

## Nove terapije u liječenju kronične hepatitis C-infekcije

### *Novel Therapies in the Treatment of Chronic Hepatitis C Infection*

Davor Radić, Marina Premužić, Ivana Knežević Štromar, Rajko Ostojić

Zavod za gastroenterologiju i hepatologiju

Klinika za unutarnje bolesti

KBC Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

10000 Zagreb, Kišpatičeva 12

**Sažetak** Posljednjih je 15 godina standardna terapija u liječenju kroničnog hepatitisa C kombinirana terapija pegiliranim interferonom (PEG-INF) i ribavirinom (RBV) u trajanju od 24 do 48 tjedana, ovisno o genotipu HCV-a. Standardna terapija rezultirala je održivim virološkim odgovorom (engl. sustained virological response, SVR) od 75 do 85% u pacijenata s genotipom 2 i 3, ali samo od 40 do 50% u pacijenata s genotipom 1. Trenutačno postoji brz i kontinuiran razvoj brojnih novih lijekova protiv hepatitis C-virusa (HCV), koji su u žarištu ovog pregleda. Boceprevir i telaprevir, dva inhibitora NS3/4A-proteaze prve generacije, unaprijedili su liječenje HCV-a. Nedavno su registrirani u nekoliko zemalja diljem svijeta u kombinaciji s PEG-INF-om i RBV-om za liječenje bolesnika s genotipom 1. Trojna terapija s boceprevirom ili telaprevirom u usporedbi s kombinacijom PEG-INF/RBV poboljšava SVR za 25-31% u prethodno neliječenih bolesnika s genotipom 1, za 40-64% u bolesnika koji su nakon prethodne terapije imali povrat infekcije ("relapser"), za 33-45% u bolesnika koji su tijekom prethodne terapije imali djelomičan odgovor ("partial responders") i za 34-38% kod bolesnika koji na prethodnu terapiju nisu imali odgovor ("null-responder"). U isto vrijeme primjena individualiziranog liječenja, odnosno liječenja ovisnog o virološkom odgovoru (engl. response-guided therapy, RGT), dovodi do skraćivanja trajanja ukupnog liječenja na samo 24 tjedna u 45-55% prethodno neliječenih bolesnika. Postoji međutim nekoliko izazova u korištenju nove trojne kombinacije u bolesnika s genotipom 1, kao što je potreba za brzim rezultatima HCV RNA-testiranja s pomoću osjetljivih kvantitativnih testova, nove i češće nuspojave (anemija i disgeuzija za boceprevir; pruritus, osip i anemija za telaprevir), nove interakcije lijekova i teškoće u suradljivosti bolesnika. Štoviše, učestalost SVR-a još je niska u teško izlječivih podgrupa s genotipom 1, kao null-responderi s cirozom, a od nove terapije nemaju nikakve koristi bolesnici koji ne toleriraju PEG-INF/RBV ili koji nisu zaraženi genotipom 1. Trenutačno se u liječenju infekcije HCV-om procjenjuje učinkovitost mnogih novih anti-HCV-lijekova, različitih klasa i kombinacija, a rezultati ohrabruju. U nadolazećim godinama očekuju nas novi antivirusni lijekovi s direktnim djelovanjem (engl. direct-acting agent, DAA) s pojednostavnjenim doziranjem i/ili minimalnom toksičnošću, koji će u kombinaciji s drugim lijekovima dovesti do eradikacije virusa u gotovo većine bolesnika s kroničnom infekcijom HCV-om. Novi će agensi omogućiti protokole bez interferona.

**Ključne riječi:** hepatitis C, individualizirano liječenje, HCV-genotip, novi antivirusni lijekovi

**Summary** Over the last 15 years, the standard therapy for the treatment of chronic hepatitis C (HCV) has been the combination of pegylated-interferon-alfa (PEG-IFN) and ribavirin (RBV) administered for 24 to 48 weeks depending on the HCV genotype. Standard therapy resulted in sustained virological response (SVR) rates of 75%-85% in patients with genotypes 2 or 3 but only of 40%-50% in patients with genotype 1. Currently, there are rapid and continuous developments of numerous new agents against hepatitis C virus (HCV), which are the focus of this review. Boceprevir and telaprevir, two first-generation NS3/4A HCV protease inhibitors, have revolutionized HCV therapy. They have been recently licensed in several countries around the world to be used in combination with PEGIFN and RBV for the treatment of genotype 1 patients. Boceprevir or telaprevir based triple regimens, compared with the PEG-IFN/RBV combination, improve the SVR rates by 25%-31% in treatment-naïve genotype 1 patients, by 40%-64% in prior relapsers, by 33%-45% in prior partial responders and by 24%-28% in prior null responders. At the same time, the application of response-guided treatment algorithms according to the on-treatment virological response results in shortening of the total therapy duration to only 24 wk in 45%-55% of treatment-naïve patients. There are, however, several challenges with the use of the new triple combinations in genotype 1 patients, such as the need for immediate results of HCV RNA testing using sensitive quantitative assays, new and more frequent adverse events (anaemia and dysgeusia for boceprevir; pruritus, rash and anaemia for telaprevir), new drug interactions and increasing difficulties in compliance. However, the SVR rates are still poor in subgroups of genotype 1 patients, which are very difficult to treat, such as null responders with cirrhosis. There is no benefit for patients who cannot tolerate PEGIFN/ RBV or who are infected with non-1 HCV genotype. Many newer anti-HCV agents of different classes and numerous combinations are currently under evaluation with encouraging results. New DAA with simplified dosing regimens and/or minimal toxicity which, when used in combination, will lead to viral eradication in almost all CHC patients who undergo treatment are expected in the years ahead. The novel agents in clinical development are paving the way for future interferon-sparing regimens.

**Key words:** hepatitis C, individualized treatment, HCV genotype, new antiviral drugs

## Epidemiologija

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) virusom hepatitisa C zaraženo je oko 170 milijuna ljudi (1). Postoje važne regionalne razlike u različitim dijelovima svijeta; prevalencija je značajno viša u afričkim područjima i zapadnim dijelovima Tihog oceana nego u Sjevernoj Americi i Europi. Procjenjuje se da je u Europi oko 4 milijuna ljudi zaraženo hepatitisom C. Kronična hepatitis C-infekcija najčešći je uzrok kronične bolesti jetre, ciroze jetre, hepatocelularnog karcinoma i transplantacije jetre (2).

## Struktura i replikacija hepatitis C-virusa

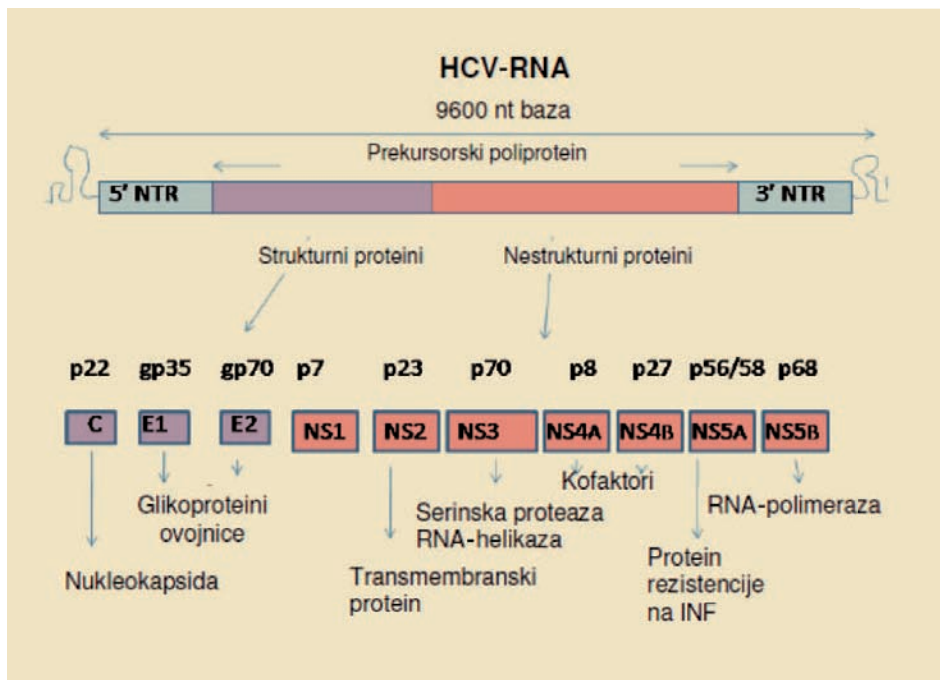
### Genotipovi

Hepatitis C-virus (HCV) jest RNA-virus iz porodice flaviviridae. Do danas je otkriveno šest glavnih genotipova, a unutar svakoga od njih velik broj podtipova (više od 90). Neki su genotipovi ograničeni na određena geografska područja (genotipovi 4-6), dok su drugi (genotipovi 1-3) široko rasprostranjeni. Genotip 1 (podtipovi 1a i 1b) najzastupljeniji je genotip u svijetu. Genotip 2 nalazimo u Mediteranskoj regiji, genotip 3 je rasprostranjen među intravenskim korisnicima droga, genotip 4 nalazi se uglavnom u Egiptu, dok su genotipovi 5 i 6 rjeđi (3, 4). Podjela na genotipove i podtipove klinički je važna jer se može predvidjeti odgovor na terapiju i dužina liječenja. Unutar jednog domaćina, tijekom vremena, mogu se pojaviti genski različite varijante istog virusa (kvazispecijesi) (5). Genske varijacije posljedica su velike brzine replikacije virusa, kao i postojanja viru-

sne RNA-polimeraze koja nema sposobnost prepoznavanja pogrešno umetnutih nukleotida tijekom umnožavanja, a ni djelotvornog popravka RNA.

## Struktura virusa i organizacija genoma

HCV-čestica sferična je oblika, promjera oko 60 nm. Nukleokapsida je promjera 30 nm, ovijena lipidnom ovojnicom na kojoj se nalaze glikoproteinski izdanci HCV E1 i E2 (6-8). Unutar viriona opisana je sferična struktura koja sadržava virusni genom koji čini jednolančana, pozitivna (+) RNA sastavljena od približno 9,6 kilobaza. Ona služi kao glasnička RNA (mRNA), tj. kao kalup u procesu translacije u poliprotein. Sadržava tri regije: kratku nekodirajuću regiju na 5'-kraju (engl. *nontranslated region*; NTR), veliko otvoreno područje kodiranja (engl. *open reading frame*; ORF) i kratku nekodirajuću regiju na 3'-kraju. Translaciju poliproteina pokreću domene u nekodirajućim regijama. Produkt prevođenja kodirajuće regije (ORF) jest poliprotein koji se posttranslacijski cijepa s pomoću virusnih i staničnih proteaza u 10 proteina. Oni uključuju tri strukturalna proteina: protein kapside (C) i dva glikoproteina ovojnice (E1 i E2), pet nestrukturalnih proteina (NS3, NS4A, NS4B, NS5A i NS5B), enzime koji sudjeluju u procesu replikacije te dva proteina (p7 i NS2) koja sudjeluju u procesu sastavljanja virusne čestice (slika 1, tablica 1). Glikoproteini E1 i E2 građeni su u obliku heterodimera. Prvih 27 aminokiselina glikoproteina E2 tvori tzv. hipervarijabilnu regiju (HVR-1) koja je najvarijabilnija regija genoma i posjeduje epitope koji izazivaju stvaranje neutralizirajućih protutijela (9). Kapsidni (*core*, C) protein tvori kapsidu u kojoj se nalazi "zapakiran" virusni genom. Glikoproteini su smješteni



Slika 1. Organizacija genoma i obrada poliproteina

Tablica 1. Funkcija HCV-proteina

Protein	MT	Funkcija
Core (C)	21 kd	Sudjeluje u tvorbi kapside. Regulira translaciju, RNA-replikaciju i sklapanje čestica
F-protein ili ARFP	16-17 kd	Nepoznata
Glikoprotein ovojnice 1 (E1)	35 kd	Transmembranski glikoprotein virusne ovojnice. Adsorpcija, endocitoza posredovana receptorom
Glikoprotein ovojnice 2 (E2)	70 kd	Transmembranski glikoprotein virusne ovojnice. Adsorpcija, endocitoza posredovana receptorom
p7	7 kd	Oblikuje ionski kanal u endoplazmatskom retikulumu. Esencijalan u oblikovanju infektivnih viriona.
NS2	21 kd	Dio NS2-NS3-proteaze koja katalizira cijepanje polipeptidske preteče između NS2 i NS3
NS3	70 kd	NS2-NS3-serin proteaza, cijepanje HCV-proteina. ATPaza/helikaza, spajanje i odmotavanje virusne RNA.
NS4A	4 kd	Kofaktor NS3-NS4-proteaze, replikacija genoma
NS4B	27 kd	Presudna u replikaciji. Potiče membransku mrežu endoplazm. retikuluma tijekom HCV-replikacije
NS5A	56 kd	Višefunkcionalni fosfoprotein. Sadržava "INF- $\alpha$ sensitivity-determining region" (ISDR). ISDR ima važnu ulogu u odgovoru na liječenje s pomoću INF- $\alpha$ .
NS5B	66 kd	Virusna RNA-polimeraza ovisna o RNA. NS5B je enzim koji nema sposobnost prepoznavanja pogrešno umetnutih nukleotida (pogreška na svakih $10^3$ i nukleotidu po generaciji)

na lipidnoj ovojnici koja okružuje kapsidu. P7 je potreban u sastavljanju virusa (10). Nestrukturalni enzimi posjeduju uglavnom enzimsku aktivnost. NS2 i NS3 su virusne proteaze koje sudjeluju u cijepanju HCV-poliproteina (11). NS3 je enzim s višestrukim funkcijom, tj. na N-terminalnom kraju posjeduje serin proteaznu aktivnost, a na C-terminalnom dijelu helikaznu/NTPaznu aktivnost. Centralna regija NS4a djeluje kao kofaktor NS3-proteazne aktivnosti, stvarajući NS3/NS4A-kompleks enzim s proteaznom aktivnošću, koji cijepa HCV-poliprotein, tj. vezu između NS3/4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A i NS5A/NS5B. Nedavna istraživanja pokazuju da NS3/NS4A-kompleks različitim mehanizmima zaobilazi prirodni imunitet; tako je u *in vitro* uvjetima dokazano da kompleks antagonizira dsRNA-ovisni faktor 3 (IRF-3) reguliran interferonom koji je važan u indukciji interferonskog odgovora na virusnu infekciju. NS3 ima helikaznu aktivnost te sudjeluje u odmotavanju HCV-a (12). NS5A je fosforilirani cink-metaloprotein koji ima važnu ulogu u virusnoj replikaciji. Mehanizmi kojima NS5A regulira replikaciju nisu potpuno jasni. N-terminalni dio proteina odgovoran je za sastavljanje replikacijskog kompleksa. NS5B RNA-ovisna RNA-polimeraza sudjeluje u virusnoj replikaciji.

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (SZO) virusom hepatitisa C zaraženo je oko 170 milijuna ljudi (13). Kronični hepatitis C (HCV) danas je vodeći uzrok kronične bolesti jetre, ciroze i hepatocelularnog karcinoma te je važan javnozdravstveni problem (14). Cilj je antivirusne terapije sprečavanje razvoja komplikacija eradikacijom virusa. Posljednja dva desetljeća kao standardna terapija u liječenju kronične infekcije HCV-om rabi se kombinirana terapija pegiliranim interferonom  $\alpha$  (PEG-INF-om) i ribavirinom. Na listi HZZO-a dostupna su dva PEG-INF: PEG-INF  $\alpha$ -2a i PEG-INF  $\alpha$ -2b. Manje studije provedene u južnoj Europi sugeriraju neznatno viši SVR u bolesnika koji su liječeni

PEG-INF  $\alpha$  - 2a (15-17), no velika multicentrična studija provedena u SAD-u nije dokazala značajnu razliku između učinka dvaju pegiliranih interferona na SVR (18). Postoje mnogobrojni čimbenici na temelju kojih se može predvidjeti ishod liječenja standardnom terapijom. Bazalni čimbenici o kojima ovisi ishod liječenja su: HCV-genotip, stupanj fibroze i steatoze, bazalna viremija, indeks tjelesne mase, prisutnost inzulinske rezistencije, dob, spol, rasa i koinfekcija HIV-om (tablica 2) (18).

Tablica 2. Prediktori ishoda liječenja HCV-a

Čimbenik	Povoljan	Nepovoljan
Bazalna viremija	< 800.000 IU/mL	$\geq$ 800.000 IU/mL
HCV-genotip	2, 3	1, 4, 5, 6
Ciroza	Odsutna	Prisutna
Dob	< 40	> 40
Spol	Žene	Muškarci
BMI	< 28	> 28
Relativni porast ALT-a	$\geq$ 3	< 3
Etničko podrijetlo	Europljani	Afrikanci

Jedan od najvažnijih čimbenika povezanih s odgovorom na terapiju jest brzina pada broja kopija HCV RNA tijekom liječenja. Stoga se mjerenja HCV RNA provode u više navrata tijekom liječenja, tj. u 4. tjednu (brzi virološki odgovor; engl. *rapid viral response*, RVR), 12. tjednu (rani virološki odgovor; engl. *early virological response*, EVR) i 24. tjednu od početka terapije (19) te se na temelju kinetike HCV RNA donose odluke o trajanju liječenja (terapija vođena odgovorom, engl. *response-guided therapy*). Bolesnici s geno-

tipom 2 ili 3 liječe se standardnom terapijom (PEG-INF/RBV) 24 tjedna, uz postizanje stope SVR-a od 75 do 85%. Bolesnici s genotipom 1 ili 4 liječe se 48 tjedana, što rezultira stopom SVR-a od 40 do 50% za genotip 1 i 55-65% za genotip 4 (19, 20). Dakle, problem standardne terapije jest nedovoljna učinkovitost, osobito u bolesnika s HCV-genotipom 1, koji je odgovoran za oko 60% HCV-om zaražene svjetske populacije (21). Održani virološki odgovor (SVR) u navedenih bolesnika kreće se oko 40% nakon 48. tjedna terapije PEG-INF-om/ribavirinom, a još je niži u bolesnika afričkog podrijetla s koinfekcijom HIV-om, s visokom viremijom ili uznapredovalom fibrozom (22-25). Nedavno otkriće američkih autora dokazalo je da čimbenici domaćina posreduju u odgovoru na interferonsku terapiju. Naime, nedavne su studije identificirale specifični polimorfizam uz gen za lambda-interferon 3 na kromosomu 19 (IL28B) koji je važan prediktor SVR-a kod bolesnika s genotipom 1 liječenih standardnom terapijom (26). SVR kod bolesnika s genotipom CC dostiže visokih 70% u usporedbi s 25-30% u bolesnika s CT i TT-genotipom (26). Utjecaj polimorfizma primijećen je osobito kod bolesnika s HCV-genotipom 1, u manjoj mjeri kod genotipa 2 i 3.

Iz navedenih zapažanja jasno je da upravo bolesnici s genotipom 1 imaju najveću potrebu za učinkovitijim liječenjem. Važno je nadodati da, neovisno o genotipu, postoji skupina HCV-bolesnika koji se ne smiju liječiti PEG-INF-om i RBV-om. To su bolesnici koji imaju dekompenziranu bolest jetre, koji ne toleriraju liječenje zbog značajnih nuspojava standardne terapije ili imaju kontraindikaciju za terapiju PEG-INF-om ili RBV-om. Nije teško zaključiti da postoji potreba za novim antivirusnim lijekovima koji bi trebali zadovoljiti nekoliko kriterija: veću učinkovitost, bolju podnošljivost, dobar sigurnosni profil.

Važan korak u liječenju infekcije HCV-om nastupio je razvojem lijekova s direktnim antivirusnim djelovanjem (engl. *direct-acting antiviral agents* – DAA). U odnosu na lijekove s nespecifičnim antivirusnim djelovanjem (PEG-INF, RBV) DAA djeluju specifično, inhibirajući virusne proteine uključene u životni ciklus HCV-a. Mnogobrojne molekule, koje djeluju na različite faze životnog ciklusa HCV-a, u različitim su fazama istraživanja; NS3/4A-proteaza, NS5A-replikacijski kompleks, NS5B RNA-ovisna RNA-polimeraza i NS4B i NS3-helikaza. Tijekom 2011. godine u Europi i SAD-u odobrena su dva lijeka iz skupine DAA: boceprevir i telaprevir, oba inhibitori NS3/4A-proteaze. Tijekom sljedećih nekoliko godina bit ćemo svjedoci novih lijekova iz skupine DAA, koji će se odlikovati jednostavnom primjenom, minimalnom toksičnošću, pangenetipskim djelovanjem, a koji će dovesti do eradikacije virusa kod većine bolesnika.

## Inhibitori NS3/4A-proteaze

Trenutačno su dva inhibitora NS3/4A-proteaze odobrena u bolesnika s kroničnom infekcijom HCV-om genotipa 1: boceprevir i telaprevir. Rezultati kliničkih studija pokazali su da imaju jako antivirusno djelovanje protiv genotipa 1 i 2. Međutim monoterapijske studije pokazale su da navedeni lijekovi imaju nisku barijeru prema rezistenciji, tj. da

se već unutar nekoliko dana javljaju rezistentni sojevi koji pokazuju ukriženu rezistenciju na oba lijeka. HCV-podtip 1a razvija rezistenciju češće i brže nego podtip 1b, jer je za razvoj rezistentne varijante potrebna promjena samo jednog nukleotida. Stoga se boceprevir i telaprevir ne smiju davati samostalno, već uvijek u kombinaciji s PEG-INF-om/RBV-om. S obzirom na mogućnost pojave rezistencije i u trojnoj terapiji, postoje strogi protokoli primjene i prekida terapije boceprevirom i telaprevirom. Posljednjih nekoliko godina svjedoci smo razvoja inhibitora NS3/4A-proteaze druge i treće generacije koji su trenutačno u različitim fazama ispitivanja /danoprevir (R7227/ITMN191), vaniprevir (MK-7009), BI201335, simeprevir (TMC435350), narlaprevir (SCH900518), asunaprevir (BMS-650032), PHX1766, ACH-1625, IDX320.../, a koji će imati poboljšanu podnošljivost, pangenetipsku antivirusnu aktivnost, poboljšanu farmakokinetiku i/ili različite profile rezistencije. Odobrenjem boceprevira i telaprevira trojna terapija s peg-INF-om/RBV-om i inhibitorom proteaze (PI) postala je novom standardnom terapijom za genotip 1.

## Kliničke studije s boceprevirom i telaprevirom

Provedena su mnogobrojna klinička ispitivanja s inhibitorima NS3/4A-proteaze. Slijedi pregled rezultata III. faze kliničkih ispitivanja primjene boceprevira i telaprevira u prethodno neliječenih ("naivnih") i prethodno neuspješno liječenih bolesnika.

### Boceprevir

SPRINT-2 je randomizirana, dvostruko slijepa multicentrična studija kontrolirana placebom III. faze osmišljena radi procjene učinkovitosti i sigurnosti PEG-interferona, ribavirina i boceprevira u usporedbi sa standardnom terapijom, kao i usporedbe učinkovitosti boceprevira u terapiji vodećoj odgovorom (engl. *response guided therapy*, RGT) u odnosu na fiksnu terapiju boceprevirom tijekom 48 tjedana (27).

PEG-INF-2b primjenjivan je potkožno u dozi od 1,5 µg/kg/tjedan, RBV oralno u ukupnoj dnevnoj dozi od 600 do 1400 mg ovisno o tjelesnoj težini te boceprevir oralno s hranom u dozi od 800 mg svakih 7-9 h.

U studiju je uključeno 1097 "naivnih" (prethodno neliječenih) bolesnika s genotipom 1 koji su slučajnim izborom uvršteni u jednu od tri ispitivane skupine (u omjeru 1:1:1). Svi su bolesnici dobili PEG-INF-2b i RBV tijekom prva 4 tjedna uvodne terapije (razdoblje "lead-in"). Prva je skupina dobivala placebo i PEG-INF-2b/RBV tijekom 44 tjedna (kontrolna skupina). Druga skupina bolesnika dobivala je boceprevir i PEG-INF-2b/RBV tijekom 24 tjedna. Liječenje se prekidalu u 28. tjednu kod bolesnika koji su postigli prošireni brzi virusni odgovor (engl. *extended rapid virological response*, eRVR) definiran kao nemjerljiva HCV RNA između 8. i 24. tjedna. Bolesnici koji nisu postigli eRVR, tj. koji su imali mjerljivu HCV RNA do 24. tjedna nastavljali su

liječenje placebo i PEG-INF-om 2b/RBV-om dodatnih 20 tjedana (boceprevir RGT-skupina). Treća skupina je dobivala boceprevir s PEG-INF-om-2b/RBV-om tijekom 44 tjedna (boceprevir fiksna skupina).

Stopa SVR-a bila je značajno niža u kontrolnoj skupini (38%) u odnosu na skupine s boceprevirom: RGT 63% i fiksna 66% ( $P < 0,001$ ) (tablica 3).

Tablica 3. SVR u kliničkim studijama faze III s inhibitorima proteaze u prethodno "naivnih" i prethodno liječenih bolesnika

Klinička studija	SVR
Skupina prethodno neliječenih pacijenata	
<b>SPRINT-2</b>	
BOC/RGT	63%
BOC44/PR48	66%
PR48	38%
<b>ADVANCE</b>	
T12PR	75%
T8PR	69%
PR	44%
<b>ILLUMINATE</b>	
T12PR24 (eRVR+)	92%
T12PR48 (eRVR+)	87%
T12PR48 (eRVR-)	64%
< 20 wk	23%
<b>Skupina prethodno liječenih pacijenata</b>	
<b>RESPOND-2</b>	
Prethodno "relapseri"	
PR48	29%
BOC/RGT	69%
BOC44/PR48	75%
Prethodno djelomični odgovor	
PR48	7%
BOC/RGT	40%
BOC44/PR48	52%
<b>REALIZE</b>	
Prethodno "relapseri"	
PR48	24%
LIT12PR48	88%
T12PR48	83%
Prethodno djelomični odgovor	
PR48	15%
LIT12PR48	54%
T12PR48	59%
Prethodno bez odgovora ( <i>null responders</i> )	
PR48	5%
LIT12PR48	33%
T12PR48	29%

Ukupno 44% bolesnika iz RGT-skupine ispunjavalo je uvjete za trajanje liječenja od 28 tjedana uz SVR od 96%. Među bolesnicima koji su primali boceprevir 60% ih je

imalo nemjerljivu HCV RNA u 8. tjednu terapije, od čega je 47% imalo nemjerljivu HCV RNA i u 24. tjednu. Učestalost relapsa bila je 22% u kontrolnoj skupini i svega 9% u skupinama liječenim boceprevirom. Iz rezultata studije može se zaključiti da su "naivni" bolesnici s genotipom 1 liječeni boceprevirom u usporedbi s bolesnicima liječenim standardnom terapijom imali 25-28% veću vjerojatnost postizanja SVR-a. Bolesnici s individualiziranim pristupom (boceprevir RGT-skupina) koji su imali eRVR postizali su podjednako dobre rezultate kao bolesnici iz boceprevir fiksne skupine (SVR 97% i 96%). Vjerojatnost postizanja SVR-a bila je viša ako je bio zadovoljen jedan ili više ovih kriterija: pad HCV RNA od najmanje 1 log<sub>10</sub> na kraju uvodnog liječenja (razdoblje "lead in"), nemjerljiva HCV RNA u 8. tjednu liječenja, niski stupanj fibroze.

RESPOND-2 je randomizirana, dvostruko slijepa klinička studija kontrolirana placebo III. faze osmišljena radi procjene učinkovitosti i sigurnosti boceprevira u usporedbi sa standardnom terapijom u prethodno liječenih bolesnika s genotipom 1. Bolesnici koji su kod prethodnog pokušaja liječenja bili *null-responderi* (pad HCV RNA manji od 2 log<sub>10</sub> IU/mL u 12. tjednu u odnosu na bazalnu vrijednost) nisu uključeni u studiju.

U studiju su ukupno uključena 403 bolesnika (259 "relapsera": HCV RNA nemjerljiva na kraju terapije, ali mjerljiva 6 mjeseci nakon prekida prethodne terapije; 114 bolesnika s djelomičnim odgovorom tzv. "partial responders": pad HCV RNA veći od 2 log<sub>10</sub> IU/mL u 12. tjednu, ali ostaje mjerljiv tijekom prethodne terapije) koji su slučajnim odabirom svrstani u jednu od tri ispitivane skupine (u omjeru 1:2:2). Skupine su podijeljene kao u kliničkoj studiji u SPRINT-2 (kontrolna, boceprevir RTG i boceprevir fiksna skupina) (30). U skupini bolesnika s individualiziranim pristupom (terapija vođena odgovorom, engl. RGT), nakon početna 4 tjedna uvodnog (*lead-in*) liječenja isključivo PEG-INF-2b i RBV, nastavljala se trojnom terapijom boceprevirom i PEG-INF-om-2b/RBV-om sljedeća 32 tjedna (4. do 36. tjedna). Ako je HCV RNA u 8. tjednu bila nemjerljiva, terapija se nakon 36. tjedna prekivala, a ako je bila pozitivna do 12. tjedna, liječenje se nastavljalo s dodatnih 12 tjedana PEG-INF-a-2b/RBV-a (u ukupnom trajanju od 48 tjedana). Nemjerljiva HCV RNA u 12. tjednu značila je trenutačni prekid terapije.

Učestalost SVR-a bila je statistički značajno viša u obje skupine bolesnika liječenih boceprevirom (RGT: 59%; fiksna: 66%) nego u kontrolnoj skupini (21%,  $P < 0,001$ ). Postizanje SVR-a ovisilo je o odgovoru bolesnika na prethodnu terapiju. Učestalost SVR-a bila je viša u skupini "relapsera" (RGT: 69%, fiksna: 75%, kontrolna: 29%) nego u bolesnika s djelomičnim odgovorom ("partial responders") (RGT: 40%, fiksna: 52%, kontrolna: 7%). Učestalost SVR-a među bolesnicima s nemjerljivom HCV RNA u 8. tjednu je bila 86% nakon 36. tjedna liječenja u RGT-skupini i 88% nakon 48. tjedna liječenja u fiksnoj skupini. Ukupni SVR bio je niži u RGT-skupini u odnosu na bolesnike fiksne skupine koji su imali uznapredovalu fibrozu (metavir F3-F4) (44% nasuprot 68%) ili u bolesnika s cirozom (35% nasuprot 77%). Negativan učinak ciroze na izlječenje javljao se i kod bolesnika s relapsom infekcije ("relapser") i

kod bolesnika s djelomičnim odgovorom ("partial responders"). Vjerojatnost postizanja SVR-a bila je značajno viša u bolesnika s padom HCV RNA  $> 1 \log_{10}$  IU/mL na kraju 4. tjedna uvodne (lead-in) faze (76% nasuprot 33%). Rezultati studije potvrđuju da liječenje trojnom terapijom bolesnika s genotipom 1, a koja se temelji na bocepreviru u odnosu na standardnu terapiju povećava učestalost SVR-a za 40-46% u "relapsa" i 33-45% u bolesnika s prethodno djelomičnim odgovorom. Štoviše, individualizirani pristup kod bolesnika koji postignu nemjerljivu HCV RNA u 8. tjednu može se primijeniti kod svih prethodno liječenih necirotičnih bolesnika. Vjerojatnost SVR-a nije visoka kod bolesnika kod kojih se ne prati pad HCV RNA  $> 1 \log_{10}$  IU/mL na kraju uvodne faze. Svi bolesnici kontrolnih skupina SPRINT-1, SPRINT-2, RESPOND-2 i PEG 2a/BOC-kliničkih ispitivanja, koji su neuspješno liječeni PEG-INF-om/RBV-om uključeni su u kliničko ispitivanje PROVIDE. Ukupno 42 prethodna "null-respondera" uključena su u fiksnu skupinu (4 tjedna uvodnog liječenja PEG-INF-om/RBV-om + 44 tjedna trojne terapije boceprevir i PEG-INF/RBV). Preliminarni rezultati govore u prilog SVR-u od 38%.

### Sigurnosni profil boceprevira

Prema zaključcima kliničkih ispitivanja SPRINT-2 i RESPOND-2 boceprevir je dobro podnošljiv lijek. Najčešće nuspojave trostruke terapije su one koje se uobičajeno vide u standardnoj terapiji PEG-INF-om/RBV-om, kao što su simptomi gripe i umor. Najčešća je nuspojava anemija, koja je izraženija u bolesnika koji primaju boceprevir s prosječnim padom hemoglobina od 10 g/L u 8. tjednu terapije (45-50% u usporedbi s 20-29% u kontrolnoj skupini) (27, 29). Mehanizam nastanka anemije uzrokovane boceprevirom još je nejasan. Vjeruje se da za razliku od ribavirina koji izaziva hemolitičku anemiju, boceprevir ima direktni supresivni učinak na koštano srž. U skupini bolesnika liječenih boceprevirom anemija je liječena eritropoetinom u 41-46% bolesnika, odnosno u 21-24% bolesnika kontrolne skupine. Prekid terapije zbog anemije bio je nuždan u 2% bolesnika liječenih boceprevirom, odnosno 1% bolesnika u kontrolnoj skupini.

Rezultati studije pokazali su da SVR kod bolesnika koji su primali boceprevir ne ovisi o tome je li se u bolesnika razvila anemija, prima li ili ne eritropoetin, odnosno je li tijekom terapije zbog anemije snižena doza RBV-a (27).

Disgeuzija je druga klinički važna nuspojava koja je prijavljivana češće kod bolesnika koji su primali boceprevir nego u kontrolnoj skupini (37-43% nasuprot 18%) (27, 29). Nije zahtijevala prekid terapije, lako se rješavala redovitim higijenom usta i upotrebom bombona.

Tijekom kliničkog ispitivanja SPRINT-2 liječenje zbog nuspojave prekinuto je u 12-16% bolesnika liječenih boceprevirom, što je slično kao i u kontrolnoj skupini (16%).

### Telaprevir

ADVANCE je randomizirana, multicentrična, dvostruko slijeva klinička studija kontrolirana placebom III. faze osmišljena radi procjene učinkovitosti i sigurnosti telaprevira u usporedbi sa standardnom terapijom te utvrđivanja optimalnog trajanja trostruke terapije s telaprevirom (28). U studiju je uključeno 1088 "naivnih" bolesnika s genotipom 1 koji su slučajnim izborom uvršteni u jednu od 3 ispitivane skupine (u omjeru 1:1:1). U prvoj skupini bolesnici su dobivali telaprevir s PEG-INF-om-2a/RBV-om tijekom prvih 12 tjedana, potom 12 ili 36 tjedana PEG-INF-2a/RBV (T12PR-skupina). Druga skupina bolesnika dobivala je telaprevir s PEG-INF-om-2a/RBV-om tijekom prvih 8 tjedana i placebo s PEG-INF-om-2a/RBV-om tijekom sljedeća 4 tjedna, potom 12 ili 36 tjedana PEG-INF-2a/RBV (T8PR-skupina). Treća skupina bolesnika dobivala je PEG-INF-2a/RBV tijekom 48 tjedana uz placebo tijekom prvih 12 tjedana (PR kontrolna skupina). PEG-INF-2a primjenjivan je potkožno u standardnoj tjeđnoj dozi od 180 µg, RBV oralno u ukupnoj dnevnoj dozi od 1000 do 1200 mg ovisno o tjelesnoj težini, a telaprevir oralno s hranom u dozi od 750 mg svakih 8 h. U skupinama s telaprevirom liječenje je prekinuto u 24. tjednu u bolesnika koji su postigli eRVR (nemjerljiva HCV RNA u 4. i 12. tjednu), a nastavljeno do 48. tjedna kod bolesnika koji nisu postigli eRVR. Ako je u 4. tjednu liječenja razina HCV RNA bila iznad 1000 IU/ml, liječenje se nastavljalo samo PEG-INF-om/RBV-om. Liječenje se prekidalo ako u 12. tjednu terapije pad HCV RNA nije bio veći od 2 log<sub>10</sub> ili ako je HCV RNA bila mjerljiva između 24. i 40. tjedna liječenja.

SVR je postigao značajno veći broj bolesnika koji su uzimali telaprevir u odnosu na kontrolnu skupinu (75% i 69% u odnosu na 44%,  $P < 0,001$ ). Bolesnici iz skupine T12PR imali su veći SVR od bolesnika iz skupine T8PR, međutim ta razlika nije bila statistički značajna (T12PR: 75% u odnosu na T8PR: 69%,  $P = 0,088$ ). Učestalost eRVR-a bila je u skupini T12PR 57%, u skupini T8PR 58%, a u kontrolnoj skupini 8%. Među bolesnicima koji su postigli eRVR i primili terapiju u trajanju od 24 tjedna SVR je postignut u 89% u skupini T12PR, odnosno 83% u skupini T8PR. Bolesnici koji nisu postigli eRVR (nastavili su terapiju tijekom 48 tjedana) postigli su SVR od 54% u skupini T12PR, odnosno 50% u skupini T8PR. Učestalost povratka viremije nakon prekida terapije bila je 9% u obje skupine koje su primale telaprevir usporedno s 28% u kontrolnoj skupini. Više od 50% bolesnika primalo je trojnu terapiju tijekom samo 24 tjedna. Na temelju navedenih podataka može se zaključiti da su "naivni" bolesnici s genotipom 1 liječeni telaprevirom u usporedbi s bolesnicima liječenim standardnom terapijom imali 25-31% veću vjerojatnost postizanja SVR-a. Zbog boljeg terapijskog odgovora bolesnika u skupini T12PR u odnosu na skupinu T8PR zaključeno je da je optimalno trajanje terapije 12 tjedana.

ILLUMINATE je multicentrična, otvorena studija III. faze, u koju je bilo uključeno 440 prethodno neliječenih bolesnika s genotipom 1. Osmišljena je s ciljem procjene dostatnosti 24-tjeđne terapije telaprevirom u bolesnika koji su postigli eRVR (29). Svi su bolesnici liječeni telaprevirom, PEG-INF-om-2a/RBV-om u jednakim dozama kao i u studiji ADVAN-

CE tijekom prvih 12 tjedana, a potom ovisno o odgovoru nastavili su s PEG-INF-om-2a/RBV-om 12 ili 36 tjedana. Bolesnici koji su postigli eRVR (nemjerljiva HCV RNA u 4. i 12. tjednu) u 20. su tjednu slučajnim odabirom nastavili primati terapiju PEG-INF-om i RBV-om 24 ili 48 tjedana. Svi bolesnici bez postignutog eRVR-a nastavili su primati terapiju PEG-INF-om-2a/RBV-om do 48. tjedna. Među 60% bolesnika koji su postigli eRVR i nastavili liječenje nakon 20. tjedna, učestalost SVR-a neovisno o daljnjem trajanju terapije bila je usporediva (24 tjedna SVR= 92% u odnosu na 48 tjedana SVR =88%). U 22% bolesnika koji nisu postigli eRVR, ali su nastavili liječenje nakon 20. tjedna, učestalost SVR-a bila je 64%. Liječenje je prekinuto prije randomizacije u 20. tjednu u 18% slučajeva. Zaključeno je da u prethodno neliječenih bolesnika s genotipom 1 trajanje terapije telaprevirom od 24 tjedna daje optimalne rezultate.

REALIZE je randomizirana klinička studija kontrolirana placebom III. faze osmišljena radi procjene učinkovitosti i sigurnosti telaprevira u usporedbi sa standardnom terapijom u prethodno liječenih bolesnika s genotipom 1 te utvrđivanja utjecaja četverotjednog uvodnog (*lead-in*) liječenja PEG-INF-om/RBV-om na vjerojatnost SVR-a u bolesnika koji se liječe telaprevirom (1). Ukupno 663 bolesnika (345 bolesnika s povratom infekcije nakon kraja terapije, tj. "relapsom", 124 bolesnika s djelomičnim odgovorom, 184 bez odgovora na prethodnu terapiju) koji su slučajnim odabirom svrstani u jednu od tri ispitivane skupine (u omjeru 1:2:2). Bolesnici iz prve skupine dobivali su telaprevir s PEG-INF-om-2a/RBV-om prvih 12 tjedana, potom PEG-INF-2a/RBV sljedećih 36 tjedana (skupina T12PR48). U drugoj skupini bolesnici su primali 4 tjedna uvodnog (*lead-in*) liječenja s PEG-INF-om-2a/RBV-om i potom 12 tjedana telaprevira s PEG-INF-om-2a/RBV-om, nakon čega slijedi PEG-INF-2a/RBV još 32 tjedna (uvodna skupina T12PR48). U trećoj skupini bolesnici su primali PEG-INF-2a/RBV tijekom 48 tjedana (kontrolna skupina PR48). Učestalost SVR-a bila je značajno viša u obje skupine koje su primale telaprevir (64% i 66%) nego u kontrolnoj skupini (17%,  $P < 0,001$ ). SVR je bio značajno viši u bolesnika koji su liječeni telaprevirom, a koji su imali povrat infekcije HCV-om nakon završetka prethodne terapije ("relapser") (83% i 88% nasuprot 24%,  $P < 0,001$ ), bolesnika s prethodnim djelomičnim odgovorom ("partial responder") (59% i 54% nasuprot 15%,  $P < 0,001$ ) te bolesnika koji nisu odgovorili na prethodnu terapiju ("null-responder") (29% i 33% nasuprot 5%,  $P < 0,001$ ). Bolesnici koji su liječeni telaprevirom, a imali su cirozu, postizali su manji SVR. Rezultati studija kod bolesnika s cirozom jetre s prethodno djelomičnim odgovorom: blaga-umjerena fibroza – 72%, premošćujuća fibroza – 56%, ciroza – 34%; kod bolesnika koji prethodno nisu odgovorili na terapiju: blaga-umjerena fibroza – 41%, premošćujuća fibroza – 39%, ciroza – 14%. Međutim fibroza i ciroza ne utječu na SVR kod bolesnika koji su prethodno imali relaps infekcije (blaga do umjerena fibroza – 86%, premošćujuća fibroza – 85%, ciroza – 84%). Vjerojatnost postizanja SVR-a bila je značajno viša u bolesnika koji su imali pad HCV RNA  $> 1 \log_{10}$  IU/mL na kraju 4. tjedna uvodne (*lead-in*) faze (82% nasuprot 33%), ali je taj učinak bio klinički relevantniji u bolesnika koji nisu pret-

hodno odgovorili na terapiju (54% nasuprot 15%) nego u bolesnika s djelomičnim odgovorom (59% nasuprot 56%) ili bolesnika s povratom infekcije nakon prethodnog liječenja (94% nasuprot 62%). Uzevši u obzir rezultate studije REALIZE, zaključujemo da se uvođenjem telaprevira u terapijske protokole u odnosu na dosadašnju standardnu terapiju PEG-INF-om/RBV-om povisuje SVR za 59-64% u bolesnika s povratom infekcije nakon prethodne infekcije, za 39-45% u bolesnika s djelomičnim odgovorom i za 24-28% u bolesnika koji nisu prethodno odgovorili na terapiju. Uvodna (*lead-in*) terapija PEG-INF-om/RBV-om ne nudi nikakvu prednost u bolesnika liječenih telaprevirom.

### Sigurnosni profil telaprevira

Najčešće nuspojave liječenja trojnom terapijom koja je uključivala telaprevir bile su povezane s učinkom pegiliranog interferona. Osip je prijavljen u 35-56% bolesnika liječenih telaprevirom u odnosu na 19-37% bolesnika u kontrolnoj skupini. Osip se opisuje kao tipično egzematozan, blag do umjeren u više od 90% bolesnika, lako se liječi topičkim kortikosteroidima i nestaje nakon prekida terapije telaprevirom. Težak osip (koji zahvaća više od 50% površine tijela) javio se u 3-6% bolesnika u kliničkom ispitivanju ADVANCE, a u tri slučaja prijavljen je razvoj *Steven-Johnsonova* sindroma. Prosječno vrijeme do pojave osipa je 22 dana, a većina osipa javlja se unutar prva 4 tjedna liječenja. Ostale klinički važne nuspojave jesu pruritus, mučnina, proljev i anemija. Pruritus je prijavljen u 45-50% bolesnika liječenih telaprevirom u odnosu na 36% u kontrolnoj skupini (28, 30, 31). Anemija se također razvija češće u bolesnika liječenih telaprevirom nego u kontrolnoj skupini (37-39% nasuprot 19%). Prosječni pad koncentracije hemoglobina bio je dodatnih 10 g/L (28, 30, 31). Upotreba eritropoetina u kliničkim ispitivanjima III. faze nije bila dopuštena, stoga se anemija rješavala samo korekcijom doze ribavirina, a što prema rezultatima studija nije utjecalo na SVR (28, 30, 31). U studiji ADVANCE liječenje je zbog značajne nuspojave prekinuto u 7-8% bolesnika u skupini s telaprevirom u odnosu na 4% u kontrolnoj skupini. U studiji ILLUMINATE 17% bolesnika trajno je prekinulo liječenje zbog značajnih nuspojava.

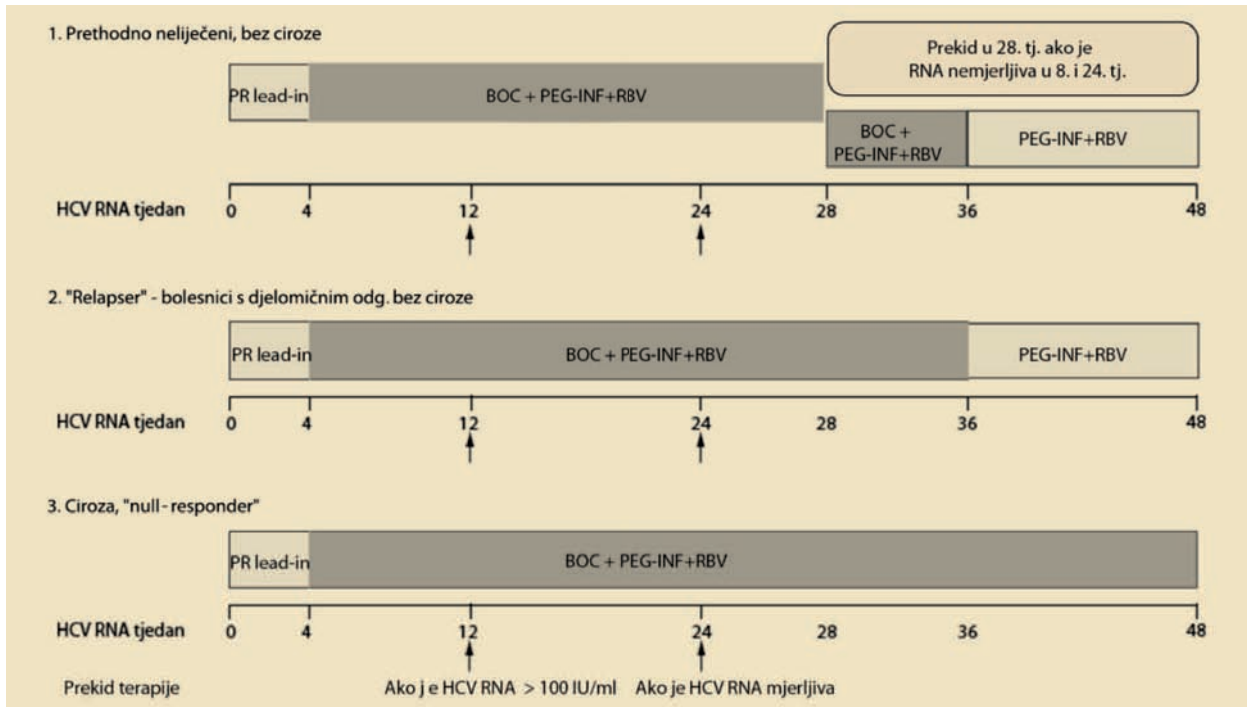
### Interakcija inhibitora NS3/4A s konkomitantnim lijekovima

Drugi problem koji se javlja kod liječenja inhibitorima proteaze jest interakcija s konkomitantnim lijekovima. Boceprevir i telaprevir metaboliziraju se kroz jetru koristeći citokrom P450 (32). Oprez je naročito potreban kod bolesnika koji istodobno primaju više vrsta lijekova koji se metaboliziraju putem citokroma P450, kao što su statini, kalinneurinski inhibitori, antiretrovirusni lijekovi itd. (32). S ciljem izbjegavanja interakcije inhibitora proteaze i drugih učestalih lijekova razvijene su interakcijske karte putem kojih se može provjeriti postojanje eventualnih interakcija između više lijekova (<http://www.hep-druginteractions.org/>)

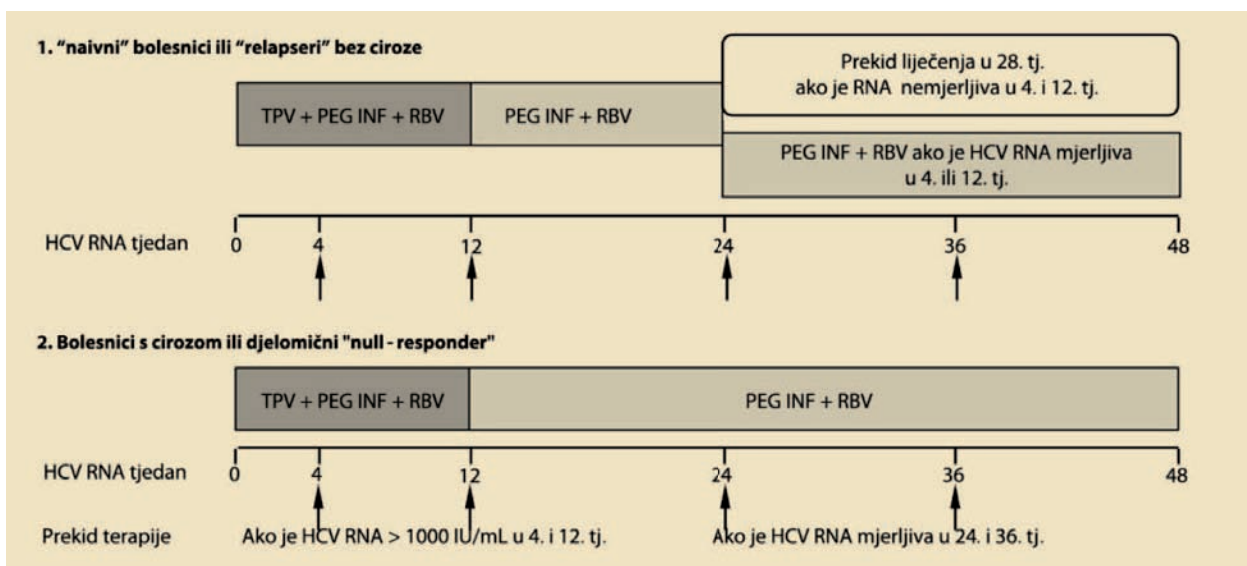
## Preporuke Europske agencije za lijekove (EMA) u liječenju bolesnika s HCV-genotipom 1

Boceprevir i telaprevir odobreni su za liječenje pacijenata zaraženih genotipom 1 u nekoliko zemalja svijeta. Oba lijeka registrirana su u Hrvatskoj, ali u trenutku pisanja ovog članka još nisu stavljeni na osnovnu listu lijekova HZZO-a.

Važno je naglasiti da su preporučeni algoritmi liječenja boceprevirom od strane regulatornih agencija u Americi i Europi. Europska agencija za lijekove i Američka agencija za lijekove i hranu dale su preporuke (algoritme) liječenja bolesnika s trojnom terapijom. Europska agencija za lijekove, na temelju rezultata analiza dosadašnjih studija, preporučila je različite protokole liječenja za boceprevir i telaprevir te različite protokole liječenja ovisno o tipu bolesnika (slika 2, slika 3).



Slika 2. Preporučeni algoritmi liječenja trojnom terapijom s boceprevirom Europske agencije za lijekove za bolesnike s HCV-genotipom 1



Slika 3. Preporučeni algoritmi liječenja trojnom terapijom s telaprevirom Europske agencije za lijekove i Američke agencije za hranu i lijekove za bolesnike s HCV-genotipom 1



Prema preporukama EME svi bolesnici bez obzira na protokol liječenja trebaju započeti liječenje s četiri tjedna uvodne terapije (*lead-in*) PEG-INF-om/RBV-om. U liječenju se mogu rabiti PEG-INF-2b ili PEG-INF-2a, a doza RBV-a određuje se prema tjelesnoj težini. Početkom 5. tjedna uvodi se boceprevir, koji se uzima zajedno s hranom (radi povećanja bioraspodivnosti) u dozi od 800 mg (4 kapsule od 200 mg po.) svakih 8 sati. Preporučena su tri protokola liječenja s trojnom terapijom.

“Naivni” bolesnici, bez ciroze, koji postignu eRVR (nemjerljiva HCV RNA osjetljivim PCR-testom koji mjeri razinu HCV RNA < 10 IU/ml u 8. i 24. tjednu), trostruka terapija trebala bi trajati 24 tjedna, a liječenje se završava u 28. tjednu.

U “naivnih” bolesnika, bez ciroze, koji ne postignu eRVR, kao i u svih pacijenata koji imaju povrat infekcije nakon završetka terapije (“*relapser*”) ili bolesnika s djelomičnim odgovorom (“*partial responders*”) trostruka terapija trebala bi trajati 32 tjedna (do 36 tjedana terapije), popraćena s dodatnih 12 tjedana terapije PEG-INF-om/RBV-om.

Svi bolesnici s cirozom jetre (bez obzira na to jesu li prethodno liječeni), bolesnici koji nisu odgovorili na prethodnu terapiju (*null-responderi*) trebali bi biti liječeni trostrukom terapijom u trajanju od 44 tjedna (do 48 tjedana liječenja).

Kod svih pacijenata potrebno je odrediti razinu HCV RNA u 4, 8, 12. i 24. tjednu, a liječenje je potrebno prekinuti zbog neučinkovitosti ako je razina HCV RNA > 100 IU/mL u 12. tjednu ili je razina HCV RNA mjerljiva u 24. tjednu.

Pacijenti koji uzimaju telaprevir trebali bi krenuti s trostrukom terapijom (telaprevirom i PEG-INF-om/RBV-om), dakle preporuka EME je da se za razliku od boceprevira ne kreće s uvodnim liječenjem (*lead-in*) PEG-INF-om/RBV-om. Teorijski, mogu se rabiti PEG-INF-2a ili PEG-INF-2b, iako je PEG-INF-2a korišten u svim kliničkim studijama s telaprevirom. Doza RBV-a određuje se prema tjelesnoj težini, a telaprevir se uzima na usta uz masni obrok u dozi od 750 mg (2 kapsule od 375 mg svaka) svakih 8 sati. Trostruka bi terapija trebala trajati 12 tjedana. Kod liječenja telaprevirom preporučena su dva protokola ovisno o uznapredovalosti jetrene bolesti i odgovoru na prethodnu terapiju.

“Naivni” bolesnici, kao i bolesnici s “relapsom” infekcije HCV-om, bez ciroze, koji postignu eRVR (nemjerljiva HCV RNA osjetljivim PCR-testom HCV RNA < 10 IU/mL u 4. i 12. tjednu), nakon 12 tjedana trostruke terapije nastavljaju liječenje 12 tjedana PEG-INF-om/RBV-om.

“Naivni” bolesnici, kao i bolesnici s “relapsom” infekcije HCV-om, bez ciroze, a koji ne postignu eRVR, kao i svi bolesnici s cirozom ili bolesnici s djelomičnim odgovorom (“*partial responders*”) i bez odgovora (“*null-responder*”), nakon trostruke terapije nastavljaju liječenje PEG-INF-om/RBV-om tijekom 36 tjedana.

Liječenje se smatra neučinkovitim ako je razina HCV RNA > 1000 IU/mL u 4. ili 12. tjednu ili ako je HCV RNA mjerljiva u 24. ili 36. tjednu liječenja, tj. prekida se.

## Budućnost liječenja kronične infekcije hepatitis C-virusom

### Inhibitori NS5B-polimeraze

NS5B-polimeraza je ključni enzim replikacije HCV RNA. Radi se o RNA-ovisnoj RNA-polimerazi koja katalizira sintezu komplementarnoga negativnog lanca RNA koristeći se pozitivnim RNA-lancem kao kalupom. Tako sintetiziran negativni RNA-lanac služi kao kalup za daljnju replikaciju u poliproteinsku translaciju. Zbog slabe mogućnosti korekture NS5B-polimeraze, tj. visoke stope pogrešaka tijekom RNA-sekvenciranja, svakodnevno se u domaćinu stvaraju kopije virusa s mnogobrojnim mutacijama tzv. HCV-kvazi-specijesi.

Dvije su skupine inhibitora NS5B-polimeraze: nukleozidni ili nukleotidni inhibitori (NIs) i nenukleozidni inhibitori (NNIs). NIs kao što su valopicitabin (NM283), mericitabin (R7128), PSI-938, PSI-7977 ugrađuju se zbog sličnosti s prirodnim nukleotidima u rastući RNA-lanac dovodeći do prekida lanca (33). Aktivno mjesto NS5B-a je visoko konzervirano te zamjena aminokiseline na bilo kojoj poziciji aktivnog mjesta može rezultirati gubitkom funkcije ili smanjenjem replikacijske aktivnosti. Kao posljedica navedenoga, smatra se da NIs imaju visoku gensku barijeru prema rezistenciji, kao i pangentipsku antivirusnu aktivnost (34). Jedan od obećavajućih predstavnika nukleozidnih inhibitora je GS-7977, koji se čini sigurnim i učinkovitim i postiže veoma visok SVR (100%) u bolesnika s genotipom 2 i 3 pa i ako se lijek daje 12 tjedana zajedno s RBV-om (34).

S druge strane postoji heterogena skupina NNIs koji postižu inhibiciju NS5B-polimeraze tako da se vežu na udaljeno mjesto HCV-polimeraze i dovode do konformacijskih promjena koje čine enzim nedjelotvornim. NNIs se vežu na jedno od 4 alosterička mjesta na površini HCV-polimeraze (“palac” domena I, “palac” domena II, “dlan” domena I, “dlan” domena II). NNIs se vežu na mjesta koja su udaljena od aktivnog mjesta, koja nisu konzervirana, stoga se rezistentne varijante virusa mogu normalno razvijati u prisutnosti lijeka i zato NNIs imaju nisku barijeru prema rezistenciji. NNIs imaju ograničenu antivirusnu aktivnost samo na genotip 1.

### Inhibitori NS5A

Protein NS5A regulira replikaciju, sudjeluje u ranom formiranju replikacijskog kompleksa, inicira spajanje virusa na površini lipidnih kapljica zajedno s jezgrom HCV-a. Prvi inhibitor NS5A koji je ispitan u kliničkim studijama bio je daklatasvir (BMS-790052). Rezultati kliničkih ispitivanja pokazali su da inhibitori NS5A imaju visoku antivirusnu aktivnost prema različitim genotipovima, ali imaju nisku gensku barijeru prema rezistenciji te se stoga rabe u kombinaciji s drugim antivirusnim lijekovima (asunaprevir) ili u trojnoj terapiji s PEG-INF-om, RBV-om (35).

## Faktori domaćina

### Inhibitori ciklofilina B

Životni ciklus hepatitis C-virusa ovisan je o mnogobrojnim faktorima domaćina. Ciklofilin B se nalazi u mnogim ljudskim tkivima sudjelujući u proteinskom savijanju. Poboljšava HCV-replikaciju (mehanizam nepoznat). Alisporivir, inhibitor ciklofilina (Debio-025), peroralni je ciklosporinski analog bez imunosupresivnih svojstava, koji ima antivirusni učinak na HCV i HIV. Ima pangenetipsku antivirusnu aktivnost te se rabi samostalno ili u kombinaciji s PEG-INF-om/RBV-om (36). Učinkovitost alisporivira dokazana je u kliničkom ispitivanju II. faze u koje su bili uključeni "naivni" bolesnici genotipova 1, 2, 3 i 4. Bolesnici su dobivali kombinaciju alisporivira u dozi od 200 mg, 600 mg, 1000 mg i PEG-INF-2a u trajanju od 29 dana. Rezultati upućuju na važan logaritamski pad viremije nakon 4 tjedna terapije (4,75 – 1000 mg, 4,61 – 600 mg i 1,8 – 200 mg) u odnosu na bolesnike koji su bili u monoterapijskim skupinama samo s PEG-INF-om a-2a (2,49) ili 1000 mg alisporivira (2,2). Rezultati nisu ovisili o genotipu virusa. U kliničkoj studiji faze II u kojoj su liječeni "naivni" pacijenti s genotipom 1 trojnom terapijom alisporivir, PEG-INF-2a i ribavirin tijekom 24-48 tjedana SVR je postignut u 69-76% bolesnika u odnosu na 55% u kontrolnoj skupini.

U trenutku pisanja FDA je zaustavio daljnji razvoj ovog lijeka zbog nekoliko slučajeva pankreatitisa, od kojih je jedan bio fatalan. SYC-635 (Skineksis) inhibitor je ciklofilina u razvoju.

### Liječenje HCV-a novim kombinacijama

Liječenje boceprevirom i telaprevirom važan je napredak u liječenju infekcije HCV-om, međutim trojna terapija ima određena ograničenja. Rezultati kliničkih ispitivanja pokazali su da učinkovitost terapije ovisi o interferonskom odgovoru bolesnika, tj. slab pad viremije tijekom trojne terapije donosi značajan rizik od razvoja rezistencije. U skupine teško lječivih bolesnika spadaju prethodno neuspješno liječeni bolesnici ("null-responders", "partial responders"), bolesnici koji na kraju uvodne terapije nemaju značajan pad viremije ( $< 1 \log_{10}$  HCV RNA), bolesnici s visokim stupnjem fibroze, te bolesnici koji imaju kontraindikaciju i/ili slabo podnose PEG-INF/RBV. Kako bi se nadvladala ova ograničenja, a na temelju iskustava dobivenih u liječenju HIV-terapija, provode se mnoga klinička istraživanja u kojima se kombiniraju DAA-lijekovi iz različitih skupina, pogotovo iz skupina u kojima se ne razvija ukrštena rezistencija. Primjeri takvih kliničkih studija koje se trenutno provode jesu: kombinacija inhibitora proteaze i NNI (telaprevir s VX-222 (37), BI201335 s BI207127 (38, 39), GS-9256 s tegobuvirom (40), kombinacija NIs (danoprevir i mericitabin) (41) ili NS5A-inhibitori uključujući RBV (34). Trenutačno se procjenjuje učinak NI s RBV-om (GS-7977 i RBV), odnosno NI s inhibitorima NS5.

Trenutačno se protokoli liječenja s DAA-lijekovima mogu razvrstati u dvije skupine: četverostruka terapija (PEG-INF+RBV+ 2 DAA) i sveoralni terapijski protokoli (protokoli bez interferona koji uključuju različite DAA-molekule s ribavirinom ili bez njega).

Klinička studija II. faze u kojoj je liječeno 11 prethodno neuspješno liječenih ("null-respondera") bolesnika s HCV-genotipom 1 primjer je četverostruke terapije. Bolesnici su liječeni kombinacijom NS5A-inhibitora BMS-790052, inhibitora proteaze BMS-650032, zajedno s PEG-INF-om  $\alpha$  i ribavirinom tijekom 24 tjedna. SVR 12 tjedana nakon završetka terapije bio je 100%, što je unatoč malom broju pacijenata uključenih u studiju izuzetan uspjeh, osobito u kontekstu da je SVR prethodno neuspješno liječenih bolesnika ("null-respondera") s trojnom terapijom telaprevirom oko 30%.

Prva klinička studija bez PEG-INF-a (INFORM 1) osmišljena je s ciljem procjene učinkovitosti kombinacije inhibitora polimeraze (R7128) i NS3-inhibitora (R7227/ITMN191) u prethodno neliječenih bolesnika. Bolesnici su dobivali terapiju 2 tjedna. Koncentracija HCV RNA pala je 5,2  $\log_{10}$  IU/ml, virusni proboj utvrđen je kod jednog pacijenta, a HCV RNA bila je nemjerljiva pri kraju liječenja u 63% bolesnika.

Kombinacija inhibitora NS5A (daklatasvira) i inhibitora NS3-proteaze (asunaprevira) tijekom 24 tjedna, u teško lječivih pacijenata s genotipom 1 i "null-respondera" pokazala je odlične rezultate. SVR je postiglo 36% od 11 bolesnika s genotipom 1 (većinom 1a) "null-respondera" iz Amerike (35) i više od 90% od 21 bolesnika s genotipom 1b "null-respondera" iz Japana (42). Slični, preliminarni rezultati zabilježeni su u kliničkoj studiji gdje su bolesnici dobivali inhibitor NS3-proteaze (ABT-450) s ritonavinom, u kombinaciji s NNI (ABT-002) i RBV-om. SVR je postignut u više od 90% prethodno neliječenih pacijenata s genotipom 1, IL28B rs12979860 genotipom CC, koji nisu imali cirozu (43).

Iz svega navedenoga jasno je da se visok SVR može postići i terapijskim protokolima koji nemaju PEG-INF i u skupini teško izlječivih pacijenata (genotip 1).

### Zaključak

Novi terapijski protokoli s boceprevirom i telaprevirom u kombinaciji s PEG-INF-om/RBV-om bitno su poboljšali terapijski uspjeh (SVR) kod prethodno neliječenih i liječenih pacijenata s genotipom 1, a kod velikog broja prethodno neliječenih bolesnika omogućili trajanje terapije od svega 24 tjedna. No, uspješno liječenje trostrukom terapijom zahtijeva pomno praćenje bolesnika zbog nuspojava, pažljivog praćenja koncentracije HCV RNA, interakcija između lijekova, problema sa suradljivosti bolesnika. Dodatno, bolesnici s genotipom 1, "null-responderi" s cirozom, bolesnici koji ne toleriraju PEG-INF/RBV nemaju koristi od novih, odobrenih lijekova. Nova generacija inhibitora NS3/4A-proteaza i NS5A ima povoljnija svojstva od telaprevira i boceprevira u smislu pangenetipske pokrivenosti, sigurnosti profila, manje izraženih interakcija između lijekova, bolje

farmakokinetike (uzimanja lijeka jedanput na dan). Mnogi lijekovi i njihove kombinacije koji su trenutačno u fazi ispitivanja pokazuju obećavajuće preliminarnе rezultate u lije-

čenju kronične infekcije HCV-om, iz čega se može zaključiti da će kronična infekcija HCV-om biti izlječiva kombinacijom lijekova (bez PEG-INF-a) u sljedećim godinama (44).

*Definicije koje se rabe u liječenju infekcije HCV-om*

	Termin	Opis
<b>SVR</b>	Sustained Virological Response	HCV RNA nemjerljiva 6 mjeseci nakon kraja terapije
<b>SVR-12</b>	Sustained Virological Response	HCV RNA nemjerljiva 12 tjedana nakon kraja terapije; Agencija za hranu i lijekove prihvatila je kao ishod u budućim istraživanjima
<b>RVR</b>	Rapid Virological Response	HCV RNA nemjerljiva nakon 4 tjedna terapije
<b>eRVR (BOC)</b>	<i>Extended Rapid Virological Response</i> (za boceprevir)	HCV RNA nemjerljiva (LLD, ne LLQ) između 8. i 24. tj. BOC-terapije: RGT kriterij za BOC
<b>eRVR (TLV)</b>	<i>Extended Rapid Virological Response</i> (za telaprevir)	HCV RNA nemjerljiva (LLD, ne LLQ) između 4. i 12. tj. TLV-terapije: RTG kriterij za TLV
<b>EVR</b>	Early Virological Response	Pad HCV RNA >> 2 log <sub>10</sub> u 12. tj.
<b>cEVR</b>	Complete Early Virological Response	HCV RNA nemjerljiva u 12. tj.
<b>NR (BOC)</b>	<i>Nonresponse</i> (boceprevir)	HCV RNA ≥ 100 IU/ml u 12. tj. HCV RNA mjerljiva u 24. tj.; "uzaludno" pravilo
<b>NR (TLV)</b>	<i>Nonresponse</i> (telaprevir)	HCV RNA ≥ 1.000 IU/ml u 4. ili 12. tj. HCV RNA mjerljiva u 12. tj.; "uzaludno" pravilo
<b>BT</b>	Breakthrough	HCV RNA ≥ 100 IU/ml ili porast HCV RNA ≥ 1 log <sub>10</sub> tijekom terapije
<b>RL</b>	Relapse	HCV RNA nemjerljiva EOT i povrat HCV RNA tijekom praćenja 6 mj.
<b>PR</b>	Partial Response	Pad HCV RNA ≥ 2 log <sub>10</sub> u 12. tj., ali mjerljiv u 24. tj. tijekom terapije PEG-INF-om/RBV-om
<b>NULR</b>	Null-response	Pad HCV RNA < 2 log <sub>10</sub> u 12. tj. tijekom PEG-INF/RBV
<b>LI</b>	Lead-in	4 tj. PEG-INF/RBV prije dodataka PI

## Literatura

- DIENSTAG JL, McHUTCHISON JG. American Gastroenterological Association technical review on the management of hepatitis C. *Gastroenterology* 2006;30:31-64.
- BROWN RS. Hepatitis C and liver transplantation. *Nature* 2005;36:73-8.
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2011;5:254-64.
- McOMISH F, YAPPL, DOWBC i sur. Geographical distribution of hepatitis C virus genotypes in blood donors: an international collaborative survey. *J Clin Microbiol* 1994;32:84-92.
- BUKH J, ILLER RH, URCELL RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. *Semin Liver Dis* Feb 1995; Svez. 15(1); 41-63.
- HELLER T, SAITO S, AUERBACH J i sur. An in vitro model of hepatitis C virion production. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(7): 2579-83.
- KATO T, WAKITA T. Production of infectious hepatitis C virus in cell culture. *Virus* 2005 Dec;55(2): 287-95.
- YUA X, QIAOB M, ATANASOVA I, HUB Z. Cryo-electron microscopy and three-dimensional reconstructions of hepatitis C virus particles. *Virology* 2007 Oct 10;367(1): 126-34.
- PAWLITSKY JM, PELLERIN M, BOUVIER M i sur. Genetic complexity of the hypervariable region 1 (HVR1) of hepatitis C virus (HCV) : Influence on the characteristics of the infection and responses to interferon alfa therapy in patients with chronic hepatitis C. *Journal of medical virology* 1998;54: 256-64.
- JONES C, MURRAY C, EASTMAN D, TASSELLO J, RICE C. Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. *J Virol* 2007;81: 8374-83.
- APPEL N, SCHALLER T, PENIN F, BARTENSCHLAGER R. From structure to function: new insights into hepatitis C virus RNA replication. *J Biol Chem* 2006;281: 9833-36.
- MA Y, YATES J, LIANG Y, LEMON SM, YI M. NS3 helicase domains involved in infectious intracellular hepatitis C virus particle assembly. *J Virol*. 2008;82:7624-39.
- Global surveillance and control of hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis* 1999 Jan, Svez. 6, 1,35-47.
- VERNA EC, BROWN RS. Hepatitis C virus and liver transplantation. *Semin Liver Dis* 10, 2006;10:919.
- BACKUS LI. A sustained virologic response reduces risk of all-cause mortality in patients with hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011 Jun;9(6): 509-16.

16. ASCIONE A. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin is more effective than peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treating chronic hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010 Jan;138(1):116-22.
17. RUMI MG. Randomized study of peginterferon-alpha2a plus ribavirin vs peginterferon-alpha2b plus ribavirin in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2010 Jan;138(1): 108-15.
18. McHUTCHISON JG. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009 Aug 6;361(6): 580-93.
19. GHANY MG, STRADER DB, THOMAS DL, SEEFF LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* 2009;49: 1335-74.
20. JACOBSON IM. Treatment options for patients with chronic hepatitis C not responding to initial antiviral therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:921-30.
21. DUSHEIKO G, SCHMILOVITZ-WEISS H, BROWN D i sur. Hepatitis C virus genotypes: an investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology* 1994;19:13-8.
22. McHUTCHISON JG, GORDON SC, SCHIFF ER i sur. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis. *N Engl J Med* 1998;339:1485-92.
23. MANNS MP, McHUTCHISON JG, GORDON SC i sur. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358: 958-65.
24. FRIED MW, SHIFFMAN ML, REDDY KR i sur. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-82.
25. McHUTCHISON JG, LAWITZ EJ, SHIFFMAN ML i sur. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2009;361:580-93.
26. GE D, FELLAY J, THOMPSON AJ i sur. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009;461: 399-401.
27. POORDAD F, McCONE J Jr, BACON BR i sur. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;364:1195-206.
28. JACOBSON IM, McHUTCHISON JG, DUSHEIKO G i sur. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011;364:2405-16.
29. SHERMAN KE, FLAMM SL, AFDHAL NH i sur. Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011;365:1014-24.
30. BACON BR, GORDON SC, LAWITZ E i sur. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;1207-17.
31. ZEUZEM S, ANDREONE P, POL S i sur. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011;364:2417-28.
32. GHANY MG, NELSON DR, STRADER DB, THOMAS DL, SEEFF LB. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011;54:1433-44.
33. KOCH U, NARJES F. Recent progress in the development of inhibitors of the hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *Curr Top Med Chem* 2007;7:1302-29.
34. GANE E, STEDMAN C, HYLAND R i sur. Once daily PSI-7977 plus RBV: pegylated interferon-ALFA not required for complete rapid viral response in treatment-naive patients with HCV GT2 or GT3. *Hepatology* 2011;54 (Suppl 4):377A.
35. LOK AS, GARDINER DF, LAWITZ E i sur. Preliminary study of two antiviral agents for hepatitis C genotype 1. *N Engl J Med* 2012;366: 212-24.
36. FLISIAK R, FEINMAN SV, JABLKOWSKI M i sur. The cyclophilin inhibitor Debio 025 combined with PEG IFN-alpha2a significantly reduces viral load in treatment-naive hepatitis C patients. *Hepatology* 2009;49: 1460-8.
37. NELSON DR. VX-222/telaprevir in combination with peginterferon-alfa-2a and ribavirin in treatment-naive genotype 1 HCV patients treated for 12 weeks: ZENITH study, SVR12 interim analysis. *Hepatology* 2011;54 (Suppl 1):1435A.
38. ZEUZEM S, ASSELAH T, ANGUS P i sur. Efficacy of the protease inhibitor BI 201335, polymerase inhibitor BI 207127, and ribavirin in patients with chronic HCV infection. *Gastroenterology* 2011;141: 2047-55.
39. ZEUZEM S. Virologic response to an interferon-free regimen of BI 201335 and BI 207127, with and without ribavirin, in treatment-naive patients with chronic genotype-1 HCV infection: Week 12 interim results of the SOUND-C2 study. *Hepatology* 2011;54 (Suppl 4):1436A.
40. ZEUZEM S. Dual, triple and quadruple combination treatment with a protease inhibitor (GS-9256) and a polymerase inhibitor (GS-9190) alone and in combination with ribavirin or pegylated interferon/ribavirin for up to 28 days in treatment naive genotype 1 HCV subjects. *Hepatology* 2010;52 (Suppl): 400A-401A.
41. GANE EJ. Oral combination therapy with a nucleoside polymerase inhibitor (RG7128) and danoprevir for chronic hepatitis C genotype 1 infection (INFORM-1): a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Lancet*. 2010;76:1467-75.
42. SUZUKI F. Dual oral therapy with NS5 inhibitor daclatasvir (BMS-790052) and NS3 protease inhibitor asunaprevir (BMS 650032) in HCV genotype HCV 1b infected null responders or ineligible-intolerant to peginterferon/ribavirin. *J Hepatol* 2012;56 (Suppl 2):S7.
43. LAWITZ E. A 12-week interferon-free regimen of ABT-450/R. ABT-072, and ribavirin was well tolerated and achieved sustained virological response in 91% treatment-naive HCV IL28B-CC genotype-1-infected subjects. *J Hepatol* 2012;56 (Suppl 2): S7.
44. ALEXOPOULOU A, PAPANICOLAOU GV. Current progress in the treatment of chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2012; 18(42): 6060-9.

**Adresa za dopisivanje/Corresponding adress:**

Davor Radić, dr. med.

Zavod za gastroenterologiju i hepatologiju

Klinika za unutarnje bolesti

KBC Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

10000 Zagreb, Kišpatičeva 12

e-mail: radicdavor@gmail.com

**Primljeno/Received:**

7. 12. 2012.

December 7, 2012

**Prihvaćeno/Accepted:**

25. 2. 2013.

February 25, 2013