectifs, les patients insuffisants rénaux sévères ont été regroupés pour l'analyse avec les insuffisants rénaux modérés. Parallèlement aux paramètres biologiques habituels au suivi du traitement en bithérapie, la quantification de l'ARN viral à S4 et S12 et les taux résiduels de ribavirine à S4, S8 et S12 ont été recueillis. Les posologies de traitement prescrites, les adaptations posologiques, les effets secondaires, en particulier hématologique, et les arrêts de traitement ont été recherchés pour chaque patient.

Le Tableau 6 rapporte les caractéristiques des patients et les posologies initiales de ribavirine reçues.

Tableau 6 : Caractéristique des patients et posologies de ribavirine reçues

Patients n=63		Dialysés n=17 (%)	IR modérée et sévère n=46 (%)
Génotype	1	10 (58,8)	36 (78,3)
	2	2 (11,8%)	4 (8,7)
	3	2 (11,8%)	5 (10,5)
	4	3 (17,6)	1 (2,3)
Fibrose	F0,F1,F2	12	29
	F3,F4	5	17
Hb moyenne (g/dl)		11,9 (9,9 – 13,7)	12,7 (11,0 – 15,1)
Poso moyenne de Riba à J0		165 mg/j (200mg x 3/sem- 200mg/j)	560 mg/j (200mg/72h - 1000mg/j)
Posologie / poids		2,7 mg/kg/j	10,4 mg/kg/j

Résultats :

Les données de réponses virologiques prolongées n'étaient pas disponibles chez 3 patients. Sept patients ont interrompu leur traitement prématurément pour une raison autre qu'un échec virologique : 5 en raison d'une anémie sévère, 1 en raison d'une intolérance à l'interféron, 1 décès de cause non hépatique.

Les réponses virologiques rapides (S4), précoces (S12) et prolongées en fonction du génotype et de l'histologie sont décrites dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Réponse virologique chez les patients dialysés et insuffisant rénaux (per protocole)

Patients n=63		Dialysés n=17 (%)	IR modérée et sévère n=46 (%)
Réponse virologique à S12 :	RVP	13	23
	RVR	2	1
	RVP complète	7	10
	RVP partielle	4	12
Réponse virologique prolongée S 24		8/13 (62)	14/40 (35)
	Génotype 1	4/8 (50)	8/31 (26)
	Génotype 2	2/2 (100)	3/3 (100)
	Génotype 3	1/1 (100)	3/5 (60)
	Génotype 4	1/2 (50)	0/1 (0)
	F0,F1,F2	6/8 (75)	11/29 (38)
	F3,F4	2/5 (40)	6/11 (55)
Arrêt prématuré du traitement		2	5
	- anémie sévère : 1 - décès : 1		- anémie sévère : 4 - intolérance IFN : 1

Chez les patients dialysés, 16 des 17 patients recevaient un traitement par EPO avant le début du traitement antiviral et tous en ont reçu un au cours du traitement. Les posologies d'EPO ont été augmentées pendant le traitement chez 82,4% des patients. Trois patients ont été transfusés (17,6%). Des diminutions de dose de ribavirine ont été proposées chez 52,9% des patients, dans certains cas face à des taux résiduels de ribavirine à S4 jugés trop élevés et faisant craindre une anémie plus sévère. Un seul patient a dû interrompre son traitement en raison d'une anémie sévère mais dans un contexte chirurgical (intervention orthopédique).

Chez les patients insuffisants rénaux, 39% (18/46) ont reçu de l'EPO et 4 ont été transfusés dont 2 étaient des insuffisants rénaux sévères. Des réductions de dose de ribavirine ont été proposées dans 26% des cas et des arrêts temporaires dans 11% des cas. Le traitement a été arrêté définitivement chez 4 patients (8,7%) en raison d'une anémie malgré la prescription d'EPO chez 3 et des transfusions chez 2.

Les résultats des taux résiduels de ribavirine à S4, S8 et S12 sont rapportés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Résultats des taux plasmatiques moyens de ribavirine (mg/l)

Patients n=63		Dialysés n=17 (%)		IR modérée et sévère n=46 (%)	
		R	NR	R	NR
Dosage à S4	RVP	1,47	0,91	2,7	2,36
	SVR	1,26 (RR : 0,56)	0,91	2,86 (RR : 2,54)	2,36
Dosage à S8	RVP	1,48	1,22	2,5	2,15
	SVR	1,38 (RR : 0,8)	1,22	2,76 (RR : 2,31)	2,15
Dosage à S12	RVP	1,65	1,42	2,79	3,07
	SVR	1,74 (RR : 1,48)	1,42	3,22 (RR : 2,43)	3,07

On constate que les valeurs moyennes des taux résiduels de ribavirine à S4, S8 et S12 sont constamment plus élevées chez les patients présentant une réponse virologique prolongée (SVR) que chez les non répondeurs et les rechuteurs. Ce constat est le même, à une exception près si l'on s'intéresse à la réponse virologique précoce. Ces différences ne sont cependant pas significatives. Nous avons tenté de définir un taux seuil de concentration de ribavirine prédictif d'une réponse virologique prolongée. Chez les patients dialysés, aucun seuil n'a pu être retenu. Chez les patients insuffisants rénaux non dialysés, l'analyse par courbe ROC a montré que la valeur la plus discriminante était un taux résiduel de 2,85 mg/l à S4 avec une sensibilité de 71% et une spécificité de 69%. La valeur prédictive négative de ce seuil était de 85% et la valeur prédictive positive de 50%. Il existait une corrélation entre les posologies de ribavirine reçues et les concentrations plasmatiques à S4. Il n'existait pas de différence significative pour les concentrations en fonction de l'âge, du sexe ou de la sévérité de la fibrose.

Discussion

Le taux de réponse virologique prolongée obtenu dans cette série rétrospective est, en intention de traiter, de 53% chez les patients dialysés et de 31% chez les patients insuffisants rénaux. Ces résultats plus

favorables chez les sujets dialysés ont déjà été rapportés lors des traitements par interféron seul et attribués à une meilleure biodisponibilité de l'interféron. Les résultats chez les patients dialysés sont cependant moins bons que ceux rapportés dans l'étude taiwanaise qui faisait appel à une bithérapie par interféron pégylé α -2a et ribavirine. Cette différence est en partie expliquée par l'hétérogénéité des traitements reçus dans notre cohorte, puisque parmi les patients parvenus au terme de leur traitement, 5 ont reçu de l'interféron standard, 27 de l'interféron pégylé α -2a et 21 de l'interféron pégylé α -2b en association avec la ribavirine. Les résultats médiocres observés chez les patients insuffisants rénaux semblent être liés à plusieurs facteurs. Le premier est la tolérance plutôt moins bonne chez ces patients qui se caractérise par des arrêts de traitement plus fréquents. Le second est le nombre important de patients transplantés hépatiques dans ce groupe chez lesquels le taux de SVR est classiquement moins élevé et la tolérance au traitement moins bonne.

Chez les patients dialysés, le traitement antiviral n'a dû être interrompu que chez un patient en raison d'une anémie sévère qui est survenue dans le contexte d'une chirurgie orthopédique. Dans tous les autres cas, l'augmentation anticipée des posologies d'EPO, et l'adaptation des doses de ribavirine aux taux plasmatiques a permis d'éviter la survenue d'anémie sévère tout en maintenant des posologies efficaces.

Chez les patients non dialysés, le nombre d'arrêts définitifs de traitement était lui aussi assez faible puisque seuls 5 patients ont interrompu leur traitement pour intolérance. Une anémie sévère était la cause principale de ces arrêts chez 4 d'entre eux. Parmi ces 4 patients, 2 avaient une insuffisance rénale sévère et 2 une clairance de la créatinine < 40 ml/mn. Chez ces patients, l'anémie a continué à s'aggraver au-delà de la quatrième semaine de traitement et n'a pas répondu à l'EPO qui n'a été introduite qu'après son apparition. Les diminutions de dose de ribavirine et les transfusions n'ont pas permis de contrôler durablement le syndrome anémique. Chez un de ces patients qui présentait une réponse virologique, la ribavirine a été interrompue et l'interféron poursuivi dans l'espoir de maintenir la réponse obtenue. Malgré la poursuite de l'EPO et plusieurs épisodes transfusionnels l'anémie n'a pu être contrôlée, alors que les taux résiduels de ribavirine décroissaient lentement. Une recherche d'Ac anti-EPO et un myélogramme ont été réalisés et la situation hématologique n'a pu être contrôlée qu'après l'arrêt de l'interféron. Cette observation témoigne, en particulier chez les insuffisants rénaux, de la myélotoxicité de l'interféron et de sa contribution au syndrome anémique chez certains malades. L'apparition de ces anémies sévères chez des patients ayant une insuffisance rénale sévère ou une clairance de la créatinine < 40 ml/mn peut être expliquée par les résultats de Bruchfeld qui montre dans son étude que l'effet de la fonction rénale sur la clairance de la ribavirine n'apparaît que pour une clairance de la créatinine inférieure à 34 ml/min [52]. Chez ces patients, les dosages de ribavirine montrent une croissance constante des taux résiduels peu influencée par les réductions de dose qui sont probablement trop tardives et qui ne régressent que très lentement après l'arrêt de la ribavirine. On peut aussi noter que la stratégie d'utilisation de l'EPO est différente de celle des dialysés puisque elle n'a été débutée qu'au moment de l'apparition de l'anémie et non avant comme chez les dialysés. Cette introduction tardive ne permet pas d'éviter l'apparition d'une anémie sévère du fait du délai d'action de la molécule et de l'accumulation croissante de la ribavirine. Il apparaît donc que les patients les plus difficiles à traiter et pour lesquels le monitoring pharmacologique, les adaptations de dose et l'utilisation des facteurs de croissance n'ont pas permis la poursuite du traitement sont les insuffisants rénaux sévères non dialysés. Chez ces patients, il est probablement nécessaire si l'on veut introduire de la ribavirine de débiter l'EPO de façon anticipée comme cela a été fait chez les dialysés. Dans certains cas, si l'atteinte hépatique le permet, il semble préférable d'attendre le passage en dialyse avant d'envisager un traitement antiviral en bithérapie.

L'ensemble des études citées précédemment ont montré qu'une exposition suffisante à la ribavirine, en particulier au cours de premières semaines du traitement, était capitale pour l'obtention d'une SVR. Dans ce travail, probablement en raison d'un effectif faible, mais aussi de l'hétérogénéité des schémas thérapeutiques et des profils de patients, il n'a pas été retrouvé de lien significatif entre les concentrations résiduelles de ribavirine à S4, S8 ou S12 et la réponse virologique. On constate cependant que chez tous les patients dialysés ou non, les taux résiduels étaient toujours plus hauts chez les patients répondeurs que chez les non répondeurs ou les rechuteurs. Alors que la réponse virologique est meilleure chez les patients dialysés, on constate de façon étonnante que les taux de ribavirine sont significativement plus bas chez ceux-ci. Ce constat va à l'encontre des travaux déjà cités qui montraient d'une part un lien entre l'exposition à la ribavirine et la réponse virologique et d'autre part des concentrations plasmatiques de ribavirine similaires entre des patients dialysés recevant 200mg/j de ribavirine et des patients sans insuffisance rénale recevant 1200 mg/j de ribavirine [96]. Les meilleurs résultats virologiques peuvent au moins en partie être expliqués par une meilleure efficacité de l'interféron puisque un traitement par interféron en monothérapie donne de meilleurs résultats chez les malades dialysés que chez les malades sans insuffisance rénale. En ce qui concerne les taux bas de ribavirine, le fait qu'un certain nombre de patients dialysés n'ait pas reçu quotidiennement la ribavirine et les délais entre le prélèvement et la dialyse variables dans notre étude pourraient expliquer ces résultats en raison du caractère dialysable de la ribavirine.

En raison d'un effectif trop faible, il n'a pas été possible dans notre étude de définir un seuil de concentration de ribavirine prédictif de la SVR chez les patients dialysés. Chez les patients insuffisants rénaux non dialysés, ce seuil était à 2,85 mg/l à S4. Cette valeur est proche de celle retrouvée dans la plupart des études qui retrouvent une valeur seuil > 2 mg/l à S4 ou > 3 mg/l à S8 (Tableau 5).

Dans la population des patients dialysés et insuffisants rénaux ou la variabilité individuelle des paramètres pharmacologiques de la ribavirine est probablement plus importante que dans la population générale, l'intérêt des dosages pharmacologiques de la ribavirine paraît double. Ils sont, comme dans la population générale un des facteurs prédictifs de la réponse et permettent éventuellement d'adapter les posologies si les concentrations résiduelles sont insuffisantes. Ils sont surtout un outil de surveillance important pour prévenir la toxicité hématologique en anticipant les diminutions de doses, en particulier chez les patients insuffisants rénaux sévères et non dialysés. Ceci est d'autant plus important que l'anémie est multifactorielle chez les patients insuffisants rénaux et qu'elle n'est probablement pas aussi bien corrélée aux taux résiduels de ribavirine qu'en l'absence d'insuffisance rénale. L'utilisation des inhibiteurs de protéase de première génération chez les patients dialysés et chez les transplantés hépatiques en association avec l'interféron et la ribavirine renforcera probablement l'intérêt de ces dosages en raison du sur-risque d'anémie qu'ils induisent.

6.2. Patients co-infectés VIH-VHC

Tout comme chez les patients VHC mono-infectés, il existe chez les sujets co-infectés VIH-VHC une variabilité inter-individuelle des concentrations plasmatiques de ribavirine. Chez ces sujets également, l'exposition à la ribavirine est associée à l'efficacité mais aussi au risque d'anémie [100]. Une possible explication au plus faible taux de SVR observé chez les patients co-infectés VIH-VHC pourrait être que ces patients présentent une moins bonne biodisponibilité de la ribavirine.

Dans une étude conduite dans notre service chez 86 patients infectés par le VHC et traités par interféron pégylé/ribavirine parmi lesquels 23 (27%) étaient co-infectés VIH (**Annexe 2 : article soumis pour publication à HIV Medicine**), nous avons donc déterminé la biodisponibilité de la ribavirine (exprimée par l'ASC entre 0 et 4h) après une prise initiale de 600mg de ribavirine. Les prélèvements étaient réalisés avant la première prise de ribavirine puis après 30 min, 1, 2, et 4 heures.

Les résultats de cette étude montrent que les patients co-infectés ont une ASC_{0-4h} de ribavirine significativement plus faible que les patients mono-infectés. Cette sous-exposition à la ribavirine chez les patients co-infectés persiste après ajustement de l'ASC à la dose de ribavirine exprimée par kg et est associée au taux de CD4 avec une ASC_{0-4h} plus faible pour les patients avec CD4<33%.

Tableau 9 : Aire Sous la Courbe (ASC) et ASC normalisées pour 600 mg de ribavirine/poids chez 63 patients VHC et 23 patients VIH-VHC

	VHC (n=63)	VIH-VHC (n=23)	P	
ASC _{0-4h} (µg.h/L)	2030 (851-7700)	1469 (936-3677)	0.018	
Patients avec ASC _{0-4h} <1755 (%)	32	61	0.014	
ASC _{0-4h} normalisée(µg.h/L)/(mg/kg)	271 (82-1091)	182 (110-425)	0.001	
		CD4 <33%	CD4 ≥33%	
ASC _{0-4h}		1270 (936-2792)	1840 (1280-3677)	0.047
ASC _{0-4h} normalisée		144 (110-425)	195 (154-349)	NS

NS, non significatif; Variables quantitatives exprimées comme moyenne et étendue

D'autre part, l'analyse par régression logistique indique que la présence d'une co-infection VIH et le sexe masculin sont 2 facteurs indépendamment associés à une sous-exposition à la ribavirine (définie par une ASC<1755µg.h/L).

Par contre, aucune association n'apparaît entre ASC et sévérité de la maladie hépatique (score de fibrose) d'une part et avec le type de traitement antirétroviral d'autre part.

Tableau 10 : Identification de facteurs potentiellement associés à une sous-exposition de ribavirine (définie par une ASC<1755µg.h/L)

	Analyse univariée		Analyse multivariée	
	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
Coinfection VIH (oui vs non)	3.34 (1.24-9.01)	0.017	3.76 (1.21-11.6)	0.022
Sexe (masculin vs féminin)	7.00 (1.89-25.9)	0.004	4.59 (1.15-18.3)	0.031
Poids	1.03 (0.99-1.06)	0.067	1.03 (0.99-1.08)	0.142
Age	0.97 (0.93-1.01)	0.160	-	-
MDRD	1.00 (0.98-1.02)	0.803	-	-
Cockroft	1.01 (0.99-1.02)	0.145	1.00 (0.98-1.02)	0.927

IC, Intervalle de Confiance; MDRD, Modification of the Diet in Renal Disease; OR, Odds Ratio

Ces résultats montrent donc une plus faible biodisponibilité initiale de ribavirine chez les patients co-infectés VIH-VHC sous interféron pégylé/ribavirine qui pourrait expliquer le plus faible taux de SVR observé chez ces patients. De plus, ces résultats semblent associés à l'état immunitaire avec des valeurs comparables d'ASC entre les patients mono-infectés et les patients co-infectés ayant un taux de CD4 considéré comme normalisé.

Notre cohorte de patients co-infectés était représentative de la population VIH traitée en milieu hospitalier (57% avec CD4 > 500/mm³; 87% avec charge virale indétectable sous HAART; patients principalement sous 2 NRTIs + 1 inhibiteur de protéase boosté) [101]. Le choix de l'AUC_{0-4h} a été basé sur l'étude de Loustaud-Ratti et Coll. chez les patients mono-infectés dans laquelle les auteurs ont montré une très bonne corrélation entre l'AUC_{0-4h} et l'AUC_{0-12h} [88].

Dans le passé, il était recommandé d'utiliser de faibles doses de ribavirine chez les patients co-infectés, afin d'éviter des problèmes de toxicité associés à d'autres molécules telles que la zidovudine, la stavudine ou encore la didanosine [102,103]. Cependant, ces molécules sont aujourd'hui de moins en moins utilisées au profit d'autres moins cytotoxiques. Des doses plus importantes de ribavirine peuvent donc être utilisées chez ces patients, comme suggéré dans d'autres études [93,104].

Nos résultats pourraient impliquer des ajustements de doses de ribavirine spécifiques chez les patients co-infectés notamment en fonction de leur statut immunologique, ceci aussi bien dans le cadre de traitements avec IFN pégylé ou à l'avenir avec d'autres molécules.

6.3. Pharmacocinétique de la ribavirine lors des trithérapies

L'anémie fréquemment observée dans le traitement de l'hépatite C à base de ribavirine conduit souvent à des modifications et/ou arrêts de traitements précoces entraînant potentiellement une diminution de l'efficacité antivirale. Il a été montré que cette anémie augmentait en présence de télaprèvir. Dans une

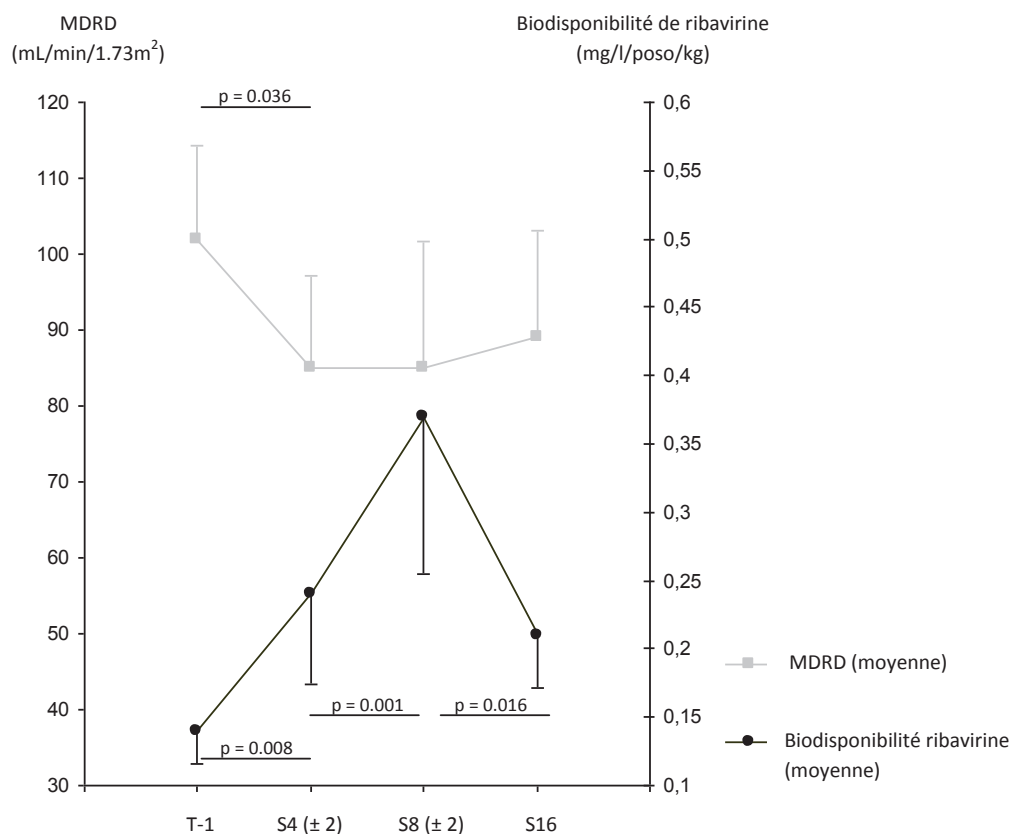
étude conduite chez des patients traités par trithérapie à base de télaprévir, nous avons mesuré l'impact du télaprévir sur l'exposition plasmatique de la ribavirine ceci parallèlement à la mesure de la fonction rénale (**Annexe 3, article soumis à Antiviral Therapy**).

Au cours de cette étude, 56 patients VHC (dont 39% de cirrhotiques) non-répondeurs à un traitement par IFN-PEG/ribavirine et retraités par trithérapie associant IFN-PEG/ribavirine et télaprévir ont été étudiés.

Les concentrations plasmatiques résiduelles ainsi que la biodisponibilité de la ribavirine (évaluée par le rapport concentration/posologie/poids) ont été déterminées avant la trithérapie (lors du traitement antérieur=T-1), pendant la phase précoce (S4±2), la phase tardive (S8±2), et après l'arrêt de la trithérapie (post S16). La fonction rénale a été mesurée par l'estimation du Débit de Filtration Glomérulaire (DFG) à l'aide de la formule du MDRD (Modification of the Diet in Renal Disease).

Les résultats indiquent qu'environ 4 semaines après l'initiation de la trithérapie, la biodisponibilité de ribavirine était significativement augmentée (gain médian 0,07 mg/l/posologie/kg; $p < 0.001$). Cette augmentation était encore plus marquée à S8 (0.21mg/l/posologie/kg; $p < 0.001$). Parallèlement, la fonction rénale était altérée avec une baisse médiane du DFG de -9,4 mL/min/1.73 m² ($p = 0.021$). Après l'arrêt du télaprévir, la biodisponibilité de ribavirine diminuait significativement (-0.12 mg/l/posologie/kg; $p = 0,016$) avec en parallèle une restauration de la fonction rénale (gain de DFG de 11.2 mL/min/1.73 m² ; $p = 0,007$). Quinze patients ont eu une réduction de dose de ribavirine entre S4 et S8. Quatorze ont malgré tout présenté une augmentation de la biodisponibilité de ribavirine malgré une diminution de la concentration plasmatique chez 6 d'entre eux.

Figure 9: Biodisponibilité de ribavirine et débit de filtration glomérulaire avant, pendant et après traitement par télaprévir



Une baisse significative du taux d'hémoglobine a également été observée entre T-1 et S4 (-12.4 g/dl; $p=0.004$), mais aucune variation significative n'a été mise en évidence entre S4 et S8 et entre S8 et S16.

La mesure de la biodisponibilité de ribavirine permet d'estimer l'exposition réelle à la ribavirine alors que le taux plasmatique résiduel varie en fonction de la posologie.

Nos résultats montrent une augmentation réversible de la biodisponibilité de ribavirine en présence de télaprévir peut-être en partie liée à la dégradation du débit de filtration glomérulaire. L'amplitude du phénomène évoque aussi une interaction pharmacologique ribavirine-télaprévir, à l'origine de la sévérité des anémies observées sous trithérapie. La persistance d'une biodisponibilité élevée de ribavirine malgré les réductions de dose recommandées lors des anémies sévères pourrait expliquer l'absence d'impact de ces réductions de dose sur la réponse virologique. Ces résultats incitent à poursuivre le suivi pharmacologique de la ribavirine lors de son utilisation future en association avec différents antiviraux directs.

6.4. Discussion

La ribavirine a depuis plus de 15 ans une place incontournable dans le traitement de l'hépatite C. Son mécanisme d'action est complexe et reste imparfaitement connu et il est probable qu'elle agisse à différents niveaux de la réplication virale. Des études récentes sont en faveur d'une action via le système interféron en stimulant les gènes inducteurs d'interféron et en permettant ainsi la production d'interféron endogène. Malgré ces incertitudes quant à son mécanisme d'action, toutes les études ont montré son bénéfice sur la réponse virologique prolongée avec une action sur la deuxième pente de décroissance de l'ARN lors des bithérapies et sur la réduction de la fréquence des rechutes après l'arrêt du traitement. Très précocement, il a été montré dans les études pivots en bithérapie qu'une posologie minimale de ribavirine était nécessaire à l'obtention d'une réponse virologique prolongée. Par la suite, les études pharmacologiques ont montré que les concentrations résiduelles de ribavirine au cours du premier trimestre du traitement étaient corrélées à la réponse virologique prolongée et ont défini des concentrations seuil prédisant cette réponse. Parallèlement, une équipe française démontrait le caractère prédictif sur la réponse de l'exposition précoce à la ribavirine évaluée par l'ASC à J0. L'ensemble de ces résultats incitait à proposer des schémas thérapeutiques basés sur un monitoring pharmacologique de la ribavirine. Le protocole Ribajuste promu par l'ANRS qui a pour but de répondre à cette question est en cours d'analyse et permettra peut-être de conclure au bénéfice d'une stratégie d'adaptation de dose en comparaison avec l'utilisation de posologies standards. Cependant, compte tenu de la pharmacocinétique de la ribavirine, l'impact d'une modification de dose sur l'exposition n'intervient qu'environ 4 semaines plus tard. Ainsi, s'il existe une sous exposition à la ribavirine, celle-ci ne peut être évaluée par les dosages plasmatiques qu'après 4 semaines et l'impact d'une augmentation de posologie n'interviendra donc pas avant 8 à 12 semaines ce qui est probablement trop tard. Ce constat inciterait donc à utiliser les ASC à J0 pour adapter précocement les posologies prescrites. Une autre approche tenant compte de ces constats consistait à proposer un traitement préalable par la ribavirine avant de débiter le traitement par interféron [105-107]. Cette stratégie permettait d'introduire l'interféron alors que l'état d'équilibre était atteint pour la ribavirine, que l'exposition à la ribavirine était satisfaisante et que l'action sur les gènes inducteurs d'interféron était effective. Là, encore, aucune étude solide n'a pu confirmer l'efficacité de cette stratégie en pratique clinique. Une des explications aux résultats négatifs de ces études est l'importante variabilité interindividuelle qui existe aux différents niveaux du métabolisme de la ribavirine. Si l'étude des ASC à J0 confirme cette grande variabilité en ce qui concerne l'absorption digestive et la première phase de distribution de la molécule, l'étude des taux résiduels confirme que la variabilité n'est pas uniquement présente à cette première phase du métabolisme et qu'elle existe aussi lors du transport intracellulaire. Si les données actuellement publiées ne permettent pas de recommander l'utilisation systématique des dosages pharmacologiques pour surveiller et éventuellement adapter les traitements à

base de ribavirine un certain nombre d'arguments plaident en faveur de leur utilisation dans la prise en charge de populations particulières. Ce suivi pharmacologique semble particulièrement intéressant dans les populations chez lesquelles la tolérance de la ribavirine est mauvaise. C'est le cas, comme nous l'avons montré, chez les patients insuffisants rénaux et chez les patients dialysés. C'est aussi le cas chez les patients transplantés. Il existe par ailleurs des situations rares où l'utilisation de la ribavirine est particulièrement délicate et où l'anémie n'est pas un marqueur fiable d'exposition. C'est le cas des pathologies hémolytiques et en particulier les hémoglobinopathies telles que les thalassémies. Dans ces situations, les dosages plasmatiques permettent d'évaluer l'exposition à la ribavirine et les chances de réponse virologique qui y sont liées et sont une aide importante pour les choix thérapeutiques et pour la prise en charge du syndrome anémique.

La situation décrite en association avec le télaprévir est assez similaire. En effet, la sévérité de l'anémie observée lors de ces traitements est liée à la toxicité du télaprévir responsable d'une anémie probablement centrale et à l'hémolyse liée à la ribavirine. Nous avons montré que l'exposition à la ribavirine et donc l'hémolyse étaient majorées en présence de télaprévir en raison d'une diminution de la filtration glomérulaire mais aussi d'une possible interaction pharmacologique. Les recommandations pour la prise en charge de ces anémies sous trithérapie sont de réduire les posologies de ribavirine, y compris de façon très précoce lorsque cela est nécessaire, et indépendamment de la négatation ou non de l'ARN viral. Nous avons vu précédemment que ces recommandations étaient basées sur des études incluant peu de malades cirrhotiques et les recommandations françaises incitent à la prudence quant à la diminution trop précoce des doses de ribavirine chez des patients dont l'ARN viral reste détectable, à fortiori s'ils sont cirrhotiques. Dans ce contexte, les dosages pharmacologiques ont tout leur intérêt. Ils permettent en effet d'évaluer précisément l'exposition à la ribavirine et de prendre la décision d'une adaptation posologique de façon éclairée sans prendre le risque d'une réduction trop précoce.

Le développement actuel de nouveaux anti-viraux directs très efficaces annonce une évolution très rapide des schémas thérapeutiques de l'hépatite C avec l'espoir d'une éradication virale dans plus de 90% des cas avec des traitements per os plus courts et bien tolérés. Dans ce contexte, si la place de l'interféron au sein des associations thérapeutiques va rapidement décroître, de nombreux protocoles associant deux ou trois antiviraux directs incluent toujours la ribavirine [108,109]. La ribavirine est par ailleurs proposée en bithérapie en association avec un inhibiteur nucléosidique de polymérase, le sofosbuvir pour le traitement des infections de génotype 2 et 3 [110,111]. La tolérance de la ribavirine est en général meilleure avec ce type d'association, cependant la plupart des patients traités dans ces essais ne présentaient pas de comorbidités ou de cirrhose évoluée. En termes d'efficacité, si cette bithérapie apporte de très bons résultats dans les infections de génotype 2, ceux-ci sont beaucoup plus contrastés dans les infections de génotype 3. Dans ce contexte, l'apport de la surveillance pharmacologique de la ribavirine pourrait avoir un intérêt dans le suivi des traitements antiviraux sans interféron à la recherche de critères d'efficacité, d'interaction médicamenteuse ou pour prévenir une toxicité. Des études sont bien entendu indispensables avec les nouvelles associations thérapeutiques pour confirmer cette hypothèse.

7. Intérêt prédictif de la cinétique virale sous traitement

En bithérapie comme en trithérapie, la cinétique de la charge virale est le meilleur facteur prédictif d'une réponse virologique prolongée en cours de traitement. Une charge virale indétectable à la 4^{ème} semaine de bithérapie (RVR) est associée à une probabilité d'environ 90% d'obtenir une SVR. Chez les patients traités par bocéprévir, le paramètre associé le plus fortement à la survenue d'une SVR était la décroissance $> 1 \log_{10}$ de l'ARN VHC à la 4^{ème} semaine de traitement, à la fin de la phase initiale de bithérapie et dans les études SPRINT-2 et RESPOND-2, 88 et 86% des patients ayant un ARN VHC indétectable à la 8^{ème} semaine de traitement présentaient une SVR [28,34]. Chez les patients traités par télaprévir, l'eRVR, était le facteur prédictif de réponse le plus important dans l'étude REALIZE qui retraitait en trithérapie des patients non répondeurs à une bithérapie antérieure [31,36]. Dans la cohorte française CUPIC la réponse virologique rapide à S4 sous télaprévir et à S4 et à S8 sous bocéprévir était associée à la SVR [32,33].

7.1. Intérêt de la charge virale à S2 lors des traitements en trithérapie (Annexe 4)

Dans la cohorte CUPIC, il était proposé, comme le suggérait les recommandations françaises, de réaliser une mesure de l'ARN VHC après 2 semaines de trithérapie (à S2 sous télaprévir et à S6 sous bocéprévir). L'intérêt de ce contrôle à S2 sur la prévention de l'émergence de mutation de résistance, son caractère prédictif de la réponse et son impact éventuel sur la conduite du traitement sont ici analysés (**Annexe 4 : article finalisé et prochainement soumis**).

Cette étude analysant l'intérêt de la charge virale à S2 de trithérapie a été conduite dans le cadre de l'étude ANRS CO20 CUPIC. Il s'agit d'une cohorte multicentrique prospective française conduite de février 2011 à avril 2012 incluant des patients cirrhotiques compensés (Child-Pugh A), infectés par un VHC de génotype 1, n'ayant pas répondu à un traitement par interféron pégylé et ribavirine et retraités par une trithérapie à base de bocéprévir ou de télaprévir. Ce traitement était conduit dans le cadre de l'Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) française des inhibiteurs de protéase et excluait initialement les patients répondeurs nuls (ces patients ont pu secondairement être inclus après l'autorisation de mise sur le marché des inhibiteurs de protéases). L'étude n'était pas randomisée et le choix des traitements était laissé à la discrétion du praticien. Un protocole de suivi commun était proposé dans le cadre de l'ATU et le traitement antiviral était prescrit selon les schémas de l'AMM avec une phase d'initiation en bithérapie pour les patients recevant du bocéprévir. Au total, 357 patients traités par télaprévir (61%) et 229 patients traités par bocéprévir (39%) ont été inclus dans cette cohorte.

310 patients pour lesquels une charge virale était disponible à S2 pour le télaprévir et à S6 pour le bocéprévir ont été inclus dans cette sous-analyse.

Les caractéristiques des patients sont décrites dans le tableau 11. La proportion de rechuteurs, répondeurs partiels et répondeurs nuls au précédent traitement était identique dans les deux groupes ainsi que la répartition des génotypes 1a et 1b.

Tableau 11 : Caractéristiques des deux populations étudiées (bocéprévir et télaprévir)

Caractéristiques	Boceprevir (N=122)	Telaprevir (N=188)
Sexe (homme) – n (%)	88 (72,1)	133 (70,7)
Age, moyenne ± ET	60,1 ± 9,3	59,0 ± 10,5
BMI, moyenne ± ET	26,2 ± 4,0	26,6 ± 4,2
Génotype HCV – n (%)		
1a	40 (36,0)	62 (37,1)
1b	71 (64,0)	105 (62,9)
Réponse au traitement précédent – n (%)		
NR nul	21 (18,6)	32 (17,7)
NR partiel	46 (40,7)	74 (40,9)
Rechuteur	41 (36,3)	71 (39,2)
Echappeur	5 (4,4)	4 (2,2)

Chez tous les patients, une recherche de l'ARN VHC par une PCR temps réelle a été réalisée à S2, S4, S6, S8, S12, S16, S24, S36 et S48 sous traitement puis 12 semaines après l'arrêt du traitement.

7.1.1. Prédicibilité de la réponse

L'étude s'est d'abord intéressée à la charge virale à S2 de trithérapie par le télaprévir et à S6 de thérapie par le bocéprévir (S2 de trithérapie après 4 semaines de bithérapie en tant que phase de lead-in). Parmi les 310 patients inclus dans notre étude, le taux de réponse virologique prolongée 12 semaines après l'arrêt du traitement (SVR12) est de 53% pour les patients traités par le télaprévir et de 45% pour les patients traités par le bocéprévir. 81% des patients traités par télaprévir ayant un ARN VHC indétectable à S2 et 87% des patients traités par bocéprévir ayant un ARN VHC indétectable à S6 ont eu une SVR12 (valeur prédictive positive) tandis que 55% des patients n'ayant pas négativé à S2 sous télaprévir et 63% des patients n'ayant pas négativé à S6 sous bocéprévir n'ont pas eu de SVR12 (valeur prédictive négative). Les facteurs prédictifs d'un ARN VHC négatif à S2 sous télaprévir sont : une charge virale initiale plus faible ($p < 0.001$) et la réponse au traitement précédent avec 19% de négativation chez les NR nuls, 20% chez les NR partiels et 41% chez les rechuteurs ($p = 0,012$). Le facteur prédictif d'un ARN VHC négatif à S6 sous bocéprévir est la réponse au précédent traitement par bithérapie avec 7% de négativation parmi les NR nuls, 13% parmi les NR partiels et 35% parmi les rechuteurs ($p = 0,047$).

Le pourcentage de décroissance de la charge virale à S2/S6 par rapport à la charge virale initiale a été calculé afin de pouvoir réaliser une analyse par courbe ROC et ainsi déterminer une valeur seuil prédictive d'une SVR12. Pour les patients traités par télaprévir, un seuil de 70% de diminution de la charge virale initiale à S2 était associé au meilleur ratio sensibilité/spécificité ($Se = 0,53$ et $Spe = 0,68$, courbe ROC $p = 0.037$). Pour le bocéprévir un seuil de 50% de diminution de la charge virale initiale à S6 a été choisi ($Se = 0,86$ et $Spe = 0,58$, courbe ROC $p < 0.001$). A partir de ces valeurs seuils, trois profils de patients ont alors été définis : les patients ayant une diminution de leur charge virale initiale inférieure à 70% / 50% à S2/S6, les patients ayant une diminution de leur charge virale initiale supérieure à 70% / 50% et les patients ayant un ARN indétectable à S2/S6. En considérant uniquement les deux premières catégories (les patients ayant négativé étant exclus), les VPP et VPN d'avoir une SVR12 pour ces deux seuils ont été calculées : pour le télaprévir, 60% des patients ayant une décroissance de la charge virale à S2 $\geq 70\%$ auront une SVR12 (VPP) tandis que 63% des patients ayant une décroissance $< 70\%$ à S2 n'auront pas de SVR 12 (VPN) ; pour le bocéprévir 56% des gens ayant une décroissance de la charge virale à S6 $\geq 50\%$ auront une SVR12 tandis que 87% des patients ayant une décroissance $< 50\%$ à S6 n'auront pas de SVR12.

Une analyse par arbre de décision dans l'optique d'obtenir une SVR12 a été réalisée, incluant ces trois profils de patients, la réponse au traitement précédent et la eRVR (uniquement dans le cas du télaprévir) (Figure 10 et

Figure 11). Cet arbre permet de déterminer les proportions de patients qui vont obtenir une SVR12 dans le cas du télaprévir et dans le cas du bocéprévir, en fonction de la réponse au traitement précédent et de l'évolution de la charge virale entre J0 et S6. On constate que les NR nuls n'ayant pas négativé à S2 sous télaprévir ou à S6 sous bocéprévir auront très peu de chance d'obtenir une SVR12. Par contre, pour les rechuteurs/échappeurs à une précédente bithérapie, le caractère prédictif de la charge virale négative à S2 ou à S6 est beaucoup moins important.

7.1.2. Identification rapide des mutations de résistance

Le second objectif de l'analyse de la charge virale à S2 était de dépister précocement les échappements viraux faisant suspecter l'apparition précoce de virus porteurs de mutations de résistance aux inhibiteurs de protéase. L'analyse de la charge virale à S2 permet de suivre plus précisément la cinétique virale lors des premières semaines de trithérapie. Parmi les patients ayant une valeur de charge virale à S2 (188 patients sous télaprévir), 5 ont présenté une réascension de la charge virale entre S2 et S4. Parmi ces derniers, 4/5 sont non répondeurs à la trithérapie (SVR12 -) et ceci malgré une diminution entre J0 et S4 de la charge virale. Ce phénomène est également observé lors du traitement avec le bocéprévir : parmi les patients ayant une charge virale à S6 (122 patients sous bocéprévir), 6 ont également présenté une réascension de leur charge virale entre S4 et S6 et 5/6 étaient non répondeurs à la trithérapie (SVR12 -) et ceci malgré une diminution de la charge virale entre S4 et S8. Cette observation confirme l'hypothèse qui avait conduit à ce contrôle de l'ARN viral après deux semaines sous inhibiteur de protéase. Un petit nombre de patients échappent précocement aux traitements antiviraux et cet échappement précoce est dans une large majorité associé à un échec du traitement. Les analyses virologiques permettront de savoir si ces échappements sont tous en lien avec l'émergence de souches mutantes ou si une observance insuffisante peut être suspectée.

Figure 10 : Arbre de décision avec pour variable d'état SVR 12 semaines post-traitement et pour variables dépendantes CV à S2 (télaprévir), réponse à une bithérapie précédente et eRVR

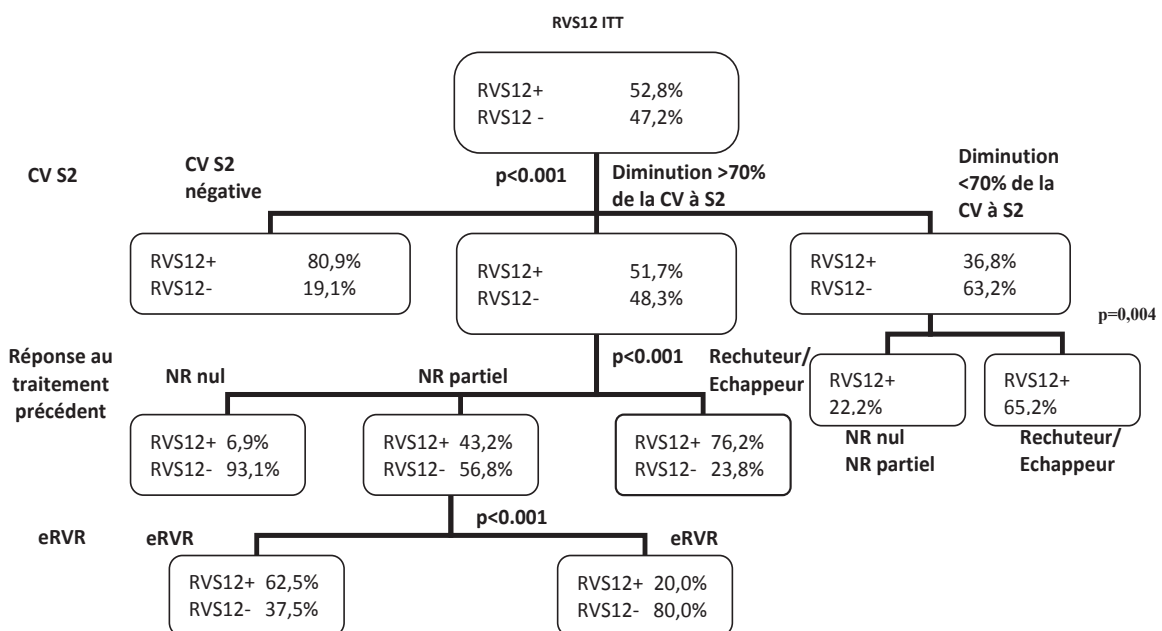
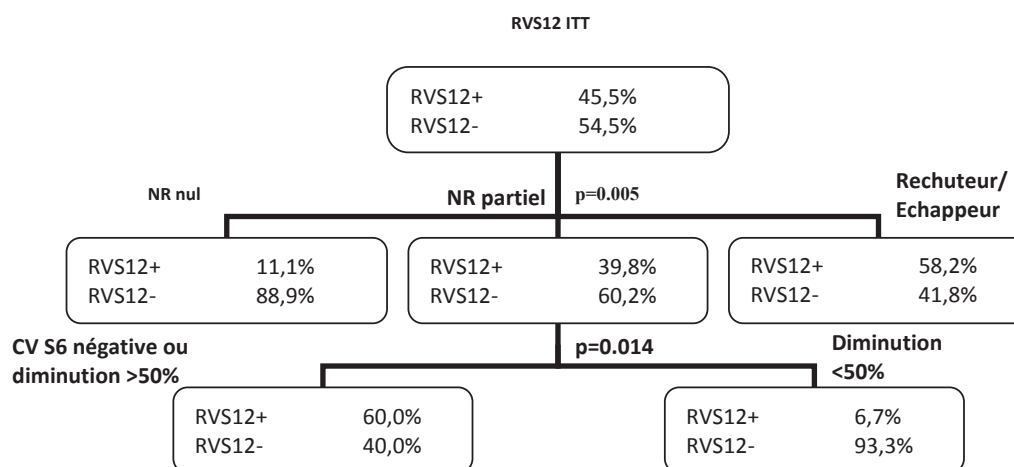


Figure 11 : Arbre de décision avec pour variable d'état SVR 12 semaines post-traitement et pour variables dépendantes CV à S6 (bocéprévir) et réponse à une bithérapie précédente



7.2. Discussion

Cette sous analyse de la cohorte CUPIC s'est intéressée à l'apport d'une mesure de l'ARN viral deux semaines après l'initiation d'un inhibiteur de protéase avec ou sans phase d'induction en bithérapie. Lors des traitements en bithérapie, il apparaissait que la négativation précoce (S4) de l'ARN viral C avait une forte valeur prédictive positive pour la SVR et qu'à l'inverse la valeur prédictive négative d'un ARN positif à S4 était faible. La négativation précoce de l'ARN apparaissait plus prédictive de la réponse que le génotype de l'IL28B. Avec l'utilisation d'antiviraux directs, plus puissants, les cinétiques virales sont plus rapides et un grand nombre de patients sont indétectables après 4 semaines de trithérapie : 68% des patients naïfs de traitement traités par télaprévir et 57% des patients traités par bocéprévir ont un ARN VHC indétectables. Parmi ceux-ci, plus de 80% présenteront une SVR [28,29]. Chez les patients en échec d'une bithérapie préalable, le nombre de patients indétectables à S4 est moindre mais cette négativation reste très prédictive de la SVR. Compte tenu de ces cinétiques virales rapides, il paraissait intéressant d'évaluer l'intérêt pour la prédiction de la réponse d'une mesure plus précoce de l'ARN à S2. La valeur prédictive positive d'un ARN VHC indétectable après deux semaines de trithérapie pour prédire la SVR est très bonne, 81 et 87% pour le télaprévir et le bocéprévir respectivement, mais peu différente de celle de l'ARN à S4 de trithérapie. A l'inverse la valeur prédictive négative faible de cette valeur à S2 ne permet pas de l'utiliser pour identifier très précocement des patients non répondeurs chez lesquels le traitement pourrait être interrompu (45 et 37% de SVR sous télaprévir et bocéprévir chez les patients avec ARN VHC positif à S2 ou S6). L'analyse de la cinétique de décroissance virale au cours des 2 semaines de trithérapie par courbe ROC a permis de définir un seuil de décroissance pour le télaprévir et le bocéprévir susceptible de prédire la réponse ou l'échec au traitement. La valeur pronostique de ces seuils n'apparaît pas suffisante pour qu'ils puissent être utilisés seuls pour guider la conduite du traitement. Le développement d'algorithmes décisionnels intégrant la décroissance de la charge virale précoce, la réponse au traitement préalable en bithérapie et pour le télaprévir la réponse virologique à S4 et S12 (eRVR) a permis d'identifier certains profils de réponse. Chez les patients répondeurs nuls à un traitement précédent, les chances d'obtenir une SVR en l'absence de négativation à S2 (télaprévir) sont très faibles (7%) chez ces patients cirrhotiques et ce malgré une décroissance de l'ARN du VHC > 70% entre J0 et S2. Ce résultat est similaire au constat fait dans l'étude REALIZE où seuls 14% des patients répondeurs nuls cirrhotiques présentaient une SVR après un traitement par télaprévir. Chez ces patients cirrhotiques, une décroissance de l'ARN VHC < 70% sous télaprévir ou < 50% sous bocéprévir après deux semaines de traitement prédit précocement l'échec thérapeutique et peut faire discuter un arrêt précoce du traitement. A l'inverse, la cinétique virale

précoce n'a pas une bonne valeur prédictive chez les patients rechuteurs ou échappeurs à la bithérapie. En effet, les taux de SVR observés chez ceux-ci sont supérieurs à 58% sous bocéprévir et à 65% sous télaprévir, même si la décroissance de la charge virale était inférieure aux seuils décrits. Chez ces patients, il est donc important de poursuivre le traitement et d'appliquer les règles d'arrêt habituelles à S4, S12 et S24 pour le télaprévir et à S12 et S24 pour le bocéprévir. Chez les patients non répondeurs partiels, la mesure précoce de l'ARN VHC n'est pas suffisamment prédictive pour impacter la prise en charge thérapeutique. Il est cependant important de noter que cette étude a été réalisée au sein d'un groupe de patients cirrhotiques en échec d'un traitement en bithérapie. Il s'agit donc de patients particulièrement difficiles à traiter et il est probable que les caractéristiques de cette population aient eu un impact sur la cinétique virale précoce. Les résultats présentés ne sont donc pas transposables à une population non cirrhotique et/ou naïve de traitement. Il faut enfin mentionner que nous ne disposons pas au moment de cette analyse des résultats du génotypage de l'IL28B dont on sait qu'il peut avoir un impact sur la cinétique virale précoce en bithérapie. Cet impact est cependant moins marqué lors des trithérapies en particulier lors des traitements par télaprévir [36].

Le second intérêt potentiel de la mesure de l'ARN VHC à S2 ou S6 est le dépistage précoce d'un échappement virologique. En effet, les études de phase 1 et 2 ont montré que des réascensions de l'ARN viral C après une décroissance initiale rapide pouvait survenir dès la première semaine d'un traitement par inhibiteur de protéase et que ces échappements virologiques étaient secondaires à l'émersion de souches virales porteuses d'une mutation de résistance aux inhibiteurs de protéase. Sous la pression du traitement antiviral, ces populations virales résistantes vont croître et devenir rapidement majoritaires lorsque le traitement antiviral sera poursuivi. A l'arrêt du traitement, la plupart ces souches mutées redeviennent progressivement indétectables mais sont parfois présentes pendant plus de 2 ans après l'arrêt du traitement. En l'absence d'intégration du VHC, on ignore quel est l'impact à long terme de l'émersion de ces souches mutées, mais l'on sait que les mutations identifiées sous télaprévir ou boceprévir sont aussi associées à des résistances de classe aux futurs inhibiteurs de protéase de seconde génération. Dans ces conditions, il est recommandé d'interrompre au plus vite le traitement par inhibiteur de protéase lorsqu'il existe un échappement virologique témoignant d'une mutation de résistance probable afin d'éviter que cette souche ne devienne majoritaire et perdure de façon prolongée. Onze patients dans notre série ont présenté un échappement virologique précoce caractérisé par une décroissance de l'ARN après 2 semaines de trithérapie suivi d'une réascension de l'ARN entre S2 et S4. Neuf de ces patients étaient non répondeurs à l'issue du traitement. En l'absence de séquençage viral disponible au moment de l'analyse chez ces patients, il est impossible d'affirmer que ce phénomène est dans tous les cas lié à l'émersion d'un virus muté. Le fait que 2 de ces patients aient finalement répondu pousse à s'interroger sur l'observance du traitement dont on sait qu'elle n'est pas facilitée par la tolérance qui est souvent médiocre. En l'absence de contrôle de l'ARN à S2, ces échappements ne seraient identifiés qu'à la réception du résultat de la recherche d'ARN à S8 soit à presque 12 semaines de traitement. Outre les conséquences virologiques à long terme déjà évoquées, cette stratégie conduit à exposer inutilement le patient à un traitement difficile pendant 4 à 6 semaines supplémentaires. Même si ces situations sont rares, leurs conséquences cliniques et virologiques semblent pouvoir justifier ce contrôle précoce de l'ARN. Une réascension de l'ARN VHC entre S2 et S4 sera identifiée à la réception de la recherche réalisée à S4. Face à ce résultat, il est souhaitable de contrôler cet échappement sur un second prélèvement et de s'assurer de la qualité de l'observance avant de proposer un arrêt du traitement à S8 si l'échappement est confirmé.

En conclusion, le dosage de l'ARN du VHC après deux semaines de trithérapie chez des malades cirrhotiques en échec de bithérapie est prédictif de la réponse virologique prolongée mais ne permet pas à lui seul de proposer des règles d'arrêt plus précoces du traitement. Dans certains sous-groupes de patients (répondeurs nuls) il peut néanmoins permettre de prendre plus précocement la décision d'interrompre un traitement inefficace. Il permet par ailleurs, d'identifier précocement les quelques patients qui présentent un échappement virologique précoce entre la 2^{ème} et la 4^{ème} semaine de trithérapie et d'interrompre au plus vite le traitement antiviral afin d'éviter la croissance de la population

virale résistante. Une analyse similaire pourrait être proposée chez des patients non cirrhotiques et naïfs de traitement en incluant dans les algorithmes décisionnels le génotype de l'IL28B.

8. Conclusions et perspectives

Nous nous sommes intéressés dans ce travail aux différents facteurs prédictifs de la réponse aux traitements antiviraux de l'hépatite C et aux moyens d'optimiser ces traitements. La plupart des facteurs prédictifs de réponse actuellement connus ont été identifiés lors de l'utilisation des bithérapies par interféron pégylé et ribavirine qui restent encore d'actualité pour les infections de génotype non-1. La plupart de ces paramètres ont été évalués par la suite lors des traitements par inhibiteurs de protéase du VHC et un nombre important de facteurs prédictifs pré-thérapeutiques sont identiques en bi- et en trithérapie. Les stratégies d'optimisation thérapeutique sont en général basées sur ces facteurs prédictifs et ont pour objectif d'adapter le schéma thérapeutique en tenant compte de paramètres identifiés avant ou pendant le traitement.

Nous avons dans un premier temps décrit les résultats d'un traitement antiviral par une trithérapie associant interféron pégylé, ribavirine et télaprévir ou bocéprévir au sein d'une cohorte prospective incluant 186 patients infectés par un VHC de génotype 1. Dans cette cohorte, 59,7% des patients ont présenté une SVR et les facteurs associés à la SVR étaient : le génotype de l'IL-28B et la réponse au traitement préalable. Une diminution de la filtration glomérulaire a été mise en évidence au cours des deux traitements par inhibiteur de protéase, et la réversibilité de cette insuffisance rénale a pu être observée après l'arrêt du télaprévir. Cette première étude montrait donc de bons résultats virologiques chez ces patients en échec de bithérapie, confortait le caractère prédictif de l'IL-28B et de la réponse au traitement antérieur et mettait en évidence une toxicité rénale des inhibiteurs de protéase non décrite dans les études d'enregistrement et rapportée depuis dans d'autres cohortes.

Nous avons par la suite présenté des résultats concernant l'apport de la surveillance pharmacologique de la ribavirine dans différentes situations cliniques. Nous avons montré l'intérêt de ces dosages dans les populations particulières que sont les insuffisants rénaux et les patients infectés par le VIH. Chez les premiers, les taux résiduels de la ribavirine aident à trouver l'équilibre difficile entre efficacité et toxicité et à mener à leur terme les traitements en réduisant les risques hématologiques. Chez les patients co-infectés, la réalisation des ASC de ribavirine pourrait apporter une explication au taux de réponse virologique plus faible observé après traitement anti-VHC chez les patients VIH. En effet, l'exposition initiale à la ribavirine apparaît moins bonne chez ces patients et cette moindre exposition paraît corrélée au niveau d'immunosuppression. L'hypothèse d'une moins bonne absorption de la ribavirine secondaire à l'inflammation chronique due au VIH pourrait être évoquée. L'intérêt de la surveillance pharmacologique de la ribavirine a ensuite été montré au cours des trithérapies par télaprévir. Notre étude met en évidence une augmentation de la biodisponibilité de la ribavirine lorsqu'elle est utilisée en association avec le télaprévir. Cette augmentation est en partie expliquée par la dégradation de la fonction rénale décrite précédemment et qui est retrouvée dans cette étude. Elle explique aussi la sévérité des anémies observées sous télaprévir. L'importance du phénomène évoque également la possibilité d'une interaction directe entre le télaprévir et la ribavirine.

Enfin, nous avons étudié au sein de la cohorte nationale CUPIC l'intérêt de la mesure de la charge virale après deux semaines de traitement par anti-protéase. La négativation de l'ARN VHC à S2 est fortement prédictive de la SVR mais de façon identique à la négativation à S4. La décroissance précoce de la charge virale est elle aussi prédictive de la réponse mais ne paraît pouvoir être utilisée pour une décision d'arrêt de traitement que dans des sous-groupes de patients présentant d'autres facteurs de mauvaise réponse (répondeurs nuls à la bithérapie). Il est intéressant de noter que dans cette étude, comme dans notre cohorte, l'absence de réponse virologique rapide ne permet pas de conclure avec certitude à l'inefficacité du traitement à fortiori chez les patients répondeurs partiels ou rechuteurs à une bithérapie (une SVR était en effet obtenue chez 29% des patients ne présentant pas de eRVR dans notre cohorte). Ces constats incitent donc à respecter les règles d'arrêt actuellement en vigueur pour ces molécules à fortiori chez des patients cirrhotiques ou en échec de bithérapie pour lesquels la cinétique de décroissance virale pourrait être plus lente. La recherche de l'ARN VHC à S2 a par ailleurs permis d'identifier un petit nombre de patients présentant un échappement viral très précoce entre la 2^{ème} et la 4^{ème} semaine de trithérapie et pour lesquels un arrêt rapide du traitement est requis afin de prévenir le développement d'une population virale résistante aux inhibiteurs de protéase.

L'arrivée dans les prochains mois de nouveaux antiviraux appartenant à de nouvelles classes et ayant des profils de résistance différents suscite un espoir très important et fait espérer la possibilité d'obtenir une éradication virale chez plus de 90% des patients sans avoir recours à l'interféron. Dans ce contexte, les facteurs prédictifs de réponse et les stratégies thérapeutiques décrites dans notre travail sont susceptibles d'être rapidement caduques. Toutefois les résultats des essais thérapeutiques actuellement en cours montrent que les patients ayant une atteinte hépatique sévère et les patients n'ayant pas répondu aux traitements de première ou de deuxième génération sont souvent plus difficiles à traiter et nécessitent des schémas thérapeutiques adaptés. Par ailleurs, comme nous l'avons évoqué, la place de la ribavirine reste importante dans de nombreuses associations thérapeutiques en cours de développement et actuellement à l'essai. Les enseignements acquis sur sa surveillance pharmacologique sont donc susceptibles d'avoir un intérêt dans la perspective de multithérapies antivirales exposant à d'éventuelles interactions médicamenteuses pouvant être la cause de toxicité ou de moindre efficacité comme cela est le cas depuis de nombreuses années dans le cadre des traitements antirétroviraux.

REFERENCES

1. Swain MG, Lai MY, Shiffman ML *et al.* A sustained virologic response is durable in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon alfa-2a and ribavirin. *Gastroenterology*, 139(5), 1593-1601 (2010).
2. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML *et al.* Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med*, 361(6), 580-593 (2009).
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*, 358(9286), 958-965 (2001).
4. Shiffman ML, Suter F, Bacon BR *et al.* Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med*, 357(2), 124-134 (2007).
5. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR *et al.* Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 347(13), 975-982 (2002).
6. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR *et al.* Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*, 140(5), 346-355 (2004).
7. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 38(3), 645-652 (2003).
8. 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*, 130(4), 1086-1097 (2006).
9. 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*, 131(2), 451-460 (2006).
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 viremia. *J Hepatol*, 44(1), 97-103 (2006).
11. 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*, 352(25), 2609-2617 (2005).
12. 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*, 129(2), 522-527 (2005).
13. Bailly F, Ahmed SN, Pradat P, Trepo C. Management of nonresponsive hepatitis C. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 8(4), 379-395 (2010).
14. Mangia A. Short-duration therapy for hepatitis C: suitable for all? *J Viral Hepat*, 14(4), 221-227 (2007).

15. Sulkowski MS, Shiffman ML, Afdhal NH *et al.* Hepatitis C virus treatment-related anemia is associated with higher sustained virologic response rate. *Gastroenterology*, 139(5), 1602-1611, 1611 e1601 (2010).
16. Ge D, Fellay J, Thompson AJ *et al.* Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*, 461(7262), 399-401 (2009).
17. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G *et al.* IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nature genetics*, 41, 1100-1104 (2009).
18. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M *et al.* Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nature genetics*, 41, 1105-1109 (2009).
19. Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS *et al.* Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology*, 139(1), 120-129 e118 (2010).
20. Bochud PY, Bibert S, Negro F *et al.* IL28B polymorphisms predict reduction of HCV RNA from the first day of therapy in chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 55(5), 980-988 (2011).
21. Asselah T, De Muynck S, Broet P *et al.* IL28B polymorphism is associated with treatment response in patients with genotype 4 chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 56(3), 527-532 (2012).
22. Mangia A, Thompson AJ, Santoro R *et al.* An IL28B polymorphism determines treatment response of hepatitis C virus genotype 2 or 3 patients who do not achieve a rapid virologic response. *Gastroenterology*, 139(3), 821-827, 827 e821 (2010).
23. Honda M, Sakai A, Yamashita T *et al.* Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 139(2), 499-509 (2010).
24. Urban TJ, Thompson AJ, Bradrick SS *et al.* IL28B genotype is associated with differential expression of intrahepatic interferon-stimulated genes in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 52(6), 1888-1896 (2010).
25. Diago M, Castellano G, Garcia-Samaniego J *et al.* Association of pretreatment serum interferon gamma inducible protein 10 levels with sustained virological response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 infected patients with chronic hepatitis C. *Gut*, 55(3), 374-379 (2006).
26. Lagging M, Askarieh G, Negro F *et al.* Response prediction in chronic hepatitis C by assessment of IP-10 and IL28B-related single nucleotide polymorphisms. *PLoS One*, 6(2), e17232 (2011).
27. Leroy V, Serfaty L, Bourliere M *et al.* Protease inhibitor-based triple therapy in chronic hepatitis C: guidelines by the French Association for the Study of the Liver. *Liver Int*, 32(10), 1477-1492 (2012).
28. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR *et al.* Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*, 364(13), 1195-1206 (2011).
29. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G *et al.* Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 364(25), 2405-2416 (2011).

30. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E *et al.* Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*, 364(13), 1207-1217 (2011).
31. Zeuzem S, Andreone P, Pol S *et al.* Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*, 364(25), 2417-2428 (2011).
32. Hezode C, Fontaine H, Dorival C *et al.* Triple therapy in treatment-experienced patients with HCV-cirrhosis in a multicentre cohort of the French Early Access Programme (ANRS CO20-CUPIC) - NCT01514890. *J Hepatol*, 59(3), 434-441 (2013).
33. Fontaine H, Hezode C, Dorival C *et al.* Efficacité (RVS12) et tolérance de la trithérapie incluant du boceprevir ou telaprevir chez 485 patients cirrhotiques traités dans la cohorte CUPIC (ANRS CO20). Communication orale AFEF, Lille, 2-5 octobre 2013. (2013).
34. Poordad F, Bronowicki JP, Gordon SC *et al.* Factors that predict response of patients with hepatitis C virus infection to boceprevir. *Gastroenterology*, 143(3), 608-618 e601-605 (2012).
35. Jacobson IM, Catlett I, Marcellin P *et al.* Telaprevir substantially improved SVR rates across all IL28B genotypes in the ADVANCE trial. *J Hepatol*, 54, S542 (2011).
36. Pol S, Aerssens J, Zeuzem S *et al.* Limited impact of IL28B genotype on response rates in telaprevir-treated patients with prior treatment failure. *J Hepatol*, 58(5), 883-889 (2013).
37. Reddy KR, Shiffman ML, Morgan TR *et al.* Impact of ribavirin dose reductions in hepatitis C virus genotype 1 patients completing peginterferon alfa-2a/ribavirin treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 5(1), 124-129 (2007).
38. Sulkowski MS, Poordad F, Manns MP *et al.* Anemia during treatment with peginterferon Alfa-2b/ribavirin and boceprevir: Analysis from the serine protease inhibitor therapy 2 (SPRINT-2) trial. *Hepatology*, 57(3), 974-984 (2013).
39. Sulkowski MS, Roberts S, Afdhal N *et al.* Ribavirin dose modification in treatment-naive and previously treated patients who received telaprevir combination treatment: No impact on sustained virologic response in phase 3 studies. *J Hepatol*, 56, S459-460 (2012).
40. Poordad F, Lawitz E, Reddy KR *et al.* Effects of Ribavirin Dose Reduction vs Erythropoietin for Boceprevir-Related Anemia in Patients With Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection-A Randomized Trial. *Gastroenterology*, (2013).
41. Romero-Gomez M, Berenguer M, Molina E, Calleja JL. Management of anemia induced by triple therapy in patients with chronic hepatitis C: challenges, opportunities and recommendations. *J Hepatol*, (2013).
42. Hezode C, Forestier N, Dusheiko G *et al.* Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med*, 360(18), 1839-1850 (2009).
43. McHutchison JG, Manns MP, Muir AJ *et al.* Telaprevir for previously treated chronic HCV infection. *N Engl J Med*, 362(14), 1292-1303 (2010).
44. Hosoya M, Shigeta S, Ishii T, Suzuki H, De Clercq E. Comparative inhibitory effects of various nucleoside and nonnucleoside analogues on replication of influenza virus types A and B in vitro and in ovo. *J Infect Dis*, 168(3), 641-646 (1993).

45. Shigeta S, Mori S, Baba M *et al.* Antiviral activities of ribavirin, 5-ethynyl-1-beta-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamide, and 6'-(R)-6'-C-methylneplanocin A against several ortho- and paramyxoviruses. *Antimicrob Agents Chemother*, 36(2), 435-439 (1992).
46. Sidwell RW, Huffman JH, Khare GP, Allen LB, Witkowski JT, Robins RK. Broad-spectrum antiviral activity of Virazole: 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide. *Science*, 177(4050), 705-706 (1972).
47. Kamar N, Rostaing L, Abravanel F *et al.* Ribavirin therapy inhibits viral replication on patients with chronic hepatitis e virus infection. *Gastroenterology*, 139(5), 1612-1618 (2010).
48. Dixit NM, Perelson AS. The metabolism, pharmacokinetics and mechanisms of antiviral activity of ribavirin against hepatitis C virus. *Cell Mol Life Sci*, 63(7-8), 832-842 (2006).
49. Glue P. The clinical pharmacology of ribavirin. *Semin Liver Dis*, 19 Suppl 1, 17-24 (1999).
50. Preston SL, Drusano GL, Glue P, Nash J, Gupta SK, McNamara P. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of ribavirin in healthy volunteers as determined by stable-isotope methodology. *Antimicrob Agents Chemother*, 43(10), 2451-2456 (1999).
51. Duclos-Vallée JC, Samuel D. La Ribavirine. *Médecine Thérapeutique*, 6(8), 664-668 (2000).
52. Bruchfeld A, Lindahl K, Schvarcz R, Stahle L. Dosage of ribavirin in patients with hepatitis C should be based on renal function: a population pharmacokinetic analysis. *Ther Drug Monit*, 24(6), 701-708 (2002).
53. Bruchfeld A, Lindahl K, Stahle L, Soderberg M, Schvarcz R. Interferon and ribavirin treatment in patients with hepatitis C-associated renal disease and renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant*, 18(8), 1573-1580 (2003).
54. Bruchfeld A, Stahle L, Andersson J, Schvarcz R. Ribavirin treatment in dialysis patients with chronic hepatitis C virus infection--a pilot study. *J Viral Hepat*, 8(4), 287-292 (2001).
55. Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D, Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit*, 22(5), 555-565 (2000).
56. Dahari H, Markatou M, Zeremski M *et al.* Early ribavirin pharmacokinetics, HCV RNA and alanine aminotransferase kinetics in HIV/HCV co-infected patients during treatment with pegylated interferon and ribavirin. *J Hepatol*, 47(1), 23-30 (2007).
57. Khakoo S, Glue P, Grellier L *et al.* Ribavirin and interferon alfa-2b in chronic hepatitis C: assessment of possible pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions. *British journal of clinical pharmacology*, 46(6), 563-570 (1998).
58. Pawlotsky JM, Dahari H, Neumann AU *et al.* Antiviral action of ribavirin in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 126(3), 703-714 (2004).
59. Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, Perelson AS. Modelling how ribavirin improves interferon response rates in hepatitis C virus infection. *Nature*, 432(7019), 922-924 (2004).
60. Stridh S. Determination of ribonucleoside triphosphate pools in influenza A virus-infected MDCK cells. *Arch Virol*, 77(2-4), 223-229 (1983).
61. Muller WE, Maidhof A, Taschner H, Zahn RK. Virazole (1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide; a cytostatic agent. *Biochem Pharmacol*, 26(11), 1071-1075 (1977).

62. Streeter DG, Witkowski JT, Khare GP *et al.* Mechanism of action of 1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide (Virazole), a new broad-spectrum antiviral agent. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 70(4), 1174-1178 (1973).
63. Asahina Y, Izumi N, Enomoto N *et al.* Mutagenic effects of ribavirin and response to interferon/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 43(4), 623-629 (2005).
64. Zhou S, Liu R, Baroudy BM, Malcolm BA, Reyes GR. The effect of ribavirin and IMPDH inhibitors on hepatitis C virus subgenomic replicon RNA. *Virology*, 310(2), 333-342 (2003).
65. Crotty S, Maag D, Arnold JJ *et al.* The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen. *Nat Med*, 6(12), 1375-1379 (2000).
66. Chevaliez S, Brillet R, Lazaro E, Hezode C, Pawlotsky JM. Analysis of ribavirin mutagenicity in human hepatitis C virus infection. *J Virol*, 81(14), 7732-7741 (2007).
67. Feld JJ, Nanda S, Huang Y *et al.* Hepatic gene expression during treatment with peginterferon and ribavirin: Identifying molecular pathways for treatment response. *Hepatology*, 46(5), 1548-1563 (2007).
68. Zhang Y, Jamaluddin M, Wang S *et al.* Ribavirin treatment up-regulates antiviral gene expression via the interferon-stimulated response element in respiratory syncytial virus-infected epithelial cells. *J Virol*, 77(10), 5933-5947 (2003).
69. Feld JJ, Hoofnagle JH. Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature*, 436(7053), 967-972 (2005).
70. Lindahl K, Schvarcz R, Bruchfeld A, Stahle L. Evidence that plasma concentration rather than dose per kilogram body weight predicts ribavirin-induced anaemia. *J Viral Hepat*, 11(1), 84-87 (2004).
71. Igarashi H, Shinozaki S, Mukada T. Serum ribavirin concentration and related anemia interrupting ribavirin plus interferon combination therapy in patients with chronic hepatitis C. *Liver International*, 24 (Suppl. 4), 60 (2004).
72. Van Vlierbergh H, Delanghe JR, De Vos M, Leroux-Roel G. Factors influencing ribavirin-induced hemolysis. *J Hepatol*, 34(6), 911-916 (2001).
73. Reichard O, Andersson J, Schvarcz R, Weiland O. Ribavirin treatment for chronic hepatitis C. *Lancet*, 337(8749), 1058-1061 (1991).
74. Zoulim F, Haem J, Ahmed SS *et al.* Ribavirin monotherapy in patients with chronic hepatitis C: a retrospective study of 95 patients. *J Viral Hepat*, 5(3), 193-198 (1998).
75. Bonaventure C, Calay V, Chevallier M, Merle P, Pradat P, Trepo C. Long-term ribavirin monotherapy in patients with chronic hepatitis C not responding or intolerant to interferon alpha. *Journal of Hepatology*, 40, 152-153 (2004).
76. Brillanti S, Garson J, Foli M *et al.* A pilot study of combination therapy with ribavirin plus interferon alfa for interferon alfa-resistant chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 107(3), 812-817 (1994).
77. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER *et al.* Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*, 339(21), 1485-1492 (1998).

78. Reichard O, Norkrans G, Fryden A, Braconier JH, Sonnerborg A, Weiland O. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alpha-2b with and without ribavirin for chronic hepatitis C. The Swedish Study Group. *Lancet*, 351(9096), 83-87 (1998).
79. Bronowicki JP, Ouzan D, Asselah T *et al.* Effect of ribavirin in genotype 1 patients with hepatitis C responding to pegylated interferon alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology*, 131(4), 1040-1048 (2006).
80. Pockros PJ, Nelson D, Godofsky E *et al.* R1626 plus peginterferon Alfa-2a provides potent suppression of hepatitis C virus RNA and significant antiviral synergy in combination with ribavirin. *Hepatology*, 48(2), 385-397 (2008).
81. Hofmann WP, Chung TL, Osbahr C *et al.* Impact of ribavirin on HCV replicon RNA decline during treatment with interferon-alpha and the protease inhibitors boceprevir or telaprevir. *Antivir Ther*, 16(5), 695-704 (2011).
82. Kwo PY, Lawitz EJ, McCone J *et al.* Efficacy of boceprevir, an NS3 protease inhibitor, in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in treatment-naive patients with genotype 1 hepatitis C infection (SPRINT-1): an open-label, randomised, multicentre phase 2 trial. *Lancet*, 376(9742), 705-716 (2010).
83. Zeuzem S, Asselah T, Angus P *et al.* Efficacy of the protease inhibitor BI 201335, polymerase inhibitor BI 207127, and ribavirin in patients with chronic HCV infection. *Gastroenterology*, 141(6), 2047-2055; quiz e2014 (2011).
84. Zeuzem S, Buggisch P, Agarwal K *et al.* The protease inhibitor, GS-9256, and non-nucleoside polymerase inhibitor tegobuvir alone, with ribavirin, or pegylated interferon plus ribavirin in hepatitis C. *Hepatology*, 55(3), 749-758 (2012).
85. Di Bisceglie AM, Nelson DR, Gane E *et al.* VX-222 with TVR alone or in combination with peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C: ZENITH study interim results. *J Hepatol*, 54 (Suppl. 1), S540 (2011).
86. Jen J, Laughlin M, Chung C *et al.* Ribavirin dosing in chronic hepatitis C: application of population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacol Ther*, 72(4), 349-361 (2002).
87. Larrat S, Stanke-Labesque F, Plages A, Zarski JP, Bessard G, Souvignet C. Ribavirin quantification in combination treatment of chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother*, 47(1), 124-129 (2003).
88. Loustaud-Ratti V, Alain S, Rousseau A *et al.* Ribavirin exposure after the first dose is predictive of sustained virological response in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 47(5), 1453-1461 (2008).
89. Maynard M, Pradat P, Gagnieu MC, Souvignet C, Trepo C. Prediction of sustained virological response by ribavirin plasma concentration at week 4 of therapy in hepatitis C virus genotype 1 patients. *Antivir Ther*, 13(4), 607-611 (2008).
90. Solas C, Pare M, Quaranta S, Stanke-Labesque F. [Evidence-based therapeutic drug monitoring for ribavirine]. *Therapie*, 66(3), 221-230 (2011).
91. Tsubota A, Hirose Y, Izumi N, Kumada H. Pharmacokinetics of ribavirin in combined interferon-alpha 2b and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus infection. *British journal of clinical pharmacology*, 55(4), 360-367 (2003).

92. Arase Y, Ikeda K, Tsubota A *et al.* Significance of serum ribavirin concentration in combination therapy of interferon and ribavirin for chronic hepatitis C. *Intervirolgy*, 48(2-3), 138-144 (2005).
93. Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A, Schvarcz R. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 41(2), 275-279 (2005).
94. Christensen PB, Alsio AA, Buhl MR *et al.* Ribavirin concentration at week four is an independent predictor for sustained viral response after treatment of hepatitis C genotype 2/3 (Nordynamic Trial). *J Hepatol*, 48 (Suppl. 2), S6-S7 (2008).
95. Gordon CE, Uhlig K, Lau J, Schmid CH, Levey AS, Wong JB. Interferon treatment in hemodialysis patients with chronic hepatitis C virus infection: a systematic review of the literature and meta-analysis of treatment efficacy and harms. *Am J Kidney Dis*, 51(2), 263-277 (2008).
96. Tan AC, Brouwer JT, Glue P *et al.* Safety of interferon and ribavirin therapy in haemodialysis patients with chronic hepatitis C: results of a pilot study. *Nephrol Dial Transplant*, 16(1), 193-195 (2001).
97. Deltenre P, Moreno C, Tran A *et al.* Anti-viral therapy in haemodialysed HCV patients: efficacy, tolerance and treatment strategy. *Aliment Pharmacol Ther*, 34(4), 454-461 (2011).
98. Liu CH, Liang CC, Su TH *et al.* Peginterferon alfa-2a plus Low Dose Ribavirin versus Peginterferon alfa-2a Monotherapy for Dialysis Patients with Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection: A Randomized Trial. *Hepatology*, 56 (Suppl. S1), 993A (2012).
99. Dumortier J, Guillaud O, Gagnieu MC *et al.* Anti-viral triple therapy with telaprevir in haemodialysed HCV patients: is it feasible? *J Clin Virol*, 56(2), 146-149 (2013).
100. Rendon AL, Nunez M, Romero M *et al.* Early monitoring of ribavirin plasma concentrations may predict anemia and early virologic response in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, 39(4), 401-405 (2005).
101. Sulkowski MS, Benhamou Y. Therapeutic issues in HIV/HCV-coinfected patients. *J Viral Hepat*, 14(6), 371-386 (2007).
102. Lafeuillade A, Hittinger G, Chadapaud S. Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV coinfection. *Lancet*, 357(9252), 280-281 (2001).
103. Moreno A, Quereda C, Moreno L *et al.* High rate of didanosine-related mitochondrial toxicity in HIV/HCV-coinfected patients receiving ribavirin. *Antivir Ther*, 9(1), 133-138 (2004).
104. Soriano V, Puoti M, Sulkowski M *et al.* Care of patients coinfectd with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV-HIV International Panel. *AIDS*, 21(9), 1073-1089 (2007).
105. Furusyo N, Kubo N, Toyoda K *et al.* Helper T cell cytokine response to ribavirin priming before combined treatment with interferon alpha and ribavirin for patients with chronic hepatitis C. *Antiviral Res*, 67(1), 46-54 (2005).
106. Merli M, Giannelli V, Gentili F *et al.* Ribavirin priming improves the virological response to antiviral treatment in transplanted patients with recurrent hepatitis C: a pilot study. *Antivir Ther*, 16(6), 879-885 (2011).

107. Brillanti S, Buonfiglioli F, Feletti V, Laterza L, Roda E. Ribavirin priming enhances efficacy of chronic hepatitis C re-treatment in patients who had not responded to previous combination therapy. *Hepatology*, 50 (Suppl. 4), 317A (2009).
108. Kowdley KV, Lawitz E, Poordad F *et al.* Safety and efficacy of interferon-free regimens of ABT-450/r, ABT-267, ABT-333 +/- ribavirin in patients with chronic HCV genotype 1 infection: Results from the AVIATOR study. *J Hepatol*, 58 (Suppl. 1), S2 (2013).
109. Gane EJ, Stedman CA, Hyland RH *et al.* All-oral sofosbuvir-based 12-week regimens for the treatment of chronic HCV infection: the ELECTRON study. *J Hepatol*, 58 (Suppl. 1), S6-7 (2013).
110. Jacobson I, Yoshida EM, Sulkowski M *et al.* Treatment with sofosbuvir + ribavirin for 12 weeks achieves SVR12 of 78% in GT2/3 interferon-ineligible, -intolerant, or -unwilling patients: results of the phase 3 POSITRON trial. *J Hepatol*, 58 (Suppl. 1), S28 (2013).
111. Nelson DR, Feld J, Kowdley KV *et al.* All oral therapy with sofosbuvir + ribavirin for 12 or 16 weeks in treatment experienced genotype 2/3 HCV-infected patients: results of the phase 3 FUSION trial. *J Hepatol*, 58 (Suppl. 1), S3-4 (2013).

**Boceprevir and telaprevir based triple therapy for chronic hepatitis C:
virological efficacy and impact on kidney function and MELD score**

Boceprevir and telaprevir based triple therapy for chronic hepatitis C: virological efficacy and impact on kidney function and MELD score

Victor Virlogeux^{1,2,3,4}, Pierre Pradat^{1,2,3}, François Bailly^{1,2,3}, Giorgiana Funingana¹, Flavio Gonçalves¹, Marianne Maynard¹, Kerstin Hartig-Lavie¹, Majid Amiri¹, Fabien Zoulim^{1,2,3,5}

¹ Department of Hepatology, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

² Lyon University, France

³ Inserm U1052, Lyon, France

⁴ ENS, Lyon, France

⁵ Institut Universitaire de France

Running title: Efficacy and tolerance of PI-based triple therapy

Address for correspondence:

Pr. Fabien Zoulim

INSERM U1052

151 Cours Albert Thomas

69003 Lyon, France.

Telephone: +33-4-72 68 19 70

Fax: +33-4-72 68 19 71

fabien.zoulim@inserm.fr

Word count: abstract: 248

Body of text: 2306

ABSTRACT

Background and aim: Triple therapy using telaprevir or boceprevir (HCV-NS3/NS4A protease inhibitors [PI]) in association with PEG-IFN/ribavirin has recently become the new standard of care (SOC) for treatment of HCV genotype 1 patients. Our objective was to assess the efficacy and tolerance of triple therapy in routine clinical practice.

Methods: 186 consecutive HCV patients initiating triple therapy were enrolled. Clinical, biological, and virological data were collected at baseline and during follow-up as well as tolerance and side effects.

Results: The overall extended Rapid Virological Response (eRVR) rate and Sustained Virological Response (SVR) rate were 57.0% and 59.7% respectively. IL-28B CC phenotype was associated with increased probability of achieving eRVR and SVR whereas previous non-response was associated with low eRVR and SVR rates. The SVR rate increased from 30.8% in previously non-responders, to 59.1% in partial non-responders and 75% in relapsers. SVR rate in naive patients was 62.5%. Glomerular filtration rate assessed by MDRD after 12 weeks of therapy was significantly reduced for both PI ($p < 0.001$). The MELD score was significantly increased at W12 for telaprevir ($p = 0.008$) and at W24 for boceprevir ($p = 0.027$).

Conclusions: PI-based triple therapy leads to high rates of virological response even in previously non-responder patients. Renal function after triple therapy is impaired as well as MELD score in all patients. Cautious clinical monitoring should focus not only on haematological and dermatological side effects but also on renal function.

Keywords: HCV, protease inhibitor, ribavirin, PEG-IFN, triple therapy, virological response, renal function, Glomerular Filtration Rate, GFR

INTRODUCTION

About 130-170 million people are chronically infected with the hepatitis C virus (HCV) worldwide [1], with 9 million infected in the United States and Western Europe [2, 3]. During the past decade, the standard of care for HCV treatment was a combination of pegylated interferon (PEG-IFN) plus ribavirin (RBV) allowing a sustained virological response (SVR) rate of about 50% in patients with HCV genotype 1 [4, 5]. Response to therapy varied according to genotype with genotype 1 and 4 patients achieving lower SVR rates than patients infected with genotype 2 or 3 (40-50% vs >80%, respectively) [5, 6]. Thus the low SVR rate in genotype 1 and the poor response rates observed in special populations such as black patients and cirrhotics [7, 8] have driven the development of novel antiviral therapies and the combination of boceprevir or telaprevir – two protease inhibitors (PI) of NS3/NS4A proteins of HCV – with PEG-IFN/RBV has become the new standard of care since the end of 2011 [9, 10]. In boceprevir-based triple therapy, results from phase III clinical trials reported 60% of SVR for naïve patients (SPRINT-2 study) and 63% for relapsers and previous partial non-responders (RESPOND-2 study). For telaprevir, SVR was reached in 75% of naïve-patients (ADVANCE and ILLUMINATE studies) and 71% of previous relapsers or partial non-responders (REALIZE) [11]. However, data on triple therapy outside clinical trials are scarce.

The objective of the present study was thus to assess the efficacy and tolerance of triple therapy in routine clinical practice with a special focus on renal function.

MATERIALS & METHODS

Patients

All patients (n=186) receiving a triple therapy with boceprevir or telaprevir in association with PEG-IFN/RBV at the Department of Hepatology of the Croix-Rousse Hospital, Lyon, France between January 2011 and November 2012 were enrolled. Among them, 40 (22%) were part of the CUPIC cohort with the following inclusion criteria: fibrosis stage IV (i.e. cirrhosis), relapser or partial responder ($>2 \log_{10}$ HCV RNA decline at Week 12) to a previous PEG-IFN/RBV therapy, HCV genotype 1, no viral coinfection, no transplantation. These patients received triple therapy as compassionate use before the PI marketing authorisation in France (Boceprevir: 18/07/2011 and Telaprevir: 19/9/2011) in an early access program from The French National Agency for Medicines and Health Products Safety (ANSM). The CUPIC cohort was sponsored by the National Agency for Research on Aids and Viral Hepatitis (ANRS). The remaining 146 patients started their treatment after the marketing authorisation. The only inclusion criterion was HCV genotype 1. All patients received triple therapy planned for 48 weeks as either PEG-IFN/RBV for 4 weeks + boceprevir/PEG-IFN/RBV for 44 weeks for boceprevir treated patients or telaprevir/PEG-IFN/RBV for 12 weeks + PEG-IFN/RBV for 36 weeks for telaprevir treated patients.

Demographic, biochemical and virological data were collected at baseline and at different time points during and after therapy to assess treatment efficacy and safety.

Virological response

Rapid virological response (RVR) was defined as undetectable HCV RNA 4 weeks after treatment initiation and extended rapid virologic response (eRVR) as undetectable HCV RNA at weeks 8 and 24 of therapy for boceprevir treated patients or undetectable HCV RNA at weeks 4 and 12 for telaprevir treated patients [11]. SVR was defined as undetectable HCV RNA by sensitive assay (PCR) 12 weeks after treatment end.

Safety

Data on adverse events (ANRS classification), modifications of treatment, severe adverse events (SAE), and additional treatments were collected. The MELD score [12] and glomerular filtration rate (GFR) assessed by MDRD formula [13] – mostly used in France in routine clinical practice – were evaluated during triple therapy and three months after PI cessation to evaluate specific effects of treatment on renal function.

Ethical consideration

All patients included in this study gave their written informed consent to allow the use of their personal clinical data in accordance with ethics regulation defined in France by the CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

Statistical analysis

Nominal and categorical parameters were expressed as absolute numbers and percentages. Mean and standard deviation (\pm SD) were calculated for normally distributed variables, and median and interquartile ranges (IQR) for non-normally distributed variables.

Characteristics were compared between both groups of patients using a Pearson's Chi-square test for categorical parameters and a t-test or a non-parametric Mann-Whitney test for continuous parameters.

The relationship between treatment response and patients' characteristics was studied using a binary logistic regression analysis with an intention-to-treat (ITT) approach [14]. For all analyses, a two-tailed significance testing and a significance level of 0.05 were used. Statistical analysis was performed using SPSS version 19 for Windows.

RESULTS

Patients' characteristics

Data on 186 consecutive HCV patients initiating triple therapy were analyzed among whom 128 (69%) received telaprevir and 58 (31%) received boceprevir. Patients' characteristics are presented in Table 1. No clear-cut difference appeared between both groups of patients. Male gender was predominant (67.7%) and mean age was 55.2 years (± 10.9). About 48% of patients were infected by HCV genotype 1a and 52% by genotype 1b. Twenty-two percent of patients were treatment naive, 27% were relapsers and 49% were non responders or partial responders to PEG-IFN/ribavirin combination. Sixty-one percent of patients had cirrhosis. Both groups of patients were comparable and were pooled together for specific analyses.

Virological response

The eRVR rate in telaprevir-treated patients (60%) was slightly higher than that for boceprevir (50%) but the difference did not reach statistical significance ($p=0.231$). Similarly, no significant difference was observed for RVR with 61% and 51% for telaprevir and boceprevir, respectively. Among 141 patients with information on SVR, the overall SVR rate was 52.5% varying from 46.9% for boceprevir to 55.4% for telaprevir (ITT analysis; $p=0.336$). Among patients with an end-of-treatment response, the relapse rate was higher among boceprevir-treated patients (30.3%) than among telaprevir-treated patients (12.1%; $p=0.032$) whereas the proportion of true non-responders was similar in both treatment groups (16.9%). Fourteen percent of patients receiving telaprevir stopped triple therapy because of adverse events compared with 8.1% of patients receiving boceprevir ($p=0.300$).

Among patients with eRVR, 77% achieved SVR (positive predictive value [PPV] 77%) whereas 5% had a breakthrough and 18% relapsed. Among patients without eRVR, 29% still achieved SVR whereas 71% did not (48% were non responders, 14% had a breakthrough and 9% relapsed).

Factors associated with virological response

Univariate analysis showed that low baseline viral load, IL28B CC phenotype were associated with increased probability of achieving eRVR (Table 2). Conversely, null response to a previous course of therapy was associated with lower probability of eRVR (OR=0.33; $p=0.022$). Except for IL28B not retained in the model (too limited number of patients with IL28B information), these variables remained associated

with eRVR after multivariate analysis. Although the association did not reach statistical significance, genotype 1b (OR=2.39; p=0.070) seemed to be associated with eRVR whereas presence of cirrhosis seemed associated with failure to achieve eRVR (OR=0.43; p=0.089).

Predictive factors of SVR were also studied with univariate and multivariate analysis (Table 3). In univariate analysis, IL28B CC phenotype was associated with SVR (OR=3.54; p=0.031) whereas null response to previous therapy (OR=0.27; p=0.011) was associated with failure to achieve SVR. Presence of cirrhosis was close to significance (OR=0.53; p=0.082). However, baseline viral load was not associated with SVR (OR=0.85; p=0.310). Using multivariate analysis, only null response to previous therapy remained associated with failure to achieve SVR (OR=0.25; p=0.039).

Evaluation of liver and renal functions

The evaluation of liver function (Figure 1) showed a significant increase of the MELD score after 12 weeks of treatment by telaprevir (p=0.008) and after 24 weeks of treatment by boceprevir (p=0.025). A significant decrease was also observed after cessation of telaprevir at W24 with a return to initial values (comparison between D0 and W24 gives p=0.672).

A significant decrease of GFR was observed in both treatment groups after the introduction of the protease inhibitor (Figure 2). Three months after telaprevir withdrawal, a return to normal values was observed whereas for boceprevir-treated patients, the GFR remained significantly below the baseline value three months after the end of treatment. Figure 2 C-D shows that 42% of patients receiving telaprevir had their GFR below 90 ml/mn/1.73m² during triple therapy (vs 28% at baseline) compared with about 33% for boceprevir (vs 9% at baseline). At week 12 the proportion of cirrhotics was similar in the three GFR different groups (<60, 60-90 and >90; p=0.164). Moreover, more than 40% of all patients had a maximal GFR decrease >20 ml/mn/1.73m² (40% for telaprevir vs 48% for boceprevir).

When looking at the association between renal function and virological response, it appears that 86% of patients with a GFR decrease >20ml/mn/1.73m² after telaprevir exposure achieved eRVR compared with only 51% among patients with GFR decrease <20ml/mn/1.73m² (p<0.001). This association was not observed either for SVR, or for boceprevir-treated patients.

Side effects

Both drugs had heavy side effects (Table 4f). More than half of patients had some sign of anemia (63% for boceprevir and 47% for telaprevir; p=0.050). Thrombocytopenia was slightly more frequent with

boceprevir (44%) than for telaprevir (30%) although this difference did not reach statistical significance. Neutropenia was also more frequent after boceprevir exposure (52.5%) than after telaprevir use (23%; $p < 0.001$).

Concerning cutaneous adverse events, telaprevir induced more side effects than boceprevir with pruritus/erythema occurring in 72% and 54% of cases, respectively ($p = 0.018$), but no severe rash was observed. Dysgeusia more often affected patients under boceprevir therapy (15% vs 7% for telaprevir; $p = 0.013$).

Erythropoietin (EPO) seemed more often prescribed for patients receiving boceprevir (57.6%) than for patients receiving telaprevir (42%; $p = 0.065$) with an average time before EPO intake slightly shorter for telaprevir than boceprevir (66 vs 53 days; $p = 0.191$).

DISCUSSION

Based on a large number of patients enrolled within routine clinical practice, this study reports an overall SVR rate of 60% varying from 48% in cirrhotic patients to 63% in non-cirrhotics. These SVR rates are higher than those previously reported in patients receiving PEG-IFN/ribavirin combination therapy (20% of SVR in cirrhotics; [15]) but are similar to those reported in the CUPIC study based on cirrhotic patients only [16].

As expected, virological response is highly associated with response to previous therapy with SVR rates ranging from 31% in non-responders to about 63-69% in naive or relapsers/partial responders. These results are of the same magnitude as those reported in phase III trials [11].

Interestingly, 29% of patients failing to achieve eRVR in our study still achieved SVR suggesting a slow virological response in these patients. Conversely, 23% of patients with eRVR had a subsequent virological breakthrough or relapse. eRVR was previously reported as being predictive of SVR [17]. However, our results illustrate that this is not the case in 20-30% of patients and suggest that treatment should not be withdrawn in patients without eRVR since about a third of them might still achieve SVR.

Univariate and multivariate analysis indicate that null response to previous therapy is associated with failure to achieve eRVR and SVR whereas low baseline viral load seems to be associated with eRVR but not with SVR. The association between IL28B polymorphism and virological response does not reach statistical significance for eRVR despite elevated ORs but is associated with SVR, confirming the well described association observed in PEG-IFN/ribavirin combination [18-20]. Viral genotype (1b vs 1a) is possibly associated with eRVR which is in line with previous observations [11].

Our results show a significant decrease of the GFR after the introduction of protease inhibitor in patients under triple therapy. Such a decrease was recently reported in a study limited to baseline, W12 and W24 of therapy [21]. For telaprevir-treated patients in our study, this impairment of renal function seems reversible with a return to normal function after telaprevir withdrawal. This decrease of renal function after telaprevir exposure has been previously observed in an *in vitro* system [22]. Drug and cation transporters such as the organic cation transporter 2 (OCT2) and the multidrug and toxin extrusion (MATE)-type transporter 1 (MATE1) [23] seem indeed to be inhibited by telaprevir exposure in HEK293 cell lines that over-express single transporter. This type of mechanism could explain the GFR decrease in patients treated by protease inhibitor. Furthermore, an increase of serum ribavirin concentration has also been observed in a group of patients treated by telaprevir. Telaprevir induced renal dysfunction leads to an early elevation of serum ribavirin concentration in triple therapy [24]. Interestingly, our results indicate that the eRVR rate is higher in patients with renal function impairment (86% in patients with GFR decrease

>20ml/mn/1.73m² vs 51% in patients with GFR decrease <20) suggesting that a decrease of renal function could be associated with a quick response to telaprevir possibly partly explained by a better ribavirin biodisponibility.

The increase in the MELD score in our study is only due to the creatinine increase after the dissociation of the three characteristics of this score (no significant variations have been observed for INR and for bilirubin).

Concerning side effects, boceprevir seems to more often induce haematological effects probably because of the longer duration of triple therapy. Anaemia is a well known side effect of ribavirin exposure. Borroni et al. recently showed that low glomerular filtration rate was a risk factor for ribavirin-associated anaemia [25]. Molecular mechanisms of ribavirin are also well-known to be associated with anaemia [26]. Renal dysfunction due to protease inhibitor could possibly increase ribavirin concentration hereby inducing anemia. No correlation between haemoglobin level and GFR was possible due to the early use of EPO in clinical routine practice.

In conclusion, PI-based triple therapy leads to high rates of virological response even in previously non-responder patients. Response to previous therapy is strongly associated with virological response whereas baseline viral load only impacts early viral kinetics. Results of eVR should thus be cautiously interpreted since a substantial proportion of patients are slow responders and still achieve SVR. Moreover, renal function is impaired in all patients whatever the type of PI and patients' characteristics. Clinical monitoring should focus not only on haematological and dermatological side effects but also on renal function.

REFERENCES

- [1] Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int* 2009;29 Suppl 1:74-81.
- [2] Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* 2006;144:705-714.
- [3] Trepo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol* 1999;31 Suppl 1:80-83.
- [4] Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncales FL, Jr., et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
- [5] Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, Shiffman M, Reindollar R, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-965.
- [6] Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M, Goeser T, Marcellin P, Sanchez-Tapias J, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 2004;40:993-999.
- [7] Aghemo A, Rumi MG, Monico S, Prati GM, D'Ambrosio R, Donato MF, et al. The pattern of pegylated interferon-alpha2b and ribavirin treatment failure in cirrhotic patients depends on hepatitis C virus genotype. *Antivir Ther* 2009;14:577-584.
- [8] Pijak MR, Gazdik F, Hrusovsky S. Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for black American patients with chronic HCV genotype 1. *Hepatology* 2004;40:760-761; author reply 761.
- [9] Farnik H, Zeuzem S. New antiviral therapies in the management of HCV infection. *Antivir Ther* 2012;17:771-783.
- [10] Pearlman BL. Protease inhibitors for the treatment of chronic hepatitis C genotype-1 infection: the new standard of care. *The Lancet infectious diseases* 2012;12:717-728.
- [11] Jacobson IM, Pawlotsky JM, Afdhal NH, Dusheiko GM, Fornis X, Jensen DM, et al. A practical guide for the use of boceprevir and telaprevir for the treatment of hepatitis C. *J Viral Hepat* 2012;19 Suppl 2:1-26.
- [12] Kamath PS, Kim WR. The model for end-stage liver disease (MELD). *Hepatology* 2007;45:797-805.
- [13] Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999;130:461-470.
- [14] Hollis S, Campbell F. What is meant by intention to treat analysis? Survey of published randomised controlled trials. *BMJ* 1999;319:670-674.
- [15] Iacobellis A, Ippolito A, Andriulli A. Antiviral therapy in hepatitis C virus cirrhotic patients in compensated and decompensated condition. *World J Gastroenterol* 2008;14:6467-6472.
- [16] Fontaine H, Hezode C, Dorival C, Larrey D, Zoulim F, De Ledinghen V, et al. SVR12 rates and safety of triple therapy including telaprevir or boceprevir in 221 cirrhotic non responders treated in the French

Early Access Program (ANRS CO20-CUPIC). 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL 2013). *J Hepatol* 2013;58 (Suppl. 1):S27.

[17] Wedemeyer H, Jensen DM, Godofsky E, Mani N, Pawlotsky JM, Miller V. Recommendations for standardized nomenclature and definitions of viral response in trials of hepatitis C virus investigational agents. *Hepatology* 2012;56:2398-2403.

[18] Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461:399-401.

[19] Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, Berg T, Weltman M, Abate ML, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nature genetics* 2009;41:1100-1104.

[20] Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nature genetics* 2009;41:1105-1109.

[21] Mauss S, Hueppe D, Alshuth U. Renal impairment is frequent in chronic hepatitis C patients under triple therapy with telaprevir or boceprevir. *Hepatology* 2013.

[22] Kunze A, Huwyler J, Camenisch G, Gutmann H. Interaction of the antiviral drug telaprevir with renal and hepatic drug transporters. *Biochem Pharmacol* 2012;84:1096-1102.

[23] Meyer zu Schwabedissen HE, Verstuyft C, Kroemer HK, Becquemont L, Kim RB. Human multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter: functional characterization, interaction with OCT2 (SLC22A2), and single nucleotide polymorphisms. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010;298:F997-F1005.

[24] Karino Y, Hige S, Nakajima T, Kimura M, Arakawa T, Kuwata Y, et al. Telaprevir induced renal dysfunction leads to an early elevation of serum ribavirin concentration in triple therapy. *Hepatology* 2012;56 (Suppl. 1):1005A-1006A

[25] Borroni G, Cazzaniga M, Andreatti M, Ceriani R, Guerzoni P, Omazzi B, et al. Low glomerular filtration rate is a risk factor for ribavirin-associated anaemia in old patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2013;20:e90-95.

[26] Russmann S, Grattagliano I, Portincasa P, Palmieri VO, Palasciano G. Ribavirin-induced anemia: mechanisms, risk factors and related targets for future research. *Curr Med Chem* 2006;13:3351-3357.

Table 1: Patients' characteristics at baseline

Characteristics	Telaprevir (N=128)	Boceprevir (N=58)	Total	p
Age (years); mean \pm SD	55.8 \pm 10.1	53.8 \pm 12.4	55.2 \pm	0.235
Male gender — n (%)	86 (67.2)	40 (69.0)	126 (67.7)	0.810
BMI > 25; n (%) (N=150)	50 (50.0)	30 (60.0)	80 (53.3)	0.247
Genotype — n (%) (N=151)				0.164
1a	54 (51.4)	18 (39.1)	72 (47.7)	
1b	51 (48.6)	28 (60.9)	79 (52.3)	
Previous treatment response — n (%) (N=176)				0.918
Naïve	28 (23.0)	11 (20.4)	39 (22.2)	
Relapser	30 (24.6)	17 (31.5)	47 (26.7)	
Viral breakthrough	2 (1.6)	1 (1.9)	3 (1.7)	
Partial response	22 (18.0)	9 (16.7)	31 (17.6)	
Null response	40 (32.8)	16 (29.6)	56 (31.8)	
Diabetes — n (%) (N=166)	24 (21.4)	12 (22.2)	36 (21.7)	0.907
Histology* — n (%) (N=181)				0.155
F0-F1	23 (18.4)	5 (8.9)	28 (15.5)	
F2	26 (20.8)	17 (30.4)	43 (23.8)	
F3-F4	76 (60.8)	34 (60.7)	110 (60.8)	
IL28B Genotype — n (%) (N=70)				0.577
C/C	13 (27.1)	7 (31.8)	20 (28.6)	
C/T	29 (60.4)	14 (63.6)	43 (61.4)	
T/T	6 (12.5)	1 (4.5)	7 (10.0)	
Anti-HBc — n (%) (N=139)				0.263
Presence	35 (36.5)	20 (46.5)	55 (39.6)	
Absence	61 (63.5)	23 (53.5)	84 (60.4)	
Average duration of infection (years) — mean \pm SD	32.0 \pm 9.0	33.8 \pm 7.7	32.6 \pm 8.6	0.387
Viral load in log IU/mL — mean \pm SD (N=167)	6.0 \pm 0.84	5.8 \pm 0.68	5.9 \pm 0.79	0.145
ALT>ULN — n (%) (N=158)	37 (33.0)	21 (45.7)	58 (36.7)	0.135

* assessed in 89% of patients by transient elastography (FibroScan), 6% by Fibrotest and 5% by liver biopsy

Table 2: Predictive factors of eRVR

Characteristics	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR [CI 95%]	p	OR [CI 95%]	p
Age (N=149)	0.98 [0.95 – 1.01]	0.293	--	--
Gender — M vs F (N=124)	1.83 [0.90 – 3.71]	0.092	1.84 [0.68 – 4.97]	0.231
Obesity (BMI>25) — presence vs absence (N=123)	1.01 [0.50 – 2.06]	0.972	--	--
Diabetes — presence vs absence (N=136)	0.90 [0.38 – 2.12]	0.816	--	--
ALT UI/L at baseline (N=117)	1.00 [0.99 – 1.00]	0.498	--	--
Initial histology — cirrhosis vs non-cirrhosis (N=146)	0.60 [0.3 – 1.19]	0.326	0.43 [0.16 – 1.14]	0.089
Previous treatment response — vs naive (N=143)				
Viral breakthrough	1.00 [0.81 – 12.4]	1.000	0.08 [0 – 115]	0.495
Null response	0.33 [0.13 – 0.85]	0.022	0.26 [0.08 – 0.88]	0.030
Partial response	0.63 [0.21 – 1.83]	0.391	0.39 [0.09 – 1.69]	0.210
Relapse	1.25 [0.43 – 3.59]	0.679	0.77 [0.22 – 2.71]	0.684
Genotype — 1b vs 1a (N=118)	1.53 [0.73 – 3.19]	0.254	2.39 [0.93 – 6.12]	0.070
Initial viral load (N=147)	0.58 [0.39 – 0.87]	0.008	0.48 [0.27 – 0.86]	0.014
Anti-HBc antibody - presence vs absence (N=118)	0.93 [0.45 – 1.94]	0.844	--	--
IL28 genotype* — C/C vs C/T vs T/T (N=57)	2.53 [0.98 – 6.55]	0.056		

*this variable was not retained in the multivariate model since the information was available in a too limited number of patients

Table 3: Predictive factors of SVR (N=141)

Characteristics	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR [CI 95%]	p	OR [CI 95%] (N=102)	p
Age (N=141)	1.02 [0.98 – 1.05]	0.351	--	--
Gender — M vs F (N=141)	0.80 [0.40 – 1.60]	0.520	0.55 [0.20 – 1.49]	0.238
Obesity (BMI>25) — presence vs absence (N=117)	0.67 [0.32 – 1.39]	0.279	--	--
Diabetes — presence vs absence (N=130)	1.09 [0.45 – 2.66]	0.855	--	--
ALT (N=121)	0.99 [0.99 – 1.00]	0.047	--	--
Initial histology — cirrhosis vs non cirrhosis (N=139)	0.53 [0.26 – 1.08]	0.082	0.51 [0.19 – 1.35]	0.174
Previous treatment response vs naive (N=137)				
Viral breakthrough	1.20 [0.10 – 15.20]	0.888	0.43 [0.02 – 11.55]	0.617
Null response	0.27 [0.10 – 0.74]	0.011	0.25 [0.07 – 0.94]	0.039
Partial response	0.87 [0.27 – 2.84]	0.813	0.70 [0.15 – 3.33]	0.651
Relapse	1.80 [0.59 – 5.51]	0.303	1.62 [0.42 – 6.30]	0.484
Genotype — 1b vs 1a (N=113)	1.50 [0.71 – 3.13]	0.297	1.54 [0.59 – 4.07]	0.379
Initial viral load (N=134)	0.85 [0.62 – 1.17]	0.310	0.86 [0.57 – 1.29]	0.455
Anti-HBc antibody — presence vs absence (N=109)	0.81 [0.38 – 1.76]	0.595	--	--
IL28 genotype* — C/C vs C/T vs T/T (N=53)	3.54 [1.12-11.20]	0.031	--	--

*this variable was not retained in the multivariate model since the information was available in a too limited number of patients

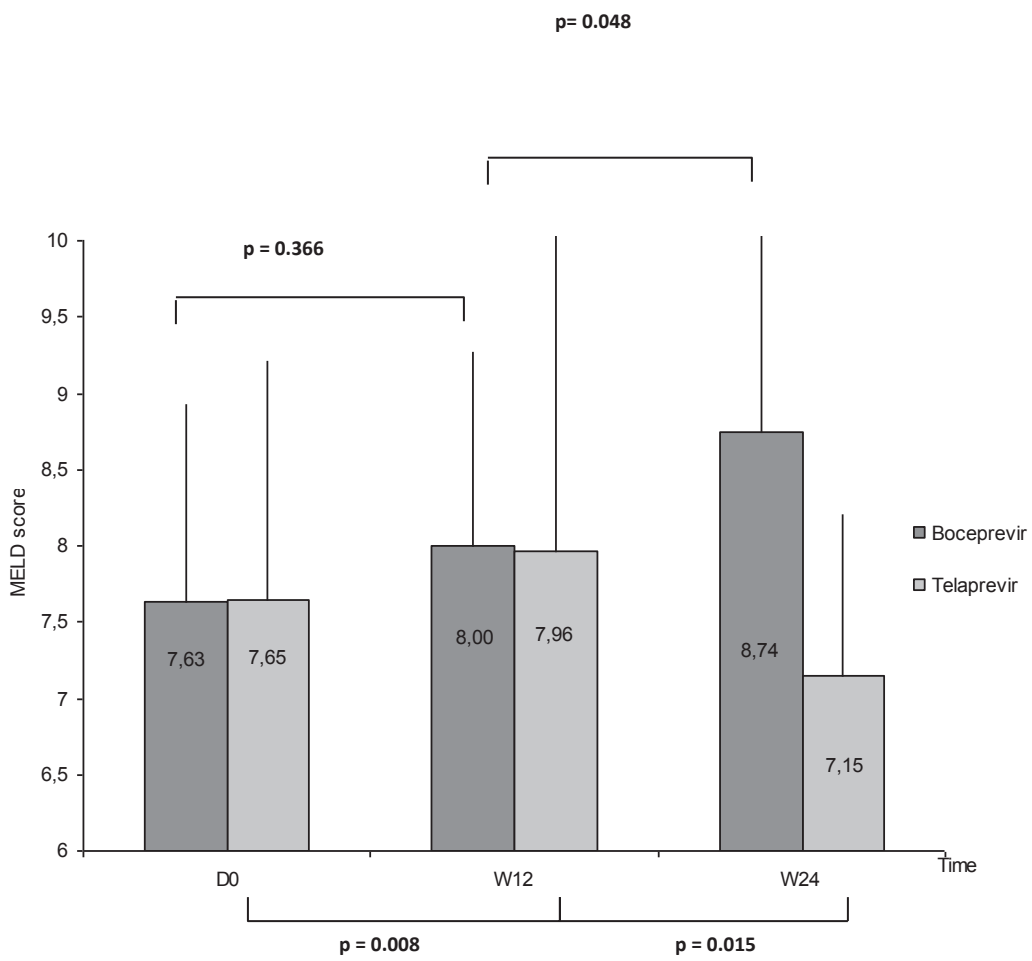
Table 4: Side effects of triple therapy

Side Effects		Telaprevir (N=128)	Boceprevir (N=58)	Total	p
Anaemia — n (%)		62 (47.3)	37 (62.7)	99 (52.1)	0.050
Degree ¹ — n (%) (N=56)	1	19 (73.1)	22 (73.3)	41 (73.2)	0.189
	2	7 (26.9)	4 (13.3)	11 (19.6)	
	3	0	2 (6.7)	2 (3.6)	
	4	0	2 (6.7)	2 (3.6)	
Thrombocytopenia — n (%)		40 (30.5)	26 (44.1)	66 (34.7)	0.070
Degree ¹ — n (%) (N=46)	1	7 (31.8)	9 (37.5)	16 (34.8)	0.505
	2	9 (40.9)	6 (25)	15 (32.6)	
	3	6 (27.3)	9 (37.5)	15 (32.6)	
Neutropenia — n (%)		30 (22.9)	31 (52.5)	60 (31.6)	<0.001
Degree ¹ — n (%) (N=44)	1	8 (53.3)	9 (31.0)	17 (38.6)	0.374
	2	4 (26.7)	9 (31)	13 (29.5)	
	3	3 (20.0)	8 (27.6)	11 (25.0)	
	4	0	3 (10.3)	3 (6.8)	
Gastrointestinal — n (%)		42 (32.1)	18 (30.5)	60 (31.6)	0.831
Respiratory — n (%)		28 (21.4)	17 (28.8)	45 (23.7)	0.264
Muscular — n (%)		18 (13.7)	19 (32.2)	37 (19.5)	0.003
Skin — n (%)		94 (71.8)	32 (54.2)	126 (66.3)	0.018
Dysgueusia — n (%)		9 (6.9)	12 (15.3)	21 (11.1)	0.013
Therapeutic consequences					
Early termination of treatment — n		9 (15.3)	18 (13.7)	27 (14.2)	0.782
DimPEG — n (%)		8 (13.6)	9 (6.9)	17 (8.9)	0.222
DimRiba — n (%)		27 (20.6)	11 (18.6)	38 (20.0)	0.906
EPO — n (%)		55 (42.0)	34 (57.6)	89 (46.8)	0.065
Time before EPO intake (Days) —		53.1 ± 44.8	66.5 ± 43.7	58.3 ±	0.191
Neupogen — n (%)		5 (3.8)	12 (20.3)	17 (8.9)	<0.001
Revolade — n (%)		5 (3.8)	5 (6.8)	9 (4.7)	0.602

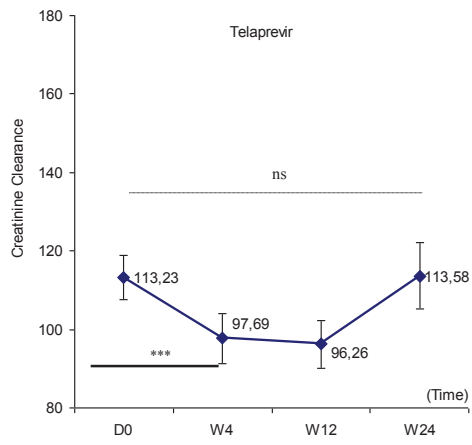
¹ only a small proportion of patients had their haematological side effects classified according to ANRS

Figure 1: MELD score variations during triple therapy: ($MELD = 3.78[\ln \text{ serum bilirubin (mg/dL)}] + 11.2[\ln INR] + 9.57[\ln \text{ serum creatinine (mg/dL)}] + 6.43$; any value less than one is given a value of 1)

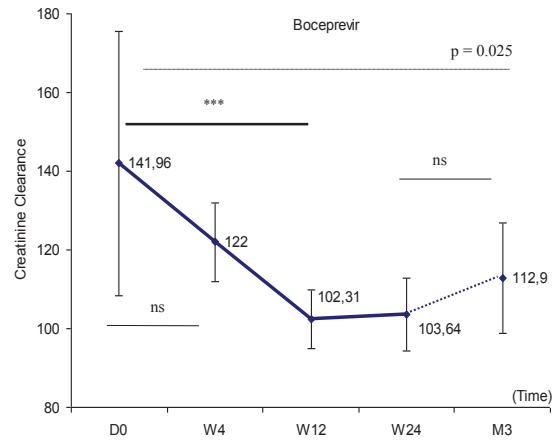
Figure 2: Creatinine clearance variations during triple therapy. Creatinine clearance was calculated with MDRD formula. Panel A and B: creatinine clearance mean variations during triple therapy and three months after the end of therapy for boceprevir (M+3) and three months telaprevir withdrawal (W24). Panel C and D: variations in proportions of patients with glomerular filtration rate (calculated with MDRD formula) classified in three classes (>90, 60-90 and <60) during triple therapy (***) p < 0.001).



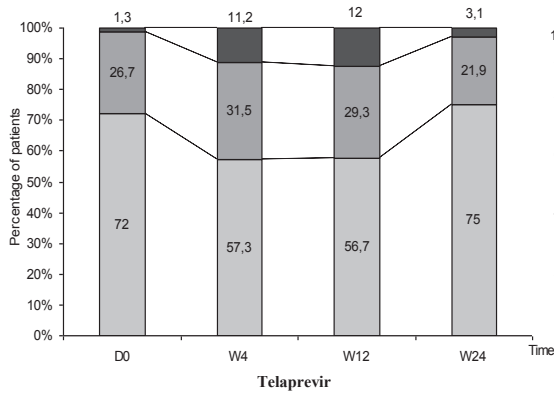
A.



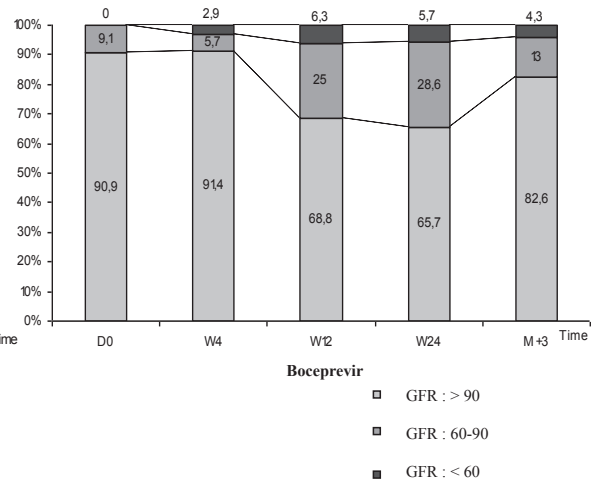
B.



C.



D.



Annexe 2 : Article soumis pour publication à *HIV Medicine*

Association between low CD4 level and ribavirin underexposure in HIV-HCV coinfecting patients

**ASSOCIATION BETWEEN LOW CD4 LEVEL AND RIBAVIRIN UNDEREXPOSURE
IN HIV-HCV COINFECTED PATIENTS**

Giorgiana HATU^{1,2*}, François BAILLY^{1,3,4*}, Emmanuel POURCELOT⁵, Pierre PRADAT^{1,3,4}, Patrick MIAILHES^{3,4,6}, Marianne MAYNARD^{1,3,4}, François PARANT⁵, Pierre CHIARELLO⁷, Jean-Michel LIVROZET⁷, Fabien ZOULIM^{1,3,4}, Marie-Claude GAGNIEU⁵

*Both authors contributed equally to this work

¹ Department of Hepatology, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France

² Université de Médecine et Pharmacie "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca, Romania

³ INSERM U1052, Lyon, France

⁴ Université Lyon I, France

⁵ Pharmacology, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France

⁶ Département of Infectious Diseases, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France

⁷ Department of Immunology, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France

Short title: Low CD4 level and ribavirin underexposure

Corresponding author:

Pierre Pradat

Department of Hepatology, Hopital Croix-Rousse

103 grande rue de la Croix-Rousse, 69004 Lyon, France

Phone +33 (0)4 26 73 27 15 – Fax +33 (0)4 26 73 27 34

Email : pierre.pradat@univ-lyon1.fr

ABSTRACT

OBJECTIVES: In HIV infected patients, the impact of ribavirin (RBV) pharmacology on sustained virologic response (SVR) to hepatitis C virus (HCV) treatment has not been fully investigated. The objective of this study was to compare the early RBV plasma exposure between a population of HIV-HCV coinfecting patients and an HCV monoinfected group.

METHODS: Early RBV plasma exposure (expressed as Area Under the Curve (AUC) from 0 to 4h) after a 600 mg first dose of RBV in a population of HIV-HCV coinfecting patients in comparison with an HCV monoinfected group. Peripheral blood samples were collected before the 600 mg RBV first dose (T0) to ensure no detectable baseline plasma ribavirin, and then 30mn, 1, 2 and 4 hours after RBV intake (T0.5, T1, T2 and T4).

RESULTS: Eighty-six patients with chronic hepatitis C entered the study among whom 23 (27%) were HIV-HCV coinfecting. Coinfecting patients had a significantly lower RBV-AUC_{0-4h} (median: 1469 µg*h/L [range 936-3677]) compared with monoinfected patients (2030µg*h/L [851-7700]; p=0.018). This RBV under exposure in coinfecting patients persists after normalization of AUC to RBV dose per kilogram of body weight (182 µg*h/L [110-425] *versus* 271 µg*h/L [82-1091], p=0.001).

CONCLUSIONS: These results suggest that lower early bioavailability of RBV could be one of the reasons for lower SVR in HIV-HCV coinfecting patients treated with pegylated interferon/ribavirin combination therapy. RBV plasma underexposure seems to be associated with the immunological status of the patients with lower AUC_{0-4h} values observed in the more immunosuppressed coinfecting patients.

Keywords: Hepatitis C, human immunodeficiency virus, ribavirin exposure, treatment, coinfection

INTRODUCTION

Worldwide prevalence of hepatitis C virus (HCV) infection in human immunodeficiency virus (HIV) infected patients is about 33% (1-3) and this pathology represents one of the main comorbidities in this population (4, 5). Before the use of protease inhibitors, combination of ribavirin (RBV) and pegylated interferon- α (pegIFN) was the standard of care for treatment of chronic HCV patients. All guidelines to adjust RBV doses have been defined in monoinfected patients but are also used in HIV-HCV ones. According to these guidelines, RBV doses must be adapted to body weight. Studies have shown that high RBV plasma concentrations could improve early virological response rates (6, 7). However, RBV daily dose, even adjusted for body weight is poorly correlated with RBV plasma concentration (8, 9) due to a large inter-individual variability in exposure (10-12). Different explanations have been proposed for this variability: i) the lean body weight would be a better covariate with a linear influence on RBV clearance (13); ii) RBV exposure depends on creatinine clearance (14); iii) the RBV pharmacokinetics could be impacted by the pharmacological or pathological context of HIV-HCV coinfection (15). Loustaud-Ratti et al., showed that RBV plasma exposure after a first dose in HCV monoinfected patients was predictive of sustained virological response (SVR) and proposed a threshold of 1755 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ for the RBV plasma AUC from 0 to 4h post-dose to discriminate patients with subsequent SVR from those with non-response (16). This is currently the only data that can be used to interpret early RBV exposure and determine the optimal dose to initiate treatment. The impact of the pharmacokinetic properties of RBV in HIV patients has not been fully investigated. As for HCV monoinfected patients, we know that a large inter-individual variability in RBV plasma concentrations exists in HIV-HCV coinfecting patients and that RBV exposure is associated with both efficacy and anemia (7). Moreover, the SVR rate is known to be lower in HIV-HCV coinfecting than in HCV monoinfected patients. One possible explanation could be that, as for others drugs, HIV infected patients present a lower bioavailability of RBV. The aim of this study was to determine early plasma exposure evaluated by the $\text{AUC}_{0-4\text{h}}$ after a first dose of RBV in a population of HIV-HCV coinfecting patients and to compare the results to those obtained in HCV monoinfected patients.

PATIENTS AND METHODS

Patients

Patients followed for a chronic hepatitis C infection (Edouard Herriot and Croix-Rousse hospitals, Lyon, France) and for whom a plasma AUC determination after a first dose of RBV (600 mg) was

obtained entered the study. This determination is routinely performed in order to evaluate RBV bioavailability. Patients were divided into two groups according to their HIV status. To be included, patients had to have detectable HCV RNA, and for HIV-HCV coinfecting patients to be on combined antiretroviral therapy (cART) for at least one month prior to RBV initiation. Patients with RBV treatment within the past three months were excluded. All patients gave their informed consent before they entered the study. Following characteristics were recorded at baseline (day of the first RBV dose intake): age, body weight, body mass index (BMI), creatinine level, glomerular filtration rate (GFR, estimated by Cockcroft clearance and MDRD formula), hemoglobin, aminotransferases, fibrosis stage, HCV genotype, HCV- and HIV RNA quantification, CD4 level and antiretroviral drugs.

Methods

Peripheral blood samples were collected before the 600 mg RBV first dose (T0) to ensure no detectable baseline plasma ribavirin, and then 30 mn, 1, 2 and 4 hours after RBV intake (T0.5, T1, T2 and T4). To avoid RBV exchange between plasma and red blood cells, samples were placed in ice immediately after withdrawal and centrifuged as soon as possible (maximum lag time was 1h). RBV plasma concentrations were measured using a validated High-Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector method (17). This method is highly specific, sensible (limit of quantification = 0.05 mg/L), and precise (total imprecision, calculated by measuring the coefficient of variation (CV) of the internal quality control values was less than 10% for concentrations from 0.20 to 5.00 mg/L).

Pharmacokinetic analysis

RBV AUC was calculated using the Table Curve 2D software (Systat Software Inc). As a large variability of body weight (BW) was observed and that all patients received the same RBV first dose, AUC were also normalized as AUC_{0-4h}/dose (in mg/BW in kg). Results of AUC and normalized AUC were analyzed according to the two groups defined by the HIV status.

Statistical analysis

All quantitative variables were expressed as medians. Comparisons of data were made using the non-parametric Mann-Whitney test. Statistical analysis was performed using the Statistica® software package (StatSoft Inc). A multivariate logistic regression analysis was conducted to identify factors potentially associated with ribavirin underexposure (defined by an $AUC < 1755 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$). Variables significantly associated with ribavirin underexposure in univariate analysis and variables suspected to be associated with it, were included in the multivariate model. A p value below 0.05 was considered as statistically significant.

RESULTS

Eighty-six patients with chronic hepatitis C entered the study. Among them, 62 were males (72%) and 23 (27%) were HIV-HCV coinfecting. Most of them (85%) were infected with HCV genotype 1 or 4. Baseline characteristics are presented in Table 1.

Among HIV-HCV coinfecting patients, 20/23 (87%) had a negative HIV RNA viral load at baseline (<50 copies/mL) and 57% had a CD4 count above 500 cells/mm³. Most of them received two nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) (21 patients) and a protease inhibitor (IP) (14 patients) as part of their cART. For 86% of those treated by NRTIs, treatment included tenofovir and emtricitabine and for 50% treated by IP, treatment included lopinavir. Eight patients received non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), four received raltegravir and one maraviroc. Two patients were treated by drugs known to have an increased risk of toxicity in association with RBV, didanosine and stavudine for one and didanosine alone for the other. Medians of AUC_{0-4h} and AUC_{0-4h} normalized to the first RBV dose expressed in mg/kg BW were 1469 µg.h/L and 182 (µg.h/L)/(mg/kg) respectively. According to the threshold of 1755 µg.h/L defined in HCV mono-infected patients, 14/23 (61%) coinfecting patients were found to have an AUC_{0-4h} below this value. No significant difference was found for cART type and duration, HIV viral load and CD4 level between the 2 sub-groups of HIV-HCV coinfecting patients defined by this threshold (Table 2). All three patients found to have a detectable HIV RNA, had an AUC_{0-4h} below 1755 µg.h/L. With regard to the immune status, 61% of patients had a CD4 level below the retained cutoff of 500/mm³. Interestingly, the AUC_{0-4h} was significantly lower for these patients than for those with CD4 level greater than 500/mm³ with values of 1270 µg.h/L and 1840 µg.h/L respectively (p=0.047). For these 2 sub-groups of coinfecting patients, normalized AUC were 144 and 195 (µg.h/L)/(mg/kg) but the difference did not reach statistical significance. Table 3 summarizes these results.

For the reference group of HCV mono-infected patients, median AUC_{0-4h} and normalized AUC_{0-4h} were 2030 µg.h/L and 271 µg.h/L respectively. In comparison to HIV-HCV coinfecting patients, these two parameters are significantly higher (p=0.018 and 0.001, respectively). Sixty-eight percent of mono-infected patients had an AUC_{0-4h} above the threshold of 1755 µg.h/L vs 39% of HIV-HCV coinfecting patients (p=0.014).

Different factors potentially associated with RBV pharmacokinetics variability were investigated. Except for body weight, BMI, and hemoglobin level, baseline characteristics did not differ between monoinfected and coinfecting patients. Median body weight and BMI were lower in coinfecting patients than in monoinfected ones (69 kg vs 75 kg, $p=0.032$ and 22.1 vs 25.7, $p=0.003$, respectively). Conversely, hemoglobin level was lower in monoinfected patients (median 14.5 g/dl) than in coinfecting patients (15.2 g/dl; $p=0.036$).

Multivariate logistic regression analysis indicates that presence of HIV coinfection (OR=3.76, 95% CI [1.21-11.6]; $p=0.022$) and male gender (OR=4.59, 95% CI [1.15-18.3]; $p=0.031$) are independently associated with ribavirin underexposure (Table 4).

DISCUSSION

Using the AUC_{0-4h} method, our results clearly show a plasma underexposure in HIV-HCV coinfecting patients after a single dose intake of ribavirin in comparison with monoinfected patients. The pharmacokinetics of ribavirin is less documented in HIV-HCV coinfecting patients than in monoinfected ones. The heterogeneity of our cohort of HIV-HCV coinfecting patients was representative of a treated HIV population in a hospital environment (57% with $CD4 > 500$ cells/mm³; 87% with undetectable HIV viral load under HAART; patients mainly under 2 NRTIs + 1 boosted protease inhibitor) (18). The choice of AUC_{0-4h} was made in accordance with the study of Loustaud-Ratti *et al.* for HCV monoinfected patients (16). Indeed, the authors have shown that the abbreviated AUC_{0-4h} was highly correlated to the full AUC_{0-12h} because it described the main inter-individual variability of RBV pharmacokinetic parameters (i.e. absorption and distribution phases). Interestingly in our study, more than 60% of coinfecting patients had an AUC_{0-4h} below the threshold of 1755 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ defined as associated with SVR in HCV monoinfected patients (16). In comparison, only 32% of monoinfected patients of our study had an AUC_{0-4h} below this value. Demographic or biological parameters were collected in order to detect confounding factors that could affect differences in early RBV exposure between both populations. Some differences were found. The first of them was a body weight significantly lower for coinfecting patients. As the initial RBV dose was the same (600 mg) for all patients, irrespectively of this parameter, early exposure was normalized for RBV dose expressed as mg/kg BW. Normalized AUC_{0-4h} remained significantly different between both groups. In addition, hemoglobin level was higher in coinfecting than in monoinfected patients. It is

well known that RBV is highly concentrated in red blood cells (19), but this parameter was not expected to influence AUC_{0-4h} which is determined after a single dose of RBV. Among other parameters known to have an influence on RBV exposure is the renal function, but neither median baseline serum creatinine, nor estimated glomerular filtration rate (GFR) calculated by Cockcroft-Gault equation or MDRD formula, differed significantly between both groups (Table 1). We have determined early RBV exposure regardless of HCV genotype as no difference was observed in the genotype distribution in each of the two populations of this study and because we wanted to evaluate early bioavailability of RBV independently of the subsequent treatment response. In the study by Loustaud-Ratti *et al.*, the population was exclusively constituted of monoinfected HCV genotype 1 patients. This is the main difference with our study in which genotypes 1 to 4 were present but with a majority of genotype 1. Indeed, except for this parameter and for the distribution of fibrosis score, baseline characteristics were similar in both studies. However, 32% of our HCV monoinfected patients had an AUC_{0-4h} below the 1755 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ threshold compared with 58% in this historical study. This difference could be explained by the presence of patients infected by HCV genotype 2, 3 or 4 because only two of these 15 patients had an AUC_{0-4h} below this threshold. Finally, we found a strong gender ratio in favor of male patients in our coinfecting population. In order to estimate if gender could affect RBV exposure, we compared parameters which were statistically different in the whole population. For body weight the significant difference was even more important and as expected, this parameter was lower in coinfecting patients (Table 1). Hence the interest of the AUC normalized to the first RBV dose deletes the weight effect. Conversely, differences in hemoglobin level were no longer significant due to the higher proportion of women in the monoinfected group. In spite of the reduced number of patients, the difference of AUC_{0-4h} or normalized AUC_{0-4h} between monoinfected and coinfecting male patients was statistically significant, and the proportion of AUC under the 1755 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ threshold remained high. No other differences in demographic or biological characteristics have been found between the two populations of this study.

Given that there was a strong gender ratio in favor of male patients and in order to see if gender could affect our results, we compared AUC_{0-4h} between monoinfected and coinfecting male patients. It is noteworthy that 43% of monoinfected and 65% of coinfecting male patients had AUC_{0-4h} below the 1755 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{L}$ threshold, although this difference did not reach statistical significance ($p=0.103$).

Unexpectedly, RBV plasma underexposure seems to be associated with the immunological level of HIV patients. RBV exposure was indeed better if CD4 cell count was greater than 500/mm³. It is well known that HIV infection is characterized by a chronic inflammatory process associated with a poor CD4 immunorestitution under cART (20). This chronic inflammation is linked with bacterial translocation, witness of the gastrointestinal tract damage which could thus affect RBV bioavailability and may explain lower RBV AUC_{0-4h} results. In the RIBAVIC study, using PEG-IFN/RBV therapy in HIV co-infected patients, a trend for a lower SVR was noted in patients with a CD4 cell count under 500 versus patients upper this threshold (21% vs 33%, respectively; p=0.051) (21). Then, in the PRESCO trial, a higher dosing of ribavirin (weight-based dosing with 1000 to 1200 mg) was associated with better SVR rates but higher risk of anemia (22). In the present study, when the immunorestitution under cART was considered complete, i.e. with a CD4 cell count > 500/mm³, RBV exposure was similar in this HIV sub-group in comparison with HCV mono-infection population.

Interestingly, all three patients with detectable HIV RNA had a RBV exposure below the 1755 µg.h/L threshold suggesting a poor adherence of both cART and HCV therapy.

In conclusion, HIV-HCV coinfected patients present a lower RBV exposure which could at least in part explain the lower response rate of these patients to HCV treatment. This hypothesis should be further investigated on a larger number of coinfected patients focusing on the immune status of these patients. In the past, recommendations were to use low dose of RBV in HIV patients in order to avoid toxicity associated with antiretroviral drugs, such as zidovudine, stavudine or didanosine (23, 24). However, these drugs are progressively neglected to the benefit of less cytotoxic new antiretroviral drugs. So, higher doses of RBV can be used to improve SVR in coinfected patients, as suggested in several studies (6, 25). Measurement of early RBV exposure by determination of AUC_{0-4h} possibly followed by RBV dose adjustment could help in optimizing antiviral therapy in HIV-HCV coinfected patients, particularly in the more immunosuppressed ones because RBV underexposure was noted in this specific sub-group.

ACKNOWLEDGMENTS: The authors gratefully thank Laurent Cotte, Philippe Lack, François Jeanblanc, Djamila Makhoulfi, Sylvie Radenne, and Isabelle Schlienger for their contribution in this study.

REFERENCES

1. Sherman KE, Rouster SD, Chung RT and Rajcic N. Hepatitis C Virus prevalence among patients infected with Human Immunodeficiency Virus: a cross-sectional analysis of the US adult AIDS Clinical Trials Group. *Clin Infect Dis*. 2002; 34:831-7.
2. Sulkowski MS, Moore RD, Mehta SH, Chaisson RE and Thomas DL. Hepatitis C and progression of HIV disease. *JAMA*. 2002; 288:199-206.
3. Thomas DL, Vlahov D, Solomon L, et al. Correlates of hepatitis C virus infections among injection drug users. *Medicine (Baltimore)*. 1995; 74:212-20.
4. Rosenthal E, Poiree M, Pradier C, et al. Mortality due to hepatitis C-related liver disease in HIV-infected patients in France (Mortavic 2001 study). *AIDS*. 2003; 17:1803-9.
5. Soriano V, Martin-Carbonero L, Garcia-Samaniego J and Puoti M. Mortality due to chronic viral liver disease among patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 2001; 33:1793-5.
6. Lindahl K, Stahle L, Bruchfeld A and Schvarcz R. High-dose ribavirin in combination with standard dose peginterferon for treatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2005; 41:275-9.
7. Rendon AL, Nunez M, Romero M, et al. Early monitoring of ribavirin plasma concentrations may predict anemia and early virologic response in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2005; 39:401-5.
8. Crespo M, Pou L, Esteban JI, et al. Early monitoring of ribavirin serum concentration is not useful to optimize hepatitis C virus treatment in HIV-coinfected patients. *Antivir Ther*. 2007; 12:1217-23.
9. Jen J, Laughlin M, Chung C, et al. Ribavirin dosing in chronic hepatitis C: application of population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacol Ther*. 2002; 72:349-61.
10. Glue P. The clinical pharmacology of ribavirin. *Semin Liver Dis*. 1999; 19 Suppl 1:17-24.
11. Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D and Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit*. 2000; 22:555-65.
12. Larrat S, Stanke-Labesque F, Plages A, Zarski JP, Bessard G and Souvignet C. Ribavirin quantification in combination treatment of chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47:124-9.
13. Wade JR, Snoeck E, Duff F, Lamb M and Jorga K. Pharmacokinetics of ribavirin in patients with hepatitis C virus. *British journal of clinical pharmacology*. 2006; 62:710-4.

14. Bruchfeld A, Lindahl K, Schvarcz R and Stahle L. Dosage of ribavirin in patients with hepatitis C should be based on renal function: a population pharmacokinetic analysis. *Ther Drug Monit.* 2002; 24:701-8.
15. Dahari H, Markatou M, Zeremski M, et al. Early ribavirin pharmacokinetics, HCV RNA and alanine aminotransferase kinetics in HIV/HCV co-infected patients during treatment with pegylated interferon and ribavirin. *J Hepatol.* 2007; 47:23-30.
16. Loustaud-Ratti V, Alain S, Rousseau A, et al. Ribavirin exposure after the first dose is predictive of sustained virological response in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 2008; 47:1453-61.
17. Sauvage FL, Stanke-Labesque F, Gagnieu MC, Jourdil JF, Babany G and Marquet P. Feasibility of ribavirin therapeutic drug monitoring in hepatitis C. *Ther Drug Monit.* 2009; 31:374-81.
18. Sulkowski MS and Benhamou Y. Therapeutic issues in HIV/HCV-coinfected patients. *J Viral Hepat.* 2007; 14:371-86.
19. Souvignet C, Maynard M, Gagnieu MC and Trepo C. Ribavirin in combination therapy for HCV chronic infection in HIV patients: how to win the war after winning the first battle? *J Hepatol.* 2007; 47:1-3.
20. Klatt NR, Funderburg NT and Brenchley JM. Microbial translocation, immune activation, and HIV disease. *Trends Microbiol.* 2013; 21:6-13.
21. Carrat F, Bani-Sadr F, Pol S, et al. Pegylated interferon alfa-2b vs standard interferon alfa-2b, plus ribavirin, for chronic hepatitis C in HIV-infected patients: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2004; 292:2839-48.
22. Nunez M, Miralles C, Berdun MA, et al. Role of weight-based ribavirin dosing and extended duration of therapy in chronic hepatitis C in HIV-infected patients: the PRESCO trial. *AIDS research and human retroviruses.* 2007; 23:972-82.
23. Lafeuillade A, Hittinger G and Chadapaud S. Increased mitochondrial toxicity with ribavirin in HIV/HCV coinfection. *Lancet.* 2001; 357:280-1.
24. Moreno A, Quereda C, Moreno L, et al. High rate of didanosine-related mitochondrial toxicity in HIV/HCV-coinfected patients receiving ribavirin. *Antivir Ther.* 2004; 9:133-8.
25. Soriano V, Puoti M, Sulkowski M, et al. Care of patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV-HIV International Panel. *AIDS.* 2007; 21:1073-89.

Table 1: Main baseline characteristics of HCV monoinfected and HIV-HCV coinfecting patients (n=86). Bold style indicates statistical significance. Quantitative variables are expressed as median and range

Characteristics	HCV (n=63)	HIV-HCV (n=23)	<i>p value</i>
Gender ratio (M/F)	2.0	6.7	0.063
Age (years)	50 (23-74)	46 (35-60)	0.066
Body weight (kg)	75 (41-130)	69 (52-96)	0.032
<i>Men body weight (kg)</i>	79 (44-130)	69 (52-96)	0.008
Body mass index (BMI)	25.7 (16.4-43.3)	22.1 (17.6-32.8)	0.003
<i>Men body mass index (BMI)</i>	25.8 (18.4-43.3)	22.2 (17.6-32.8)	0.002
Creatinine (µmol/L)	76 (49-189)	82 (45-123)	0.164
Cockroft clearance (mL/min)	105.7 (44-257.7)	90.2 (67.2-202.9)	0.244
MDRD (mL/min)	90.9 (34.2-167.5)	89.5 (58.2-144.7)	0.880
ALT (IU/mL)	62 (20-383)	60.5 (20-1492)	NS
AST (IU/mL)	47 (20-402)	57 (26-969)	NS
HCV RNA (log IU/mL)	6.09 (3.59-6.99)	6.4 (2.81-7.39)	NS
Hemoglobin level (g/dl)	14.5 (8.2-17.2)	15.2 (12.1-18.8)	0.036
<i>Men hemoglobin level (g/dl)</i>	15 (8.3-17.2)	15.2 (12.1-18.8)	NS
HCV genotype n (%)			0.566
1	48 (76)	14 (61)	
2	2 (3)	1 (4)	
3	6 (10)	4 (17)	
4	7 (11)	4 (17)	
Fibrosis score (Metavir) n (%)			0.780
0 – 2	29 (46)	12 (52)	
3 – 4	34 (54)	11 (48)	
HCV treatment status at baseline n (%)			0.434
RBV treatment naive	19 (30)	9 (41)	
Nonresponders	24 (38)	9 (41)	
Relapsers	20 (32)	4 (18)	

Table 2: Particular characteristics of HIV-HCV coinfecting patients according to RBV AUC_{0-4h} threshold (n=23). Quantitative variables are expressed as median and range

	All (n=23)	RBV AUC _{0-4h} <1755 µg.h/L (n=14)	RBV AUC _{0-4h} >1755 µg.h/L (n=9)	<i>p value</i>
HIV RNA copies/ml	50 (20-9850)	50 (20-9850)	50 (40-50)	NS
CD4 (cells/mm ³)	543 (325-1067)	498 (325-993)	543 (368-1067)	NS
CD4%	30 (10-48)	29.5 (10-48)	32 (27-45)	NS
Duration of HIV treatment (years)	11 (1-19)	11 (1-16)	10 (2-19)	NS
Antiretroviral therapy, n (%)				
Protease inhibitor	14 (61)	7 (50)	7 (78)	
NRTI	21 (91)	13 (93)	8 (89)	
NNRTI	8 (35)	6 (43)	2 (22)	
Integrase inhibitor	4 (17)	1 (<1)	3 (33)	
Receptor CCR5 inhibitor	1 (<1)	0	1 (11)	

Table 3: AUC_{0-4h} and normalized AUC_{0-4h} to RBV 600 mg/body weight. Bold style indicates statistical significance.

	HCV (n=63)	HIV-HCV (n=23)	<i>p value</i>	
AUC _{0-4h} (µg.h/L)	2030 (851-7700)	1469 (936-3677)	0.018	
Patients with AUC _{0-4h} <1755 (%)	32	61	0.014	
Men AUC _{0-4h} (µg.h/L)	1875 (850-7700)	1414 (1034-3677)	0.050	
Men with AUC _{0-4h} <1755 (%)	43	65	0.103	
Normalized AUC _{0-4h} (µg.h/L)/(mg/kg)	271 (82-1091)	182 (110-425)	0.001	
Men normalized AUC _{0-4h} (µg.h/L)/(mg/kg)	266 (82-1091)	173 (110-425)	0.004	
		CD4 <500	CD4 ≥500	
AUC _{0-4h}		1270 (936-2792)	1840 (1280-3677)	0.047
Normalized AUC _{0-4h}		144 (110-425)	195 (154-349)	NS

NS, not significant; Quantitative variables are expressed as median and range

Table 4: Univariate and multivariate logistic regression analysis to identify factors potentially associated with ribavirin underexposure (defined by an AUC<1755 µg.h/L). Bold style indicates statistical significance.

	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p
HIV coinfection (yes vs no)	3.34 (1.24-9.01)	0.017	3.76 (1.21-11.6)	0.022
Gender (male vs female)	7.00 (1.89-25.9)	0.004	4.59 (1.15-18.3)	0.031
Weight	1.03 (0.99-1.06)	0.067	1.03 (0.99-1.08)	0.142
Age	0.97 (0.93-1.01)	0.160	-	-
MDRD	1.00 (0.98-1.02)	0.803	-	-
Cockcroft	1.01 (0.99-1.02)	0.145	1.00 (0.98-1.02)	0.927

Annexe 3 : Article soumis à *Antiviral Therapy*

**Increased ribavirin bioavailability associated with telaprevir use in HCV patients treated with
PEG-IFN/ribavirin/telaprevir triple therapy**

SHORT COMMUNICATION

INCREASED RIBAVIRIN BIODISPONIBILITY ASSOCIATED WITH TELAPREVIR USE IN HCV PATIENTS TREATED WITH PEG-IFN/RIBAVIRIN/TELAPREVIR TRIPLE THERAPY

François BAILLY ^{1,2,3}, Pierre PRADAT ^{1,2,3}, Victor VIRLOGEUX ^{1,2,3,4}, Marianne MAYNARD ^{1,2,3}, Mathilde LECLERCQ ¹, Giorgiana HATU ^{1,5}, Majid AMIRI ¹, Fanny LEBOSSÉ ^{1,2}, Patrick MIAILHES ⁶, Fabien ZOULIM ^{1,2,3,7}, Marie-Claude GAGNIEU ⁸

¹ Department of Hepatology, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France

² INSERM U1052, Lyon, France

³ Université Lyon I, France

⁴ Ecole Normale Supérieure, Lyon, France

⁵ Université de Médecine et Pharmacie "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca, Romania

⁶ Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon, France

⁷ Institut Universitaire de France

⁸ Pharmacology, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, France

Running head: Increased ribavirin biodisponibility after telaprevir exposure

Corresponding author:

Marie-Claude Gagnieu

Department of Pharmacology, Edouard Herriot hospital

5 place d'Arsonval, 69437 Lyon cedex 03, France

Phone +33 (0)4 72 11 06 34 – Fax +33 (0)4 72 11 05 97

Email: marie-claude.gagnieu@chu-lyon.fr

ABSTRACT

Background: In patients with hepatitis C virus (HCV) infection, anemia is a commonly observed side effect of ribavirin (RBV)-based therapy often resulting in dose reduction and/or treatment withdrawal. The objective of this study was to measure the impact of telaprevir on RBV biodisponibility and to assess concomitant renal function.

Methods: 55 HCV patients (among whom 33% of cirrhotics) non-responders to a previous course of PEG-IFN/RBV therapy and re-treated by triple therapy combining PEG-IFN/RBV and telaprevir were analyzed. RBV biodisponibility was measured before triple therapy initiation (during previous treatment), during the early phase (W4 \pm 2 weeks), the later phase (W8 \pm 2 weeks), and after telaprevir cessation (post W16). Renal function was assessed by estimating the glomerular filtration rate (eGFR).

Results: Four weeks after triple therapy initiation, RBV biodisponibility was significantly increased (median increase 0.07 mg/l/poso/kg; $p < 0.001$). In parallel, renal function was impaired with a mean eGFR decrease of -9.4 mL/min/1.73 m² ($p = 0.021$). Between W4 and W8, RBV biodisponibility continued to increase ($p = 0.001$) and decreased significantly at telaprevir discontinuation ($p = 0.016$) with a concomitant restoration of renal function (eGFR increase of 11.16 mL/min/1.73 m²; $p = 0.007$).

Conclusion: Our results indicate a reversible increase of RBV biodisponibility after telaprevir exposure which might be linked to the impairment of the GFR. This also suggests a RBV-telaprevir pharmacological interaction, a possible source of severe anemia observed under triple therapy. These results suggest that RBV pharmacological monitoring may be clinically relevant especially in the context of Direct-Acting Antiviral (DAA)-based therapy.

INTRODUCTION

Triple therapy combining pegylated interferon (PEG-IFN), ribavirin (RBV) and protease inhibitors (boceprevir or telaprevir) has become the new standard of care for treatment of hepatitis C virus (HCV) infection [1-4].

Anemia is a commonly observed side effect of RBV-based therapy often resulting in dose reduction and hereby in possible decrease of antiviral efficacy. It is now well documented that RBV daily dose, even adjusted for body weight is poorly correlated with RBV plasma concentration [5] due to a large inter-individual variability in exposure [6-8]. Previous studies indicate that anemia is about twice more frequent in patients receiving telaprevir with PEG-IFN/RBV than in those receiving PEG-IFN/RBV alone [9]. The objective of this study was to determine if telaprevir-based therapy resulted in increased RBV plasma exposure which could explain the increased incidence of anemia. In parallel, we studied the impact of telaprevir on renal function.

METHODS

Patients

HCV patients non-responders to a previous course of PEG-IFN/RBV therapy and re-treated by triple therapy combining PEG-IFN/RBV and telaprevir were prospectively recruited from the Departement of Hepatology, Croix-Rousse Hospital, Lyon, France. Patients were selected if they had consecutive assessment of RBV plasma concentration (prescribed at the clinician's discretion). Baseline was considered as the date of triple therapy initiation.

Assessment of RBV plasma concentration

RBV plasma concentrations were measured using a validated High-Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector method [10]. This method is highly specific, sensible (limit of quantification = 0.05 mg/L), and precise (total imprecision, calculated by measuring the coefficient of variation of the internal quality control values was less than 10% for concentrations from 0.20 to 5.00 mg/L). RBV plasma concentration was measured before telaprevir initiation during the previous

course of PEG-IFN/RBV combination therapy (T_{-1}), during (if possible at weeks 4 ± 2 (W4) and 8 ± 2 (W8) and after telaprevir treatment (at least 4 weeks after telaprevir withdrawal (W16)).

RBV bioavailability was calculated as the ratio concentration/posology/body weight.

Renal function assessment

The commonly used modification of the diet in renal disease (MDRD) study equation was used to estimate the glomerular filtration rate (eGFR) as follows:

In males: $186 \times (\text{creatinine} \times 0.0113)^{-1.154} \times \text{age}^{-0.203}$

If the patient was of African origin or female, multiplicative factors of 1.21 and 0.742 were applied, respectively. Renal insufficiency was defined as an $\text{eGFR} < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$.

Statistical analysis

Nominal and categorical parameters were expressed as absolute numbers and percentages. Mean and standard deviation (\pm SD) were calculated for normally distributed variables, and median and interquartile ranges (IQR) for skewed variables.

Non-parametric test for paired data (Wilcoxon test) was used to analyze variations of RBV bioavailability and eGFR before, during and after triple therapy.

Ethical consideration

All patients included in this study gave their written informed consent to allow the use of their personal clinical data in accordance with ethics regulation defined in France by the CNIL (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés).

RESULTS

Data on 55 consecutive HCV patients initiating triple therapy were analyzed. Patients' characteristics are presented in Table 1. Male gender was predominant (74.5%) and mean age was 54.8 years (\pm 14.7). Thirty-three percent of patients were cirrhotics among whom 18% had some sign of

decompensation. Four patients (7.3%) had renal insufficiency defined as $30 < \text{eGFR} < 60 \text{ mL/min/1.73m}^2$. One patient with severe renal insufficiency ($\text{eGFR} < 30 \text{ mL/min/1.73m}^2$) was previously excluded from the analysis.

A significant increase of ribavirin biodisponibility was observed between T_{-1} and W4 ($0.07 \pm 0.12 \text{ mg/l/poso/kg}$, $p < 0.001$; $N=37$). This increase was even stronger between T_{-1} and W8 ($0.21 \pm 0.21 \text{ mg/l/poso/kg}$, $p < 0.001$; $N=21$). A significant increase was also observed during telaprevir treatment ($0.08 \pm 0.16 \text{ mg/l/poso/kg}$, $p=0.001$; $N=21$).

A significant decrease of ribavirin biodisponibility was observed between W8 and W16 ($-0.12 \pm 0.19 \text{ mg/l/poso/kg}$, $p=0.016$; $N=19$).

Nineteen patients had measures of ribavirin biodisponibility before, during and after triple therapy. In this subgroup of patients, similar results were observed with an increase after telaprevir initiation (between T_{-1} and W4; $p=0.008$) and between W4 and W8 ($p=0.001$). A decrease of biodisponibility was also observed after telaprevir cessation (between W8 and W16; $p=0.016$; Figure 1).

Fifteen patients had a RBV dose reduction between W4 and W8. Fourteen of them still increased their RBV biodisponibility despite a reduced plasma concentration in six of them.

None of the following factors were predictive of the variations of ribavirin biodisponibility: gender ($p=0.664$), IL28B ($p=0.934$), cirrhosis vs non cirrhosis ($p=0.267$), fibrosis stage ($p=0.529$), HCV genotype 1a vs 1b ($p=0.682$), age ($p=0.619$), and BMI ($p=0.327$). eGFR at baseline was not either associated with RBV biodisponibility ($p=0.321$).

In parallel to these variations, eGFR was evaluated. A significant decrease of eGFR was observed between T_{-1} and W4 ($-9.4 \pm 24.4 \text{ mL/min/1.73m}^2$, $p=0.021$, $N=37$) and a significant increase after telaprevir cessation ($11.2 \pm 19.6 \text{ mL/min/1.73m}^2$, $p=0.007$; Figure 1).

Anaemia was also assessed during the different phases of therapy. A significant decrease of haemoglobin level was observed between T_{-1} and W4 ($12.4 \pm 22.9 \text{ g/dL}$, $p=0.004$). However no significant variations were observed between W4 and W8 and between W8 and W16.

DISCUSSION

The assessment of RBV bioavailability measures the actual exposure to RBV whereas the trough plasma concentration varies with dosing. Our results show that during triple therapy, ribavirin bioavailability is significantly increased after the introduction of telaprevir whatever variations of ribavirin doses. This increase is progressive during all the exposure with telaprevir. After the stop of the protease inhibitor, 4 weeks are necessary to observe a significant decrease of ribavirin bioavailability. In parallel to these variations, eGFR seems also to be impaired by telaprevir. Surprisingly in this study, cirrhosis was not associated with a higher ribavirin bioavailability, possibly due to the limited sample size. Telaprevir was already known to play a role in the inhibition of renal drug transporter in *in vitro* system [11]. Drug and cation transporters such as the organic cation transporter 2 (OCT2) and the multidrug and toxin extrusion (MATE)-type transporter 1 (MATE1) [12] seem indeed to be inhibited by telaprevir exposure in HEK293 cell lines that over-express single transporter. This type of mechanism could explain the eGFR decrease in patients treated by telaprevir. These two variations of biological parameters are associated with a significant decrease of haemoglobin levels: anaemia is indeed a well-known side effect of ribavirin exposure. Borroni et al. recently showed that low GFR was a risk factor for ribavirin-associated anaemia [13]. Molecular mechanisms of ribavirin are also well-known to be associated with anaemia [14]. Renal dysfunction due to protease inhibitor could possibly increase ribavirin bioavailability hereby inducing anaemia.

Although conducted on a limited number of patients, our study clearly shows a reversible increase of RBV bioavailability after telaprevir exposure which might be linked to the impairment of the eGFR. This also suggests a RBV-telaprevir pharmacological interaction, a possible source of severe anemia observed under triple therapy. The persistence of a high RBV bioavailability despite RBV dose reductions recommended for severe anemia could explain why these dose reductions do not impact the virological response. These results suggest that RBV pharmacological monitoring may be clinically relevant especially in the context of Direct-Acting Antiviral (DAA)-based therapy.

REFERENCES

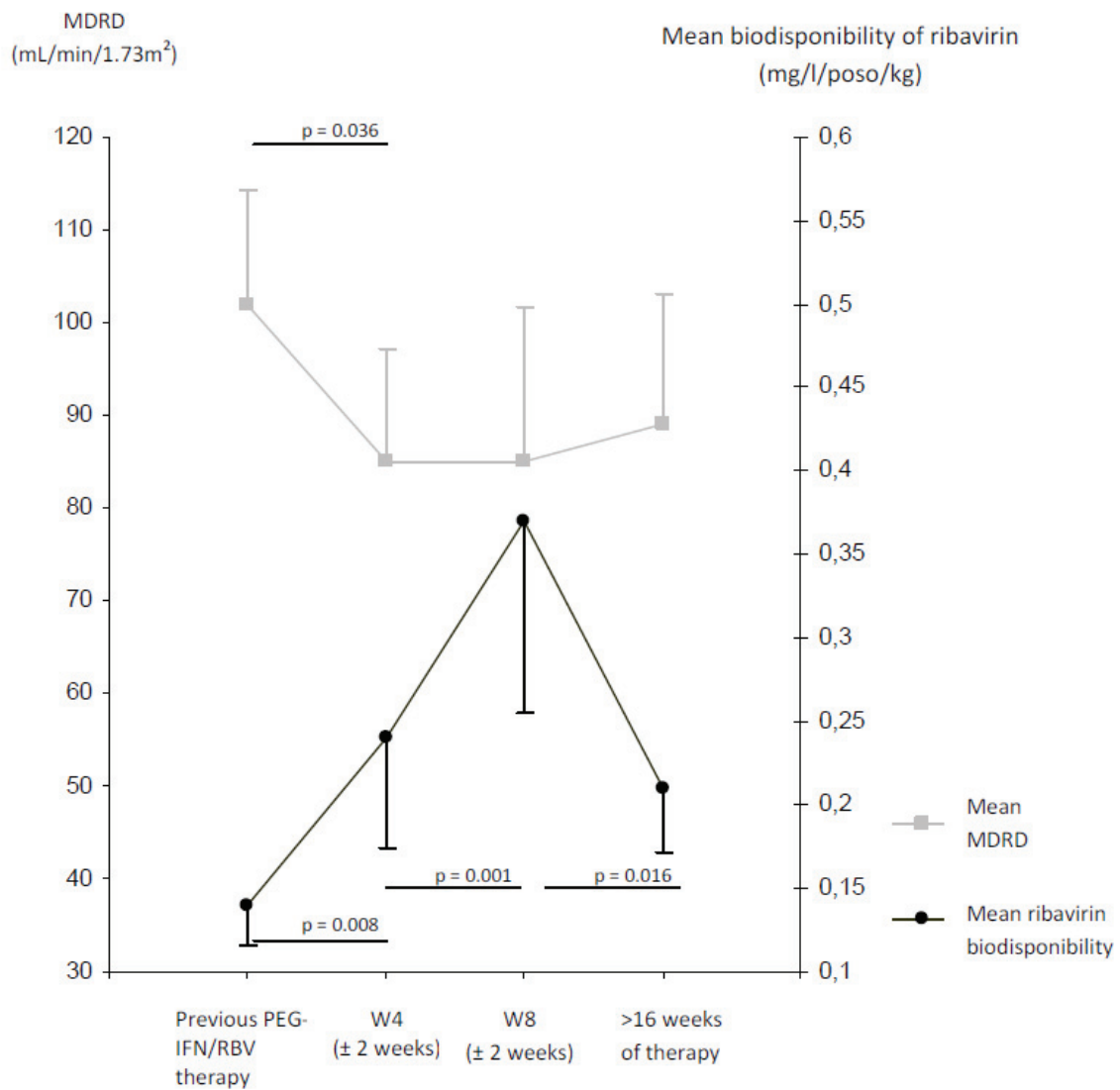
1. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, *et al.* Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; **364**:1207-1217.
2. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, *et al.* Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; **364**:2405-2416.
3. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR, *et al.* Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; **364**:1195-1206.
4. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, *et al.* Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011; **364**:2417-2428.
5. Jen J, Laughlin M, Chung C, *et al.* Ribavirin dosing in chronic hepatitis C: application of population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacol Ther* 2002; **72**:349-361.
6. Glue P. The clinical pharmacology of ribavirin. *Semin Liver Dis* 1999; **19 Suppl 1**:17-24.
7. Jen JF, Glue P, Gupta S, Zambas D, Hajian G. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Ther Drug Monit* 2000; **22**:555-565.
8. Larrat S, Stanke-Labesque F, Plages A, Zarski JP, Bessard G, Souvignet C. Ribavirin quantification in combination treatment of chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**:124-129.
9. Sitole M, Silva M, Spooner L, Comee MK, Malloy M. Telaprevir Versus Boceprevir in Chronic Hepatitis C: A Meta-Analysis of Data From Phase II and III Trials. *Clin Ther* 2013; **35**:190-197.
10. Sauvage FL, Stanke-Labesque F, Gagnieu MC, Jourdil JF, Babany G, Marquet P. Feasibility of ribavirin therapeutic drug monitoring in hepatitis C. *Ther Drug Monit* 2009; **31**:374-381.
11. Kunze A, Huwyler J, Camenisch G, Gutmann H. Interaction of the antiviral drug telaprevir with renal and hepatic drug transporters. *Biochem Pharmacol* 2012; **84**:1096-1102.
12. Meyer zu Schwabedissen HE, Verstuyft C, Kroemer HK, Becquemont L, Kim RB. Human multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1/SLC47A1) transporter: functional characterization, interaction with OCT2 (SLC22A2), and single nucleotide polymorphisms. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; **298**:F997-F1005.
13. Borroni G, Cazzaniga M, Andreoletti M, *et al.* Low glomerular filtration rate is a risk factor for ribavirin-associated anaemia in old patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2013; **20**:e90-95.
14. Russmann S, Grattagliano I, Portincasa P, Palmieri VO, Palasciano G. Ribavirin-induced anemia: mechanisms, risk factors and related targets for future research. *Curr Med Chem* 2006; **13**:3351-3357.

Table 1: Patients' characteristics at baseline (N=55)

Characteristics	
Male gender – n(%) N=55	41 (74.5%)
HCV genotype – n(%) N=48	
1	11 (22.9%)
1a	15 (31.3%)
1b	17 (35.4%)
2	2 (4.2%)
4	3 (6.2%)
Genotype IL-28B – n(%) N=28	
C/C	5 (17.8%)
T/C	17 (60.7%)
T/T	6 (21.5%)
Presence of diabetes – n(%) N=55	5 (9.1%)
Presence of renal insufficiency – n(%) N=55	4 (7.3%)
Fibrosis stage – n(%) N=51	
F0/F1	16 (31.4)
F2	5 (9.8)
F3	13 (25.5)
F4	17 (33.3)
BMI – mean \pm SD (N=35)	24.3 \pm 3.2
Age – mean \pm SD (N= 55)	54.8 \pm 14.7

Figure legend

Figure 1: Mean ribavirin bioavailability and estimated glomerular filtration rate assessed by MDRD before, during and after telaprevir exposure in HCV patients treated by IFN-PEG/ribavirin/telaprevir combination.



Annexe 4 : Article finalisé et prochainement soumis

Role of week 2/week 6 virological assessment during telaprevir/boceprevir-based triple therapy in chronic hepatitis C patients

ROLE OF WEEK 2/WEEK 6 VIROLOGICAL ASSESSMENT DURING TELAPREVIR/BOCEPREVIR-BASED
TRIPLE THERAPY IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS

INTRODUCTION

About 130-170 million people are chronically infected with the hepatitis C virus (HCV) worldwide [1], with 9 million infected in the United States and Western Europe [2,3]. During the past decade, the standard of care for HCV treatment was a combination of pegylated interferon (PEG-IFN) plus ribavirin (RBV) allowing a sustained virological response (SVR) rate of about 50% in patients with HCV genotype 1 [4,5]. Response to therapy varied according to genotype with genotype 1 and 4 patients achieving lower SVR rates than patients infected with genotype 2 or 3 (40-50% vs >80%, respectively) [5,6]. Thus the low SVR rate in genotype 1 and the poor response rates observed in special populations such as black patients and cirrhotics [7,8] have driven the development of novel antiviral therapies and the combination of boceprevir or telaprevir – two protease inhibitors (PI) of NS3/NS4A proteins of HCV – with PEG-IFN/RBV has become the new standard of care since the end of 2011 [9,10]. In boceprevir-based triple therapy, results from phase III clinical trials reported 60% of SVR for naïve patients [SPRINT-2 study, [11]] and 63% for relapsers and previous partial non-responders [RESPOND-2 study [12]]. For telaprevir, SVR was reached in 75% of naïve-patients [ADVANCE [13] and ILLUMINATE [14] studies] and 83% of previous relapsers, 59% of partial non-responders and 29% of previous non-responders (REALIZE) [15].

Many studies in the literature including observational studies, clinical trials and meta-analyses, have conclusively shown that a rapid virological response (RVR) defined as an undetectable HCV RNA at week 4 of PEG-IFN/RBV combination therapy was a highly relevant predictor of SVR in genotype 1 patients [16]. In boceprevir-treated patients, a $>1 \log_{10}$ decrease of HCV RNA at week 4 (end of lead-in-phase) is highly predictive of SVR. In SPRINT-2 and RESPOND-2 studies, 88% and 86% of patients with undetectable HCV RNA at week 8 (week 4 of boceprevir) subsequently achieved SVR [11,17]. For triple therapy, the notion of an extended rapid virological response (eRVR), defined as undetectable HCV-RNA at week 8 maintained until week 24 for boceprevir, and as undetectable HCV-RNA at week 4 maintained until week 12 for telaprevir has been introduced. In telaprevir-treated patients, the REALIZE study conducted in patients previously non-responders to PEG-IFN/ribavirin combination therapy, reported that the eRVR was the highest predictive factor of SVR [15,18]. Similarly, in the French CUPIC cohort, the virological response at week 4 for telaprevir-treated patients and week 8 for boceprevir-treated patients, was associated with SVR [19]. In a recently published paper, we showed that the positive predictive value (PPV) of eRVR was 87% for telaprevir and 56% for boceprevir [20].

Measurement of HCV RNA level at an earlier stage (week 2) could be relevant to prevent emergence of resistance mutations and to potentially adapt therapeutic strategies. In this study, we assessed whether the viral load at week 2/week 6 for telaprevir/boceprevir-treated patients, respectively, was a good predictor of SVR.

MATERIAL AND METHODS

Patients

The ANRS CO20-CUPIC cohort (ClinicalTrials.gov number NCT01514890) is a national multicenter prospective cohort study conducted in 56 French centres. From February 2011 to April 2012, patients with compensated cirrhosis (Child-Pugh class A) chronically infected with HCV genotype 1, who did not achieve SVR after a prior course of IFN-based therapy and who started triple therapy, were recruited. Initially, only relapsers and partial responders were eligible in the French early access programme. Since the approval of both PIs, the inclusion criteria were amended in September 2011 allowing the inclusion of null responders.

In the present study, only patients with viral load assessment at week 2 for telaprevir or week 6 for boceprevir were kept for the analysis. Patients with HIV or HBV co-infection, renal insufficiency (defined by creatinine clearance <50 ml/min) or organ graft were not eligible for inclusion. More details on patients' inclusion in the CUPIC cohort were given previously [19].

Written informed consent was obtained from each patient before enrolment. The protocol was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and French law for biomedical research and was approved by the "Ile de France IX" Ethics Committee (Créteil, France).

HCV-RNA level monitoring

HCV-RNA levels were measured at baseline and at weeks 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, and 48 of therapy, and 12 weeks after its withdrawal, with a real-time PCR based assay, either COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan (Roche Molecular Systems, Pleasanton, California) with a lower limit of detection of 15 IU/ml, or m2000SP/m2000RT (Abbott Molecular, Des Moines, Illinois), with a lower limit of detection of 12 IU/ml. Both assays have been validated for their accuracy in patients infected with HCV genotype 1 [21,22].

Treatments

Treatment was prescribed at the discretion of each investigator without randomization, which precludes any comparison between the two treatment regimens.

Statistical analyses

Quantitative variables were presented as the mean \pm standard deviation. Categorical variables were studied using the two-sided chi-square test whereas quantitative variables were analyzed using t-test. Statistical analysis was performed using SPSS v.19.0 for Windows. (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). All statistical tests were two-sided and a p-value <0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Data on 310 patients from the ANRS CO20-CUPIC initiating triple therapy with boceprevir or telaprevir combined with PEG-IFN/ribavirin were analyzed. Patients' characteristics are presented in Table 1. Male gender was predominant in both groups of patients (72.1% for boceprevir and 70.7% for telaprevir) and mean age was 60.1 years (± 9.3) and 59.0 years (± 10.5) for boceprevir and telaprevir respectively. HCV genotype 1b was more predominant than 1a in both groups of patients (64.0% and 62.9% respectively). Previous treatment status was similar in both groups with about 18% of null-responders, 41% of partial non-responders and 36-39% of relapsers.

Predictive factors of virological response

The SVR12 rate was 53% for telaprevir and 45% for boceprevir. Twenty-eight percent of telaprevir-treated patients had undetectable viral load at week 2 of whom 81% achieved SVR12 (positive predictive value). For boceprevir-treated patients 20% had undetectable viral load at week 6 and 86% of them achieved SVR12. On the other hand, 55% of patients with a detectable viral load at week 2 and 63% of patients with a detectable viral load at week 6 had no SVR12 (negative predictive values). For telaprevir-treated patients, predictive factors of undetectability at week 2 were low initial viral load ($p<0.001$) and previous treatment response with 19% of undetectability among NR patients,

20% among partial NR and 41% among relapsers ($p=0.012$). For boceprevir-treated patients, the only predictive factor of undetectability at week 6 was previous treatment response with 7% of undetectability among NR patients, 13% among partial NR and 35% among relapsers ($p=0.047$).

Percentage of viral load decrease between treatment initiation (D0) and week 2/week 6 was calculated. Using a ROC curve analysis, cut-off values which best predicted SVR were then determined. For telaprevir, a 70% decrease of viral load between D0 and week 2 gave the best ratio sensitivity/specificity (AUC=0.612; $p=0.037$; Se=53%, Spe=58%) and for boceprevir, a 50% decrease between D0 and week 6 gave the best ratio sensitivity/specificity (AUC=0.759; $p<0.001$; Se=86%, Spe=58%). Three patient profiles were defined according to their viral load decrease at week 2 or week 6, respectively: patients with a decrease of less than 50% (or 70%), patients with a decrease of more than 50% (or 70%), and patients with undetectable viral load at week 2 (or week 6 for boceprevir). Among telaprevir-treated patients, 60% of those with undetectable viral load at week 2 achieved SVR12 (PPV) whereas 63% of patients with a detectable viral load at week 2 did not achieve SVR12 (NPV). For boceprevir-treated patients, PPV and NPV were 56% and 87%, respectively.

A decision tree using SVR 12 as dependant variable was performed including the three patient profiles for each PI, previous treatment response and eRVR (only for telaprevir-treated patients). For telaprevir-treated patients the mostly associated variable was the initial viral load decrease followed by previous treatment response and eRVR. For boceprevir-treated patients, previous treatment response was the most important variable followed by the decrease of viral load between D0 and week 6.

Among telaprevir-treated patients with detectable viral load at week 2, previous treatment response plays a major role with only 7% of SVR12 among null-responders. Similar results are observed for boceprevir-treated patients with 11% of SVR12 among previously null-responders.

Early detection of viral resistance

Among telaprevir-treated patients, 5 had an increase of their viral load between week 2 and week 4 after a decrease of their initial viral load between D0 and week 2. Four of them did not achieve SVR12 despite a global decrease of their initial viral load between D0 and week 4. Similarly, 6 boceprevir-treated patients had an increase of their viral load between week 6 and week 8 after a

decrease of their initial viral load between D0 and week 6. Five of them did not reach SVR12 despite a global decrease of their initial viral load between D0 and week 8.

DISCUSSION

This sub-analysis of the ANRS CO20-CUPIC cohort focused on the role of the assessment of HCV RNA level two weeks after the introduction of a protease inhibitor with or without a lead-in phase of PEG-IFN/Ribavirin. During PEG-IFN/ribavirin double therapy, early HCV RNA undetectability at week 4 was associated with a high positive predictive value of SVR whereas patients with detectable HCV RNA level at week 4 had a low probability of achieving SVR. This early undetectability of HCV RNA was a more significant predictive value of SVR than IL-28B genotype. With the recent use of more effective DAA, the undetectability of HCV RNA appears earlier during therapy and most patients have undetectable viral load at week 4 of triple therapy (68% of naïve patients for telaprevir and 57% of naïve patients for boceprevir). Among these patients more than 80% achieve SVR [11,13]. Among treatment-experienced patients the proportion of HCV RNA undetectability at week 4 is lower but this undetectability is still a significant predictive factor of SVR. This fast virologic response led us to evaluate the role of viral load assessment at week 2 of triple therapy in order to identify a potential earlier predictive factor of SVR. The positive predictive values of SVR associated with the undetectability at week 2 were really high (81% and 87% for telaprevir and boceprevir, respectively) but were quite similar to those at week 4 of triple therapy. Conversely, the negative predictive value was really low (55% and 63%). Viral load assessment at week 2 can thus hardly be used to early detect a non-response to triple therapy and to stop therapy in these patients (45% and 37% of patients treated with telaprevir and boceprevir, respectively and with detectable HCV RNA at week 2 still achieved SVR12).

Using a ROC curve analysis, we determined the threshold of HCV RNA decrease between D0 and week 2 that could predict SVR12. However the prognostic value of these thresholds is not high enough and cannot be used as treatment guideline.

A decision tree indicates that among cirrhotic non-responder patients, only 7% of those treated with telaprevir and with detectable viral load at week 2 achieved SVR despite a decrease of initial viral load >70% between D0 and week 2. This result is similar to those observed in the REALIZE study where only 14% of cirrhotic non-responder patients achieved SVR after telaprevir-based triple

therapy. Cessation of triple therapy could thus be considered in such patients. Since this study was conducted on a group of cirrhotic non-responder patients (difficult-to-treat and with characteristics which may impact the initial viral load decrease), our results are not representative of the overall HCV population. Unfortunately, data on IL-28B genotype was not available in this study. Nevertheless, the impact of IL-28B genotype on treatment response seems less important during triple therapy more particularly for telaprevir [18].

The second potential role of HCV RNA assessment at week 2/week 6 of therapy is to early detect potential viral breakthrough. During phase I and phase II clinical trials, an increase of HCV RNA level has been observed just after a quick initial decrease of HCV RNA during the first week of triple therapy and this increase could be due to the emergence of a new viral strain with PI resistance mutation. Under the pressure of the DAA, this resistant viral population will increase rapidly and become the major viral population. At the end of therapy, the new viral strain with resistance mutation will become progressively undetectable but can survive until 2 years after the end of treatment. It is currently recommended to stop treatment as soon as possible after the emergence of a viral resistance strain. In our study 11 patients had an early viral breakthrough characterized by a decrease of HCV RNA level during the first 2 weeks of triple therapy followed by an increase of HCV RNA level between week 2 and week 4. Nine of these patients did not achieve SVR. Since sequencing was not performed in our study, we cannot affirm that this observation results from the emergence of a resistant strain. The fact that 2 patients finally achieved SVR suggests that treatment compliance was not optimal. If the viral load was not assessed at week 2, this viral breakthrough would not have been detected until week 8 of triple therapy, with as a result, long-term virological, clinical and psychological consequences for the patients. Even if these situations are rather uncommon, the potential consequences justify the viral load assessment at week 2/week 6.

In conclusion, the assessment of HCV RNA level two weeks after the introduction of a PI in cirrhotic non-responder patients is a predictive factor of SVR. However, except in specific subgroups of patients such as previous null-responders, early cessation of therapy can hardly rely on this criterion only. Moreover HCV RNA assessment at week 2 may be useful to detect early viral breakthrough. In such cases, treatment can be withdrawn earlier to prevent the growth of the new viral resistant population. Further studies among naïve patients without cirrhosis and including IL-28B genotype could help to optimize these on-treatment algorithms.

REFERENCES

1. Lavanchy D. The global burden of hepatitis C. *Liver Int*, 29 Suppl 1, 74-81 (2009).
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med*, 144(10), 705-714 (2006).
3. Trepo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol*, 31 Suppl 1, 80-83 (1999).
4. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR *et al*. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 347(13), 975-982 (2002).
5. 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*, 358(9286), 958-965 (2001).
6. Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M *et al*. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol*, 40(6), 993-999 (2004).
7. Aghemo A, Rumi MG, Monico S *et al*. The pattern of pegylated interferon-alpha2b and ribavirin treatment failure in cirrhotic patients depends on hepatitis C virus genotype. *Antivir Ther*, 14(4), 577-584 (2009).
8. Pijak MR, Gazdik F, Hrusovsky S. Peginterferon alfa-2a (40 kd) and ribavirin for black American patients with chronic HCV genotype 1. *Hepatology*, 40(3), 760-761; author reply 761 (2004).
9. Farnik H, Zeuzem S. New antiviral therapies in the management of HCV infection. *Antivir Ther*, 17(5), 771-783 (2012).
10. Pearlman BL. Protease inhibitors for the treatment of chronic hepatitis C genotype-1 infection: the new standard of care. *The Lancet infectious diseases*, 12(9), 717-728 (2012).
11. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR *et al*. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*, 364(13), 1195-1206 (2011).
12. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E *et al*. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*, 364(13), 1207-1217 (2011).
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G *et al*. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 364(25), 2405-2416 (2011).

14. Sherman KE, Flamm SL, Afdhal NH *et al.* Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 365(11), 1014-1024 (2011).
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S *et al.* Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*, 364(25), 2417-2428 (2011).
16. Martinot-Peignoux M, Maylin S, Moucari R *et al.* Virological response at 4 weeks to predict outcome of hepatitis C treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther*, 14(4), 501-511 (2009).
17. Poordad F, Bronowicki JP, Gordon SC *et al.* Factors that predict response of patients with hepatitis C virus infection to boceprevir. *Gastroenterology*, 143(3), 608-618 e601-605 (2012).
18. Pol S, Aerssens J, Zeuzem S *et al.* Limited impact of IL28B genotype on response rates in telaprevir-treated patients with prior treatment failure. *J Hepatol*, 58(5), 883-889 (2013).
19. Hezode C, Fontaine H, Dorival C *et al.* Triple therapy in treatment-experienced patients with HCV-cirrhosis in a multicentre cohort of the French Early Access Programme (ANRS CO20-CUPIC) - NCT01514890. *J Hepatol*, 59(3), 434-441 (2013).
20. Virlogeux V, Pradat P, Bailly F *et al.* Boceprevir and telaprevir based triple therapy for chronic hepatitis C: virological efficacy and impact on kidney function and MELD score. *J Viral Hepat (In Press)*, (2013).
21. Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, Pawlotsky JM. Overestimation and underestimation of hepatitis C virus RNA levels in a widely used real-time polymerase chain reaction-based method. *Hepatology*, 46(1), 22-31 (2007).
22. Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Pawlotsky JM. Performance of the Abbott real-time PCR assay using m2000sp and m2000rt for hepatitis C virus RNA quantification. *J Clin Microbiol*, 47(6), 1726-1732 (2009).

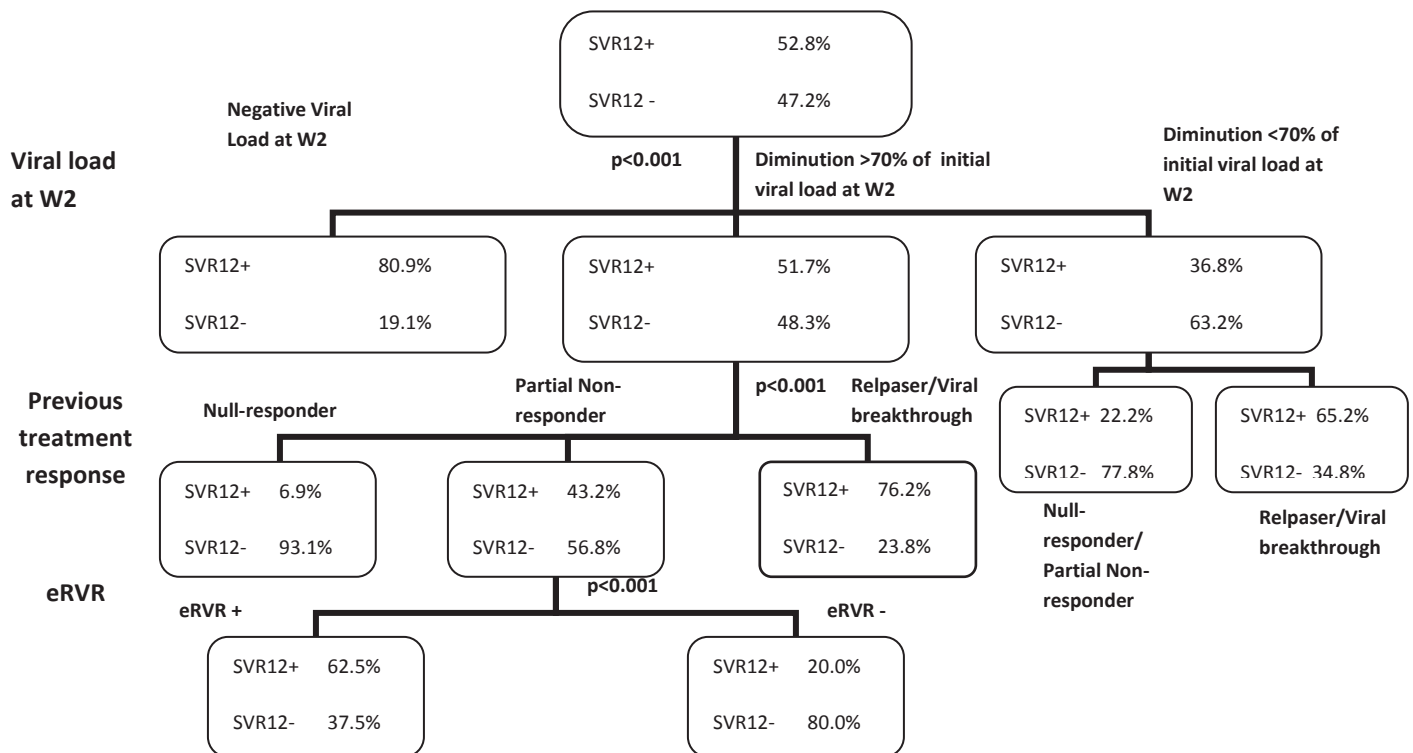
Table 1: Patients' characteristics at triple therapy initiation

Characteristics – (N=310)	Boceprevir (N=122)	Telaprevir (N=188)
Male gender – n (%)	88 (72.1)	133 (70.7)
Age, mean ± SD	60.1 ± 9.3	59.0 ± 10.5
BMI, mean ± SD	26.2 ± 4.0	26.6 ± 4.2
HCV genotype– n (%)		
1a	40 (36.0)	62 (37.1)
1b	71 (64.0)	105 (62.9)
Previous treatment response – n (%)		
Null response	21 (18.6)	32 (17.7)
Partial non-responder	46 (40.7)	74 (40.9)
Relapser	41 (36.3)	71 (39.2)
Viral breakthrough	5 (4.4)	4 (2.2)

Figure legend

Figure 1. Decision tree defined by state variable SVR12 in ITT analysis. Panel (A) Decision tree for telaprevir-treated patients and panel (B) decision tree for boceprevir-treated patients. A branch is added only if the p-value is under the limit of significance ($p < 0.05$) and the different branches appear in the order of importance of their role in the prediction of SVR12.

A.



B.

