

©Borgis

*Ewa Janczewska

Postępy w leczeniu zakażenia HCV

Advances in the treatment of HCV infection

ID Clinic, Mysłowice

Słowa kluczowe

wirus HCV, przewlekłe zapalenie wątroby typu C, leczenie przeciwwirusowe, leki o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym

Keywords

hepatitis C Virus, chronic hepatitis C, antiviral treatment, direct-acting antivirals

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów
None

Adres/address:

*Ewa Janczewska
ID Clinic
ul. Janowska 19, 41-400 Mysłowice
tel. +48 (32) 616-13-94
e.janczewska@poczta.fm

Streszczenie

Wirus HCV odkryty został w 1989 roku. Próby leczenia oparte na interferonie okazały się być mało skuteczne, a także obciążone licznymi zdarzeniami niepożądanymi. Na przestrzeni lat 90. XX wieku oraz w wieku XXI doszło do opracowania metod badawczych pozwalających na syntezę leków o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym (DAAs). Leki te stosowane są bez interferonu, w większości przypadków także bez rybawiryny i charakteryzują się skutecznością przekraczającą 95%, a nawet zbliżoną do 100%. Mają ponadto korzystny profil bezpieczeństwa, pozwalający na stosowanie ich w szczególnie trudnych grupach pacjentów (z marskością, niewydolnością wątroby, niewydolnością nerek, po przeszczepach narządowych, ze współzakażeniami HBV lub HIV). Z względu na występowanie substytucji związanych z lekoopornością na DAAs, trwają prace badawcze nad pangenotypowymi lekami o wyższej barierze genetycznej. Bardzo wysoka skuteczność nowoczesnych terapii budzi nadzieję na eradykację zakażenia HCV w skali globalnej, pod warunkiem zapewnienia szerokiego dostępu do terapii oraz lepszej wykrywalności zakażeń.

Summary

The HCV virus was discovered in 1989. Interferon-based treatments had low efficacy and have been reported with numerous adverse events. In the 1990s and in the 21st century, research methods were developed to allow the synthesis of direct-acting antivirals (DAAs). These drugs are used without interferon, in most cases also without ribavirin, and have an efficacy of more than 95% and even close to 100%. They also have a favorable safety profile that allows them to be used in particularly difficult patient groups (cirrhosis, hepatic failure, renal failure, organ transplantation, HBV or HIV coinfection). Due to the existence of substitutions related to drug resistance to DAAs, research is ongoing on pangenotypic drugs with higher genetic barrier. The very high efficacy of new therapies raises the hope of eradicating HCV infection on a global scale, provided the broad access to the treatment and better detection of infected patients.

WPROWADZENIE

Zakażenie HCV (ang. *hepatitis C virus*) jest istotnym problemem epidemiologicznym i klinicznym. Ocenia się, iż w skali świata ok. 130-150 milionów ludzi jest przewlekłe zakażonych HCV (1, 2). Liczby te wydają się być zdecydowanie niedoszacowane ze względu na bezobjawowy lub skąpoobjawowy przebieg zakażenia, który powoduje, iż wiele jego przypadków pozostaje niezdiagnozowanych. Nierozpoznane w porę i nieleczone przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C prowadzić może do rozwoju marskości, której konsekwencją jest niewydolność wątroby. Marskość wątroby sprzyja ponadto rozwojowi raka wątrobowo-

komórkowego (ang. *hepatocellular carcinoma* – HCC). Niezmiernie ważne zatem jest jak najwcześniejsze wykrywanie tej infekcji i zapewnienie możliwości skutecznego leczenia wszystkim chorym zakażonym HCV.

HISTORIA

Zapalenia wątroby o przypuszczalnie zakaźnej etiologii obserwowane i opisywane były od stuleci, jednakże dopiero druga połowa XX wieku przyniosła szczegółową wiedzę o czynnikach etiologicznych, drogach transmisji i patofizjologii wirusowych zapaleń wątroby. Pierwszym zidentyfikowanym wirusem zapalenia wątroby był wirus HBV (ang. *hepatitis B virus*)

w roku 1965 (3), kolejnym HAV (ang. *hepatitis A virus*) w roku 1973 (4). Odkrycie tych wirusów pozwoliło następnie na opracowanie testów diagnostycznych umożliwiających wykrywanie zakażeń HBV i HAV. W wielu przypadkach zapaleń wątroby nie udawało się jednak potwierdzić zakażenia tymi znanymi już wirusami.

W roku 1975 Feinstone i wsp. opisali 22 przypadki potransfuzyjnego zapalenia wątroby, w których nie potwierdzono etiologii HBV ani HAV (5). Tego typu przypadki określano następnie jako zapalenie wątroby non-A, non-B. Przypuszcza się, iż większość zapaleń wątroby non-A, non-B spowodowana była nieznanym jeszcze wówczas zakażeniem HCV. W roku 1978 dokonano transmisji zakażenia na szympansy, które stały się od tej pory podstawowym modelem zwierzęcym w badaniach nad zapaleniem wątroby non-A, non-B (6).

Rok 1989 przyniósł niezwykle istotne odkrycie: udało się wówczas wyizolować materiał genetyczny wirusa, nazwanego następnie HCV (7). Było to wydarzenie przełomowe, umożliwiające dalsze badania nad biologią wirusa, opracowanie testów diagnostycznych oraz podjęcie prób leczenia. Powszechne zastosowanie testów diagnostycznych do badania krwi przeznaczonej do przetoczeń w istotny sposób ograniczyło częstość potransfuzyjnych zapaleń wątroby.

LECZENIE ZAKAŻENIA HCV

Pierwszą substancją czynną zastosowaną w terapii wirusowego zapalenia wątroby nie-A, nie-B w roku 1986 był interferon alfa (8). Ponieważ czynnik etiologiczny nie był jeszcze wówczas poznany, jedynym efektem, jaki można było zaobserwować, była poprawa w zakresie aktywności AlAT. Przeprowadzane w latach późniejszych badania kliniczne, oparte już na badaniach z zakresu biologii molekularnej, wykazały, iż trwała skuteczność (ang. *sustained virologic response* – SVR) 24-tygodniowego leczenia interferonem (IFN) rekombinowanym wynosiła poniżej 10%, natomiast wydłużenie terapii do 48 tygodni powodowało wzrost odsetka SVR do ok. 15-20% (9-11).

W latach 90. XX wieku podejmowano próby monoterapii rybawiryną (12, 13), które powodowały jedynie poprawę w zakresie wskaźników biochemicznych, nie miały jednak żadnego wpływu na obecność materiału genetycznego HCV. Przełomowe znaczenie miało natomiast połączenie IFN i rybawiryny (RBV), zaproponowane w roku 1996 przez zespół Stefano Brillanti. Skojarzenie to niemal dwukrotnie zwiększyło skuteczność terapii, a ponadto dało szansę na wyleczenie chorym, którzy nie osiągnęli SVR po monoterapii interferonem (14, 15).

W roku 2001 zarejestrowana została udoskonalona forma IFN alfa – interferon pegylowany (Peg-IFN). Pegylacja IFN polega na połączeniu jego cząsteczki z glikolem polietylenowym. Peg-IFN z czasem całkowicie zastąpił poprzednio stosowane preparaty interferonów alfa. O jego przewadze stanowiło przede wszystkim istotne wydłużenie okresu aktywności biologicznej, które umożliwiło podawanie leku raz w tygodniu, pod-

czas gdy stosowane wcześniej IFN rekombinowane, leukocytarne lub consensus-IFN wymagały stosowania w formie iniekcji podskórnych podawanych 3 razy w tygodniu. Poza oczywistą redukcją uciążliwości terapii związaną z mniejszą częstotliwością iniekcji, Peg-IFN charakteryzował się także wyższą skutecznością terapii skojarzonej z RBV niż formy niepegylowane (16, 17). SVR można było osiągnąć już u niemal połowy leczonych pacjentów. Zaobserwowano ponadto różnice w skuteczności leczenia w zależności od genotypu HCV. Chorzy zakażeni genotypem (GT) 2 lub 3 osiągnęli wyraźnie lepsze efekty leczenia niż zakażeni innymi genotypami (18), pomimo krótszego czasu trwania terapii (24 vs. 48 tygodni). Indywidualizacja terapii oparta na genotypowaniu HCV stała się od tej pory standardem. Na skuteczność terapii, poza genotypem wirusa HCV, wpływ miało wiele czynników, m.in. zaawansowanie włóknienia, typ odpowiedzi na wcześniejsze leczenie czy też – jak wykazano w późniejszym okresie – czynniki genetyczne, zwłaszcza genotyp interleukiny 28B (19).

Pomimo iż zwiększenie skuteczności terapii z zastosowaniem Peg-IFN i RBV można uznać za sukces, wielu chorych po wyczerpaniu tej najskuteczniejszej wówczas opcji terapeutycznej pozostawało niewyleczonych. U części z nich dochodziło do progresji włóknienia i rozwoju niekorzystnych następstw marskości wątroby. Próby reterapii polegające na ponownym podaniu Peg-IFN i RBV, w tym na wydłużeniu terapii do 72 tygodni, nie dawały oczekiwanych efektów (20). W ciągu kolejnej dekady po rejestracji Peg-IFN nie odnotowano istotnego postępu w zakresie terapii zakażenia HCV. Wynikało to przede wszystkim z ograniczonych możliwości badawczych: nie istniały metody hodowli wirusa HCV *in vitro*, a jedynym odpowiednim modelem zwierzęcym były szympansy. Badania nad HCV generowały zatem bardzo wysokie koszty oraz problemy natury etycznej, związane z eksperymentami na ssakach z rzędu naczelnych. Dopiero na początku XXI wieku doszło do istotnego przełomu w zakresie badań nad biologią HCV, kiedy to po wielu latach pracy kilku zespołów badawczych udało się opracować metodę efektywnego namnażania HCV w hodowli komórek ludzkiego wątrobiaka (Huh-7), tworząc tzw. replikon HCV (21-23). Umożliwiło to dokładne poznanie struktury wirusa, identyfikację potencjalnych celów dla leków przeciwwirusowych, a także ocenę efektywności projektowanych substancji czynnych w warunkach *in vitro*. Osiągnięcie to spowodowało rozpoczęcie i szybką progresję badań nad lekami o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym (ang. *direct-acting antivirals* – DAAs).

Terapia IFN i RBV nie była de facto terapią przeciwwirusową, a opierała się przede wszystkim na efekcie immunomodulacyjnym IFN. Mechanizm działania RBV w zakażeniu HCV nie został w pełni wyjaśniony, jednakże brak efektów wirusologicznych monoterapii RBV wskazuje, iż również ona nie działała w stosunku do

HCV przeciwwirusowo w mechanizmie bezpośrednim. Leki nowej generacji działały natomiast w sposób bezpośredni, skutecznie hamując replikację HCV. Celami leków przeciwwirusowych stały się enzymy niezbędne dla procesów replikacji oraz białka niestrukturalne.

Pierwszymi zarejestrowanymi w roku 2011 lekami z grupy DAAs były inhibitory proteazy serynowej HCV, telaprewir (TVR) i boceprewir (BOC), przeznaczone do terapii chorych zakażonych GT 1 HCV. Leki te okazały się nieskuteczne w monoterapii ze względu na pojawianie się wariantów lekoopornych (24-27), podjęto zatem próby łączenia ich z Peg-IFN i RBV. Efekty terapii trójlekowych okazały się być niezwykle obiecujące, zwłaszcza u chorych wcześniej nieleczonych i z nawrotem po terapii dwulekowej. SVR uzyskiwano u ok. 75-79% pacjentów (28-32). Skuteczność terapii u chorych z brakiem odpowiedzi na wcześniejsze leczenie była wyraźnie niższa (31, 32), jednakże odsetek ten (35-50%) można było traktować jako stosunkowo wysoki u chorych, u których wyczerpano wszystkie dostępne wcześniej opcje terapeutyczne.

Niestety, leki pierwszej generacji charakteryzowały się stosunkowo częstym występowaniem zdarzeń niepożądanych, sumujących się z działaniami niepożądanymi interferonu (objawy rzekomogrypowe, cytopenie, depresja, zaburzenia funkcji tarczycy) i rybawiryny (niedokrwistość, wysypki). Głównym problemem obserwowanym w badaniach klinicznych nad TVR były wysypki skórne o różnym nasileniu występujące u około połowy pacjentów, a u ok. 5% leczonych przybierające charakter ciężkiej osutki uogólnionej. U ok. 0,5% chorych obserwowano zmiany skórne z towarzyszącą ogólnoustrojową reakcją o nasileniu stanowiącym zagrożenie życia pacjenta: zespoły DRESS, Stevens-Johnsona, Lyella (28, 29, 31). Podczas leczenia trójlekowego zarówno z TVR, jak i BOC obserwowano ponadto niedokrwistość o nasileniu większym niż podczas terapii dwulekowej Peg-IFN i RBV (28-32).

W codziennej praktyce klinicznej przełomowe terapie trójlekowe z TVR i BOC zaoferowano w pierwszej kolejności chorym z marskością wątroby w ramach programów wczesnego dostępu (ang. *compassionate use*). Chorzy ci stanowili grupę odmienną niż uczestnicy badań klinicznych, przede wszystkim ze względu na większe zaawansowanie choroby wątroby. Wielu z nich nie spełniłoby rygorystycznych kryteriów kwalifikacji do badań klinicznych.

Pierwsze istotne dane dotyczące skuteczności i bezpieczeństwa w warunkach real-life opublikowali badacze francuscy uczestniczący w projekcie ANRS-CO20, powszechnie znanym jako kohorta CUPIC, obejmująca najtrudniejszą grupę chorych: z marskością wątroby, po nieskutecznej terapii dwulekowej. Efekty terapii w tej szczególnej grupie chorych okazały się być mniej korzystne niż w randomizowanych badaniach klinicznych. Główny problem stanowiła znacznie większa częstość i nasilenie zdarzeń niepożądanych. Poważne zdarzenia niepożądane (ang. *serious adverse events* – SAE) wystąpiły u niemal połowy pacjentów podda-

nych terapiom trójlekowym, a u ok. 25% konieczne było przedwczesne zakończenie leczenia wynikające z SAE. Niedokrwistość u chorych z marskością występowała częściej i miała większe nasilenie niż u uczestników badań klinicznych, wielu chorych wymagało transfuzji masy erytrocytarnej lub podawania erytropoetyny. Pojawiły się też problemy nieobserwowane w badaniach klinicznych, takie jak dekompensacja funkcji wątroby oraz ciężkie zakażenia, w tym posocznice, a u kilku pacjentów doszło podczas terapii do zgonu. Analiza danych zebranych w kohorcie CUPIC pozwoliła na identyfikację czynników ryzyka rozwoju zagrażających życiu zdarzeń niepożądanych podczas opartej na interferonie terapii z inhibitorami proteazy pierwszej generacji. Największe, bo niemal 45% ryzyko wystąpienia takich zdarzeń, istniało u chorych z trombocytopenią < 100 000/mm³ oraz stężeniem albumin < 35 g/dL (33). Obserwacje te potwierdziły się w kolejnych badaniach kohortowych (34, 35). Zagrożenia związane z terapią trójlekową opartą na IFN sprawiły, iż niewątpliwym postępem, jakim było zastosowanie inhibitorów proteazy pierwszej generacji, nie przełożył się na możliwość skutecznego i bezpiecznego leczenia chorych z zaawansowaną marskością wątroby, którzy najbardziej i najpilniej go wymagali.

Wysiłek związany z opracowaniem leków przełamujących problemy związane z działaniami niepożądanymi DAAs zaowocował rejestracją w roku 2013 kolejnych substancji czynnych: inhibitora proteazy drugiej fali pierwszej generacji – symeprewiru (SMV) oraz nukleotydowego inhibitora polimerazy – sofosbuwiru (SOF). SMV w skojarzeniu z Peg-IFN i RBV nie wykazywał istotnej przewagi w zakresie skuteczności terapii w stosunku do swoich poprzedników, charakteryzował się natomiast znacznie korzystniejszym profilem bezpieczeństwa. Odsetek chorych, u których obserwowano wysypki lub niedokrwistość, był istotnie niższy niż w przypadku TVR lub BOC (36-38). Ponadto, lek ten mógł być stosowany także u chorych zakażonych GT 4, ze skutecznością zbliżoną do uzyskiwanej w GT 1 (39).

Sofosbuwir (SOF) jest nukleotydowym inhibitorem polimerazy HCV, działa więc na innym mechanizmie niż leki opisane powyżej. Jego największą zaletą jest pangentypowość, czyli skuteczność wobec wszystkich genotypów HCV. Mechanizm działania leku budził nadzieję, iż będzie można go stosować w monoterapii lub w skojarzeniu z RBV, bez konieczności podawania interferonu. Jednakże, badania kliniczne wykazały, iż leczenie SOF + RBV jest skuteczne przede wszystkim u chorych zakażonych GT 2 HCV (odsetek SVR sięgał 86-97%), natomiast u pacjentów zakażonych innymi genotypami dobre efekty (odsetek SVR ok. 90%) osiągnąć jedynie w terapii skojarzonej z Peg-IFN i RBV (40-42). Istotną korzyścią było jednakże skrócenie czasu trwania terapii opartej na interferonie do 12 tygodni (w terapii dwulekowej czas ten wynosił 24-48 tygodni), co wiązało się z ograniczeniem liczby zdarzeń niepożądanych. Nie rozwiązywało to jednak

problemu chorych z przeciwwskazaniami do stosowania IFN lub z jego nietolerancją.

EPOKA BEZINTERFERONOWA

Przełom w tym zakresie nastąpił po połączeniu SOF i SIM, z pominięciem IFN. W badaniu COSMOS odsetek SVR wyniósł 92-94%, w tym także u chorych z marskością wątroby i niepowodzeniem wcześniejszego leczenia Peg-IFN i RBV (43). Profil bezpieczeństwa okazał się niezwykle korzystny, co zachęciło do dalszych prób opracowania terapii bezinterferonowych złożonych z DAAs. Kolejne terapie skojarzone stały się dostępne po rejestracji pierwszego w swej klasie inhibitora białka niestrukturalnego NS5A, daklataswiru (DCV) w roku 2014. Terapia skojarzona SOF + DCV charakteryzowała się skutecznością 93-100%, a dołączenie RBV nie poprawiało efektów terapii (44). O ile terapia SOF + SIM wykazuje skuteczność w stosunku do GT 1 (zwłaszcza 1b) lub 4, skojarzenie SOF + DCV charakteryzuje się działaniem pangenotypowym.

Kolejną zarejestrowaną w Japonii terapią bezinterferonową była terapia skojarzona DCV z asunaprewirem, przeznaczona dla chorych zakażonych GT 1b.

W tym samym roku 2014, obfitującym w nowe rejestracje, zaaprobowano także leki będące preparatami złożonymi, łączącymi w jednej tabletkę dwa DAAs. Jednym z nich był ledipaswir/sofosbuwir (Harvoni®). Lek ten wykazuje wysoką skuteczność przeciwwirusową (> 95%) w stosunku do GT 1, 4, 5 i 6 HCV i może być stosowany u chorych z niewydolnością wątroby, dla których dotychczas nie istniały żadne opcje terapeutyczne (45-47).

Kolejnym preparatem złożonym był parytaprewir/rytonawir/ombitaswir (Viekirax®) stosowany w leczeniu zakażenia GT 4 łącznie z RBV, a w zakażeniu GT 1 z dazabuwirem (Exviera®) ± RBV. Skuteczność tej terapii bezinterferonowej również przekracza 95%, a w niektórych badaniach osiągała niemalże 100% skuteczność, niezależnie od zaawansowania włóknienia wątroby i historii wcześniejszego leczenia. Może ona być stosowana u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek. Zarówno ledipaswir/sofosbuwir + RBV, jak i parytaprewir/rytonawir/ombitaswir ± dazabuwir + RBV mogą być stosowane u chorych po przeszczepieniu wątroby, a także po innych przeszczepach narządowych. Wyniki badań real-life potwierdzają wysoką skuteczność i ko-

rzystny profil bezpieczeństwa tych leków w codziennej praktyce klinicznej (48-54). Mogą one być także stosowane u chorych ze współzakażeniami HBV lub HIV (z uwzględnieniem ewentualnych interakcji z lekami antyretrowirusowymi). W roku 2016 doszło do rejestracji kolejnych terapii złożonych z DAAs: grazoprewir/elbaswir (Zepatier®) stosowany w leczeniu zakażenia GT 1 lub 4 oraz pangenotypowy sofosbuwir/welpataswir (Epclusa®). Ten ostatni lek nie jest, jak dotychczas, dostępny w programach lekowych Narodowego Funduszu Zdrowia. Listę zarejestrowanych leków przedstawiono w tabeli 1.

Pomimo niezwykle wysokiej skuteczności dostępnych leków, wciąż pozostaje grupa chorych, u których terapia bezinterferonowa nie przynosi efektu. Niepowodzenia terapeutyczne związane są na ogół z pojawieniem się substytucji związanych z lekoopornością (RASs). Substytucje te, zwłaszcza występujące w regionie NS5A, mogą powodować brak skuteczności wszystkich dostępnych obecnie schematów terapeutycznych. Nadzieję na rozwiązanie tego problemu dają prowadzone obecnie badania kliniczne nad pangenotypowymi lekami o wysokiej barierze genetycznej, które, jak wynika z badań *in vitro*, mogą okazać się w pełni skuteczne, także w stosunku do RASs.

Coraz wyższa, zbliżona do 100%, skuteczność terapii bezinterferonowych budzi nadzieję na możliwość całkowitej eradykacji tego zakażenia w skali globalnej. Niezbędnym warunkiem musiałaby być jednak nieograniczona dostępność nowoczesnych terapii, a przede wszystkim powszechna i wczesna wykrywalność zakażenia HCV.

Tab. 1. Leki o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym w stosunku do HCV

Klasa leków	Nazwa
Inhibitory proteazy serynowej „-prewir”	Telaprewir Boceprewir Symeprewir Asunaprewir Parytaprewir Grazoprewir
Inhibitory NS5A „-aswir”	Daklataswir Ledipaswir Ombitaswir Elbaswir Welpataswir
Inhibitory polimerazy „-buwir”	Sofosbuwir (nukleotydomy) Dazabuwir (nienukleozydomy)

PIŚMIENNICTWO

- World Health Organization: Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021 towards ending viral hepatitis. June 2016; <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/246177/1/WHO-HIV-2016.06-eng.pdf?ua=1>.
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K et al.: Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012; 380: 2095-2128.
- Blumberg BS, Sutnick AI, London WT: Australia antigen as a hepatitis virus. Variation in host response. *Am J Med* 1970; 48: 1-8.
- Feinstone SM, Kapikian AZ, Gerin JL, Purcell RH: Buoyant density of the hepatitis A virus-like particle in cesium chloride. *J Virol* 1974 Jun; 13(6): 1412-1414.
- Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH et al.: Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975 Apr 10; 292(15): 767-770.
- Hollinger FB, Gitnick GL, Aach RD et al.: Non-A, non-B hepatitis transmission in chimpanzees: a project of the transfusion-transmitted viruses study group. *Intervirology* 1978; 10(1): 60-68.

7. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ et al.: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989 Apr; 244(4902): 359-362.
8. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB et al.: Treatment of chronic non-A, non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *N Engl J Med* 1986; 315(25): 1575-1578.
9. Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C et al.: Recombinant interferon alfa therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1989; 321(22): 1506-1510.
10. Weiland O: Interferon therapy in chronic hepatitis C virus infection. *FEMS Microbiol Rev* 1994; 14(3): 279-288.
11. Alter MJ, Mast EE, Moyer LA, Margolis HS: Hepatitis C. *Infect Dis Clin North Am* 1998; 12(1): 13-26.
12. Di Bisceglie AM, Shindo M, Fong TL et al.: A pilot study of ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology* 1992; 16(3): 649-654.
13. Dusheiko G, Main J, Thomas H et al.: Ribavirin treatment for patients with chronic hepatitis C: results of a placebo-controlled study. *J Hepatol* 1996; 25(5): 591-598.
14. 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* 1994; 107(3): 812-817.
15. Brillanti S, Miglioli M, Barbara L: Combination antiviral therapy with ribavirin and interferon alfa in interferon alfa relapsers and non-responders: Italian experience. *J Hepatol* 1995; 23 (suppl. 2): 13-15.
16. Reddy KR, Wright JL, Pockros PJ et al.: Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon alpha-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 33(2): 433-438.
17. Lindsay KL, Trepo C, Heintges T et al.: Hepatitis Interventional Therapy Group. A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001; 34(2): 395-403.
18. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR et al.: PEGASYS International Study Group: Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140(5): 346-355.
19. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G et al.: IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet* 2009; 41(10): 1100-1104.
20. 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-alpha-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006; 130(4): 1086-1097.
21. Lohmann V, Körner F, Koch J et al.: Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999; 285(5424): 110-113.
22. Blight KJ, Kolykhalov AA, Rice CM: Efficient initiation of HCV RNA replication in cell culture. *Science* 2000; 290(5498): 1972-1974.
23. Kato T, Date T, Miyamoto M et al.: Efficient replication of the genotype 2a hepatitis C virus subgenomic replicon. *Gastroenterology* 2003; 125(6): 1808-1817.
24. Gentile I, Viola C, Borgia F et al.: Telaprevir: a promising protease inhibitor for the treatment of hepatitis C virus infection. *Curr Med Chem* 2009; 16(9): 1115-1121.
25. Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N et al.: Sustained virological response in a patient with chronic hepatitis C treated by monotherapy with the NS3-4A protease inhibitor telaprevir. *J Clin Virol* 2010 Jan; 47(1): 76-78.
26. Susser S, Welsch C, Wang Y et al.: Characterization of resistance to the protease inhibitor boceprevir in hepatitis C virus-infected patients. *Hepatology* 2009 Dec; 50(6): 1709-1718.
27. Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ et al.: Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a phase Ib, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology* 2006 Oct; 131(4): 997-1002.
28. Burney T, Dusheiko G: Overview of the PROVE studies evaluating the use of telaprevir in chronic hepatitis C genotype 1 patients. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011; 9(2): 151-160.
29. Jacobson I, McHutchison J, Dusheiko D et al.: Telaprevir for Previously Untreated Chronic Hepatitis C Virus Infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 2405-2416.
30. Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR et al.: Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364(13): 1195-1206.
31. Zeuzem S, Andreone P, Pol S et al.: Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011; 364(25): 2417-2428.
32. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E et al.: Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364(13): 1207-1217.
33. 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* 2013; 59: 434-441.
34. Colombo M, Strasser S, Moreno C et al.: Sustained virological response with telaprevir in 1078 patients with advanced hepatitis C: The international telaprevir access program. *J Hepatol* 2014; 61(5): 976-983.
35. Janczewska E, Flisiak R, Zarebska-Michaluk D et al.: Effect of Peginterferon or Ribavirin Dosing on Efficacy of Therapy With Telaprevir in Treatment-Experienced Patients With Chronic Hepatitis C and Advanced Liver Fibrosis. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(38): e1411.
36. Manns M, Marcellin P, Poordad F et al.: Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2014; 384(9941): 414-426.
37. Forns X, Lawitz E, Zeuzem S et al.: Simeprevir with peginterferon and ribavirin leads to high rates of SVR in patients with HCV genotype 1 who relapsed after previous therapy: a phase 3 trial. *Gastroenterology* 2014; 146(7): 1669-1679.
38. Reddy KR, Zeuzem S, Zoulim F et al.: Simeprevir versus telaprevir with peginterferon and ribavirin in previous null or partial responders with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (ATTAIN): a randomised, double-blind, non-inferiority phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* 2015; 15(1): 27-35.
39. Moreno C, Hezode C, Marcellin P et al.: Efficacy and safety of simeprevir with PegIFN/ribavirin in naïve or experienced patients infected with chronic HCV genotype 4. *J Hepatol* 2015; 62(5): 1047-1055.
40. Gane EJ, Stedman CA, Hyland RH et al.: Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C. *N Engl J Med* 2013; 368(1): 34-44.
41. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV et al.: Sofosbuvir for Hepatitis C Genotype 2 or 3 in Patients without Treatment Options. *Engl J Med* 2013; 368(20): 1867-1877.
42. Lawitz E, Mangia A, Wyles D et al.: Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2013; 368(20): 1878-1887.
43. Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R et al.: Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naïve patients: the COSMOS randomised study. *Lancet* 2014; 384(9956): 1756-1765.
44. Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M et al.: Daclatasvir plus sofosbuvir for Previously Treated or Untreated Chronic HCV Infection. *N Engl J Med* 2014; 370: 211-221.
45. Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P et al.: Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014; 370(20): 1889-1898.
46. Afdhal N, Reddy KR, Nelson DR et al.: Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014; 370(16): 1483-1493.
47. Charlton M, Everson GT, Flamm SL et al.: Ledipasvir and Sofosbuvir Plus Ribavirin for Treatment of HCV Infection in Patients With Advanced Liver Disease. *Gastroenterology* 2015; 149(3): 649-659.
48. Ferenci P, Bernstein D, Lalezari J et al.: ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with or without ribavirin for HCV. *N Engl J Med* 2014; 370(21): 1983-1992.
49. Dore GJ, Conway B, Luo Y et al.: Efficacy and safety of ombitasvir/paritaprevir/r and dasabuvir compared to IFN-containing regimens in genotype 1 HCV patients: The MALACHITE-I/II trials. *J Hepatol* 2016; 64(1): 19-28.
50. Feld JJ, Moreno C, Trinh R et al.: Sustained virologic response of 100% in HCV genotype 1b patients with cirrhosis receiving ombitasvir/paritaprevir/r and dasabuvir for 12 weeks. *J Hepatol* 2016; 64(2): 301-317.
51. Pockros PJ, Reddy KR, Mantry PS et al.: Efficacy of Direct-Acting Antiviral Combination for Patients With Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection and Severe Renal Impairment or End-Stage Renal Disease. *Gastroenterology* 2016 Jun; 150(7): 1590-1598.
52. Kwo PY, Mantry PS, Coakley E et al.: An Interferon-free Antiviral Regimen for HCV after Liver Transplantation. *N Engl J Med* 2014; 371: 2375-2382.
53. Gentil MA, González-Corvillo C, Perelló M et al.: Hepatitis C Treatment With Direct-Acting Antivirals in Kidney Transplant: Preliminary Results From a Multicenter Study. *Transplant Proc* 2016; 48(9): 2944-2946.
54. Flisiak R, Janczewska E, Wawrzynowicz-Syczewska M et al.: Real-world effectiveness and safety of ombitasvir/paritaprevir/ritonavir ± dasabuvir ± ribavirin in hepatitis C: AMBER study. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 44(9): 946-956.
55. Di Maio VC, Cento V, Lenci I et al.: Multiclass HCV resistance to direct-acting antiviral failure in real-life patients advocates for tailored second-line therapies. *Liver Int* 2017. DOI: 10.1111/liv.13327 [Epub ahead of print].