

# Univerzita Karlova v Praze

## 1. lékařská fakulta



MUDr. Jan Šperl, CSc.

### Léčba virových hepatitid u imunosuprimovaných pacientů

Habilitační práce

Praha 2017



## ***Poděkování***

Děkuji přednostovi Kliniky hepatogastroenterologie IKEM prof. MUDr. Juliu Špičákovi, CSc. za trvalou podporu mé práce hepatologa a za pomoc při rozvíjení programu léčby virových hepatitid v IKEM. Děkuji přednostovi Interní kliniky UVN a 1. LF UK Praha prof. MUDr. Miroslavu Zavoralovi, Ph.D., který mi umožnil předávat mé zkušenosti z hepatologie studentům fakulty a tím i získat potřebnou pedagogickou praxi.

Velký dík patří mým nejbližším spolupracovníkům, MUDr. Soně Fraňkové, Ph.D., za spolupráci při léčbě pacientů s chronickými virovými hepatitidami, její podíl na řešení výzkumných projektů a přípravě společných publikací, a taktéž prof. MUDr. Mgr. Milanu Jirsovi CSc. za vynikající laboratorní zázemí pro naši práci i za cenné rady při přípravě společných publikací.

Ve svém poděkování nemohu zapomenout na významné hepatology někdejší I. interní kliniky FVL UK Praha prof. MUDr. Zdeňka Marečka, DrSc. a prof. MUDr. Marii Brodanovou, DrSc., pod jejichž vedením jsem léčil první pacienty s chronickými virovými hepatitidami. Milá vzpomínka na čas zde strávený a velké poděkování patří i pracovníkům Laboratoře pro poruchy krvevorné soustavy a jater, kteří vedli mé první kroky v laboratorní práci, prof. MUDr. Milanu Jirsovi, DrSc., prof. MUDr. Pavlu Martáskovi, DrSc., RNDr. Petru Kotalovi, DrSc., i doc. MUDr. Vratislavu Dufkovi, CSc.



## **Obsah**

Poděkování .....	3
Seznam zkratk .....	7
Chronická hepatitida B .....	9
Virus hepatitidy B .....	9
Replikační cyklus .....	9
Přirozený průběh HBV infekce.....	10
Diagnostika .....	11
Léčba.....	12
Vakcinace .....	14
Reaktivace HBV .....	15
Klinický obraz reaktivace HBV .....	15
Prevence reaktivace HBV .....	18
Pacienti s poruchou funkce ledvin .....	20
Závěr k léčbě HBV .....	22
Chronická hepatitida C .....	23
Úvod .....	23
Replikační cyklus HCV .....	23
Výskyt a přenos onemocnění .....	26
Přirozený průběh infekce virem hepatitidy C.....	26
Éra léčby interferonem a ribavirinem .....	28
Éra přímo působících antivirotik.....	30
Revoluční léčba bez interferonu .....	31
Konec interferonové éry .....	33
Počátek bezinterferonové léčby .....	34
Fixní kombinace DAA: úplné opuštění režimů založených na IFN- $\alpha$ .....	34
Indikace k protivirové léčbě .....	39

Screening HCV infekce .....	41
Vyšetření pokročilosti jaterního onemocnění před léčbou .....	42
Léčba specifických skupin pacientů .....	42
Pacienti s kompenzovanou a dekompenzovanou cirhózou jater .....	42
Hepatitida C a transplantace jater .....	43
Koinfekce HBV/HCV .....	45
Imunosuprimovaní pacienti .....	45
Pacienti v programu náhrady funkce ledvin .....	47
Závěr k léčbě HCV .....	51
Zhodnocení významu vlastních výsledků .....	52
Seznam příloh .....	58
Literatura .....	59

## **Seznam zkratek**

ADV	adefovir
ALT	alaninaminotransferáza
ccc DNA	covalently-closed circular DNA
CKD	chronic kidney disease
ČR	Česká republika
DAA	direct-acting antivirals
DCV	daclatasvir
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DSV	dasabuvir
EBR	elbasvir
ETV	entecavir
EU	Evropská unie
GF	glomerulární filtrace
GLE	glecaprevir
GT	genotyp
GZR	grazoprevir
HBsAg	Hepatitis B surface antigen
HBcAg	Hepatitis B core antigen
HBeAg	Hepatitis B secretory core antigen
HBV	virus hepatitidy B
HCV	virus hepatitidy C
HCC	hepatocelulární karcinom
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IFN- $\alpha$	interferon alfa
IFN- $\gamma$	interferon gamma
kDa	kiloDalton
LAM	lamivudin
LDV	ledipasvir
LTx	transplantace jater
NA	nukleos/tidová analoga
NCR	non-coding region
OMB	ombitasvir
PBMC	peripheral blood mononuclear cells
Peg-IFN- $\alpha$	pegylovaný interferon $\alpha$
PIB	pibrentasvir
PTV	paritaprevir
RdRp	RNA dependentní RNA polymeráza
RAV	resistance-associated variant
RBV	ribavirin
RNA	ribonukleová kyselina
r/PTV	ritonavirem potencovaný paritaprevir
RRT	renal replacement therapy
SIM	simeprevir
SOF	sofosbuvir
SVR	setrvalá virologická odpověď

T	týden
TBV	telbivudin
TAF	tenofovir alafenamid
TDF	tenofovir disoproxil
TLR	toll-like receptor
TNF- $\alpha$	tumor necrosis factor $\alpha$
SNP	single nucleotid polymorphism
VEL	velpatasvir
VOX	voxilaprevir



## **Chronická hepatitida B**

### **Virus hepatitidy B**

Virem hepatitidy B (HBV) je celosvětově infikováno asi 350–400 milionů osob. Tři čtvrtiny jich žijí v tzv. endemických oblastech Asie, Jižního Pacifiku, subsaharské Afriky a Středního Východu. Prevalence chronické HBV infekce v České republice (ČR) je podle údajů z roku 2001 nízká, jen 0,56 % HBsAg pozitivních osob, ale 6 % anti-HBc pozitivních. HBV infekce se přenáší parenterální cestou. Přenos je perinatální, transkutánní a sexuální<sup>1,2</sup>. HBV si udržuje virulenci po dlouhou dobu i mimo organismus. Virus hepatitidy B patří mezi *Hepadnaviridae*. HBV DNA tvoří cirkulární, parciálně dvojitá DNA, složená z přibližně 3200 párů bází. Ve virovém genomu lze identifikovat 4 zčásti se překrývající otevřené čtecí rámce, kódující povrchový (surface) protein (pre-S/S), vnitřní (core) protein (precore/core), virovou polymerázu a transkripční faktor X-protein<sup>3</sup>. Pre-S/S otevřený čtecí rámec kóduje 3 varianty povrchového glykoproteinu (HBs antigenu), small (S), middle (M) a large (L). Translací precore/core otevřeného čtecího rámce vzniká precore polypeptid, který se v posttranslační úpravě štěpí na nukleokapsidový, vnitřní protein (HBc antigen), a na sekreční, nestrukturální protein (HBe antigen). Virus hepatitidy B je klasifikován do 8 genotypů (A – H) podle sekvence genomu, jednotlivé genotypy mají odlišnou geografickou distribuci. Genotyp A se vyskytuje nejvíce v Severní Americe, severní Evropě, Indii a v Africe. Genotypy B a C v Asii, genotyp D v jižní Evropě, na Středním Východě a v Indii, genotyp E v západní a v jižní Africe, genotyp F v Jižní a ve Střední Americe a genotyp G v USA a Evropě.

### **Replikační cyklus**

HBV začíná vazbou HBV k hepatocytu. Virus nejspíše vstupuje do hepatocytu receptorem zprostředkovanou endocytózou, kdy řídicí strukturou je pre-S1 oblast L-HBs antigenu<sup>4,5</sup>. V jádře hepatocytu se dokončí syntéza plus vláknů HBV DNA, čímž je virový genom konvertován do molekuly podobné plazmidu nazývané cccDNA (covalently-closed circular DNA)<sup>6,7</sup>. cccDNA je templátem pro syntézu pregenomické RNA, která je transkribována do minus vláknů HBV DNA. Kompletování nukleokapsidových proteinů a virových partikulí probíhá v endoplazmatickém retikulu, odkud virové částice opouštějí buňku<sup>8</sup>. Kompletní virové partikule obsahují kromě virové DNA také virovou DNA

polymerázu – reverzní transkriptázu. Sérum infikovaných osob obsahuje kromě kompletních virů též inkompletní viriony složené pouze z virových antigenů zvaných Daneho partikule<sup>9</sup>.

### ***Přirozený průběh HBV infekce***

Virus hepatitidy B není cytopatogenní, poškození hepatocytů je zprostředkováno imunitními mechanismy. Replikace HBV spouští rychle buněčnou i humorální odpověď proti virovým proteinům (povrchovému, core, proti HBe proteinu i virové polymeráze)<sup>10</sup>. Protilátky anti-HBs brání dalšímu vstupu viru do dosud neinfikovaných hepatocytů, zatímco CD8+ lymfocyty indukují apoptózu infikovaných buněk<sup>11</sup>. Mechanismy vrozené imunity mají též významnou úlohu v kontrole HBV infekce, virová DNA a virové proteiny aktivují toll-like receptory (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 a TLR9)<sup>12</sup> s následnou produkcí efektorových cytokinů (TNF- $\alpha$ , interferon- $\alpha$ , interleukin-2)<sup>13</sup>. NK buňky mají významnou úlohu v kontrole HBV infekce a v zabránění reaktivace. V průběhu replikační fáze HBV infekce se v infikovaných hepatocytech syntetizuje velké množství HBs antigenu a HBe antigenu, protilátky anti-HBs a anti-HBe jsou vyvázány v imunokomplexech a nejsou prokazatelné. HBc antigen se do krve nevyučuje ve významném množství, je přítomen na membránách hepatocytů a protilátka anti-HBc je prokazatelná od počátku infekce (Tab. 1). V průběhu chronické infekce progreduje fibróza jater až do stadia pokročilé cirhózy s portální hypertenzí a komplikacemi s vysokým rizikem vzniku hepatocelulárního karcinomu (HCC)<sup>14</sup>. Spontánní dosažení kontroly virové infekce se projeví poklesem virémie, sérokonverzí na anti-HBe a stabilizací jaterní choroby<sup>15</sup>. Nepříznivou cestou vývoje chronické hepatitidy B je mutací viru podmíněný přechod do tzv. HBeAg negativní formy chronické hepatitidy B. Bodová mutace v precore/core oblasti virového genomu má za následek zastavení syntézy HBeAg. HBeAg negativní forma chronické hepatitidy se vyznačuje vyšší zánětlivou aktivitou a horší odpovědí na léčbu interferonem- $\alpha$ . Riziko přechodu onemocnění do chronicity s věkem postupně klesá od 90 % u novorozenců na 25–30 % u dětí do věku 5 let a na méně než 10 % u dospělých.

**Tabulka 1:** Fáze chronické HBV infekce (upraveno podle<sup>16</sup>).

<b>Fáze infekce</b>	<b>Laboratorní profil</b>	<b>Rizika</b>
Imunotolerance (nově fáze 1)	HBV DNA vysoce pozitivní HBsAg pozitivní HBeAg pozitivní ALT normální	Přenos na blízké osoby
Imunoclearance (nově fáze 2)	HBV DNA klesá HBsAg pozitivní HBeAg pozitivní ALT fluktuace hodnot	Jaterní cirhóza HCC v cirhóze
Inaktivní nosič (nově fáze 3)	HBV DNA velmi nízká HBsAg pozitivní HBeAg negativní anti-HBe pozitivní ALT normální	Vznik HCC Reaktivace
HBeAg negativní chronická hepatitida (nově fáze 4)	HBV DNA vysoká HBsAg pozitivní HBeAg negativní ALT vysoká	Jaterní cirhóza HCC v cirhóze
HBsAg negativita (nově fáze 5)	HBsAg negativní anti-HBs pozitivní/negativní anti-HBc pozitivní ALT normální HBV DNA velmi nízká, ale prokazatelná	Nosokomiální přenos okultní infekce Reaktivace při imunosupresi
Reaktivace HBV	HBsAg pozitivní HBeAg pozitivní/negativní anti-HBc pozitivní ALT vysoká HBV DNA vysoká	Akutní selhání jater Fibrotizující cholestatická hepatitida

### **Diagnostika**

Základem je vyšetření sérologických markerů HBV infekce, tj. antigenů i protilátek (HBsAg, HBeAg, anti-HBs, anti-HBe, anti-HBc a IgM anti-HBc). Virémie, tj. koncentrace HBV DNA v séru, je ukazatelem replikace viru, kvantitativní stanovení virémie je podmínkou pro správnou indikaci léčby i pro monitorování účinnosti léčby. Určení genotypu HBV je

důležitým faktorem při rozhodování, zda léčbu zahajovat pegylovaným IFN- $\alpha$  nebo syntetickým antivirotikem (nukleosidovým nebo nukleotidovým analogem, NA).

## **Léčba**

Léčení mají být HBeAg pozitivní pacienti s virémií vyšší než 20000 IU/ml, u HBeAg negativní formy již s virémií nad 2000 IU/ml. U HBeAg pozitivních pacientů s alespoň střední fibrózou jater má být léčba zahájena již při virémii nad 2000 IU/ml, u pacientů s jaterní cirhózou při jakékoliv prokazatelné virémii<sup>16</sup>. Dalším předpokladem pro zahájení protivirové léčby je zánětlivá aktivita, tj. zvýšení sérové aktivity ALT (alaninaminotransferázy). V léčbě chronické hepatitidy B rozlišujeme dva základní postupy: *časově omezenou léčbu*, jejímž cílem je dlouhodobé snížení virémie, které trvá i po ukončení léčby (tzv. odpověď „na léčbu po léčbě“). U HBeAg pozitivní formy chronické hepatitidy B je sérologickým korelátům HBeAg sérokonverze, tj. vymizení HBeAg a průkaz anti-HBe. Nepodaří-li se časově omezenou léčbou dosáhnout sérokonverze HBeAg nebo setrvalé virologické odpovědi u HBeAg negativní formy, jsou pacienti indikováni k dlouhodobé *časově neomezené léčbě*, jejíž cílem je dlouhodobě suprimovat replikaci HBV (tzv. odpověď „na léčbu při léčbě“)<sup>16</sup>. K léčbě chronické hepatitidy B lze použít interferony  $\alpha$  resp. pegylovaný IFN- $\alpha$ -2a<sup>17-19</sup> nebo tzv. syntetická antivirotika. Z hlediska dosahování HBeAg sérokonverze po časově omezené léčbě trvající 1 rok jsou dosud používané léky na chronickou hepatitidu B (tj. pegylovaný IFN- $\alpha$  a syntetická antivirotika) srovnatelné. Účinnost časově omezené léčby je u všech zmíněných léků přímo úměrná imunitní odpovědi na virové antigeny, tzn. je přímo úměrná iniciální aktivitě ALT v séru. Účinnost pegylovaného IFN- $\alpha$  je navíc závislá na genotypu HBV, nejúčinnější je u genotypu A. Léčbou pegylovaným IFN- $\alpha$ -2a trvající 48 týdnů lze navodit setrvalou virologickou odpověď přibližně u jedné třetiny pacientů HBeAg pozitivních i negativních, u části z nich léčba vede až k HBsAg negativitě. Na rozdíl od NA je virologická odpověď navozená léčbou pegylovaným IFN- $\alpha$  u pacientů s HBeAg negativní formou ve většině setrvalá. Marcellin<sup>20</sup> popsal na souboru HBeAg negativních pacientů léčených pegylovaným IFN- $\alpha$ -2a významnou supresi virémie u 31% pacientů 1 rok po léčbě, z nich 88 % udrželo supresi virémie i 5 let po léčbě. Entekavirem (ETV) lze dosáhnout po 48 týdnech supresi virémie u 93 % pacientů, avšak 6 měsíců po ukončení léčby je suprese virémie přítomna jen u 3 % pacientů. Proces imunitní kontroly HBV infekce se naopak prohlubuje po skončení léčby

pegylovaným IFN- $\alpha$ -2a, ze zmíněných 31 % HBeAg negativních pacientů, kteří dosáhli setrvalé virologické odpovědi, jich 28 % do 5 let po léčbě dosáhlo HBsAg negativity (12 % celkem). Užitečným prediktorem úspěšnosti léčby je pokles koncentrace HBsAg v séru<sup>21</sup>. Vzhledem k nedobré toleranci léčby pegylovaným IFN- $\alpha$  a riziku závažných nežádoucích účinků je léčba vhodná pouze pro mladé, jinak zdravé pacienty s chronickou hepatitidou B, kteří se díky plošnému očkování v ČR již prakticky nevyskytují.

NA jsou nukleotidová nebo nukleosidová analoga na bázi uracilu, která mají vysokou afinitu k aktivnímu centru virové DNA polymerázy – reverzní transkriptázy, jejich aktivní fosforylované metabolity se vestavují pro řetězce DNA a ukončují jeho prodlužování. Účinnost NA je porovnávána pomocí dvou parametrů. Prvním parametrem je protivirová účinnost, vyjádřená jako podíl léčených pacientů s negativní virémií, obvykle po jednom roce léčby, druhým parametrem je rezistenční bariéra, obvykle vyjádřená jako podíl pacientů, kteří vyvinou rezistenci na daný lék za určité období. Podstatou vzniku rezistence jsou bodové mutace v oblasti kódující virovou DNA polymerázu, jejíž aktivní centrum ztrácí afinitu k aktivnímu metabolitu příslušného léku. NA jen parciálně ovlivňují intracelulární koncentraci cccDNA a jejich dlouhodobé podávání proto nevede k eliminaci HBV infekce. Hovoříme proto o dlouhodobé supresi virémie na léčbě. Nicméně dlouhodobá suprese virémie má příznivé účinky na vývoj jaterního onemocnění, snižuje mortalitu u dekompenzovaných cirhotiků<sup>22,23</sup>, vede k regresi fibrózy jater a portální hypertenze, a snižuje riziko dekompenzace jaterní cirhózy. Riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu snižuje dlouhodobá léčba NA jen pozvolna, signifikantní pokles rizika nastává až po 5 letech léčby<sup>24-26</sup>. První generaci NA představuje lamivudin (LAM), lék s vynikající iniciační protivirovou aktivitou<sup>27-29</sup>, ale s nízkou rezistenční bariérou. Účinnost LAM s dobou léčby rychle klesá díky selekci rezistentních mutací, po 5 letech léčby má rezistenci až 70 % léčených pacientů, LAM již nemá být používán k léčbě chronické hepatitidy B v monoterapii. LAM v monoterapii je díky nízké toxicitě nadále používán k profylaxi (nikoliv k léčbě) reaktivace hepatitidy B u imunosuprimovaných a onkologických pacientů. Druhou generaci reprezentuje adefovir (ADV), jeho protivirová účinnost je nižší ve srovnání s LAM, ale rezistenci má jen třetina pacientů po 5 letech léčby<sup>30,31</sup>. ADV byl již vyřazen z nabídky a nahrazen tenofovir dipivoxilem (TDF). Ke druhé generaci lze řadit i telbivudin (TBV), jehož protivirová účinnost je dobrá, ale nárůst

rezistence podobně rychlý jako u ADV, v ČR nebyl nikdy uveden na trh<sup>32</sup>. NA první volby pro dlouhodobou léčbu jsou dnes TDF nebo tenofovir alafenamid (TAF) a entekavir (ETV) díky hluboké supresi virémie a vynikajícímu rezistenčnímu profilu<sup>33-35</sup>. Tyto léky se proto označují jako antivirotika třetí generace. Na TDF nebyla dosud popsána rezistentní mutace, na entekavir jen v 1,2 % případů po 3 letech u pacientů dosud neléčených, tzn. bez rezistence na LAM. Pacienti s rezistencí na LAM ale relativně rychle vyvíjejí rezistenci i na ETV, ve 43 % po 5 letech léčby<sup>35,36</sup>. ETV je proto vhodný zejména pro pacienty, kteří dosud jiný NA nedostávali. Léčbu NA lze dle současných doporučení ukončit jen po dosažení sérokonverze na anti-HBe u HBeAg pozitivní formy chronické hepatitidy B nebo po dosažení sérokonverze na anti-HBs u HBeAg negativní formy chronické hepatitidy B. Jinak je předčasné ukončení léčby NA spojeno s vysokým rizikem relapsu. Zhodnocením 1716 pacientů z 25 různých studií bylo prokázáno, že setrvalé virologické odpovědi 3 roky po předčasném ukončení léčby dosáhlo jen 51 % pacientů HBeAg pozitivních a 30 % pacientů HBeAg negativních<sup>37</sup>. Tolerance dlouhodobé léčby NA je vynikající, myopatie, nefropatie, neuropatie a laktátová acidóza byly popsány jen v ojedinělých případech<sup>38</sup>. Problémem může být zhoršení preexistující renální insuficience zejména u starších osob vlivem léčby TDF. Nová léková forma tenofoviru, TAF, je k ledvinám šetrnější díky změněné distribuci volného tenofoviru, který se více koncentruje v hepatocytech při nižších koncentracích v plazmě<sup>39,40</sup>. TAF je lékem volby i pro pacienty se sníženou kostní densitou v době zahájení léčby.

## ***Vakcinace***

Vakcinace je účinným postupem pro zabránění přenosu HBV infekce a z celosvětového hlediska bude rozhodujícím postupem v eradikaci HBV infekce. V ČR se od 80. let očkují rizikové skupiny obyvatelstva (zdravotníci, hemodialyzovaní pacienti, děti HBsAg pozitivních matek). Podle Vyhlášky Ministerstva zdravotnictví 439/2000 Sb. o očkování proti přenosným nemocem bylo zahájeno plošné očkování kojenců a dětí ve věku 12 let. Od zahájení plošného očkování incidence případů akutní hepatitidy B v ČR i v dalších zemích klesá. Byl popsán i pokles incidence hepatocelulárního karcinomu v zemích s plošným očkováním<sup>41,42</sup>.

První bezpečná a účinná vakcína proti viru hepatitidy B byla použita v roce 1982. Jednalo se o tzv. vakcínu první generace nebo též vakcínu získávanou z plazmy pacientů s HBV infekcí. Vakcína obsahovala vysoce purifikované partikule HBsAg, které byly inaktivovány teplem a kombinací ury, pepsinu a formaldehydu. Způsob izolace HBsAg z plazmy pacientů byl bezpečný a pokud byl dodržen, vylučoval riziko přenosu jiných patogenů. V polovině 80. let začala být nahrazována vakcínou druhé generace, tzv. rekombinantní<sup>43</sup>. Rekombinantní vakcína obsahuje partikule HBsAg, které jsou produkovány transfekovanými kvasinkami (např. *Sacharomyces cerevisiae*), partikule HBsAg produkované kvasinkami jsou identické s těmi, které se vyskytují v plazmě infikovaných osob. Téměř neomezená produkce HBsAg kvasinkami měla za následek zlevnění vakcíny a umožnila významně rozšířit okruh očkovaných. Tři dávky vakcíny poskytují trvalou ochranu u 99 % očkovaných dospělých i dětí. Třetí generace vakcín proti HBV obsahuje preS1 nebo i preS2 proteiny spolu s produkty S-genu (HBs antigeny) v kombinaci s novými adjuvans. Takové vakcíny vykazují vyšší imunogenicitu a jsou určeny pro imunokompromitované pacienty, kteří nezareagovali na podání konvenční rekombinantní vakcíny<sup>44</sup>. Vakcíny třetí generace nejsou v ČR běžně dostupné.

K pasivní imunizaci se používá hyperimunní gamaglobulin získávaný z krve séropozitivních osob. V ČR je k dispozici preparát NeoHepatect® (výr. Biotest) určený k intravenózní aplikaci. Jeho podání je indikováno k postexpoziční ochraně neočkovaných osob, dále se podává novorozencům HBsAg pozitivních matek. V obou případech se současně zahajuje vakcinace. Specifickou indikací pro podávání je profylaxe reinfekce štěpu jater u pacientů, kteří byli transplantováni pro jaterní cirhózu B. V tomto případě je nutné trvalé a doživotní podávání za účelem udržení hladiny anti-HBs nad 100 IU/ml<sup>45</sup>.

## ***Reaktivace HBV***

### ***Klinický obraz reaktivace HBV***

Chronická hepatitida B je morfologicky charakterizována jako nekroticko-zánětlivý proces s následnou fibrotizací a přestavbou jater a je výsledkem imunitně zprostředkovaných pochodů. Cílovými strukturami, proti kterým se buněčná imunitní reakce obrací, jsou virové antigeny v komplexu s HLA I antigeny na membránách infikovaných hepatocytů. Imunosupresivní léčba oslabí funkci NK buněk a imunitní

kontrolu HBV infekce, oslabí také intracelulární mechanismy vrozené imunity, které kontrolují úroveň replikace viru. Replikace HBV v hepatocytech při imunosupresi se zvyšuje, zvyšuje se podíl infikovaných hepatocytů v játrech. Virová nálož v hepatocytech může dosáhnout úrovně, kdy již vede k přímému poškození infikovaných hepatocytů, virus hepatitidy B se tím stává cytopatogenní. Klinickým obrazem popsaných pochodů je rozvoj vzplanutí chronické hepatitidy („flare-up“), v krajním případě i fulminantní hepatitida se selháním jater, tj. reaktive hepatitidy. Imunosupresivní léčba může vést k výraznému nárůstu virémie a vzplanutí hepatitidy u nejen u neléčeného pacienta s chronickou hepatidou B, který má prokazatelnou virémii, ale i u dosud inaktivního nosiče viru (HBsAg pozitivního), který má velmi nízkou či neprokazatelnou virémii. Reaktivací hepatitidy B jsou ohroženi i lidé, kteří v minulosti prodělali infekci virem hepatitidy B, jsou již HBsAg negativní, a lze je identifikovat pouze podle positivity protilátek proti core antigenu viru, anti-HBc. Substrátem pro reaktivaci HBV je zmíněná cccDNA perzistující v hepatocytech<sup>46</sup>. Při imunosupresivní léčbě se může HBsAg u osob, které HBV infekci „prodělaly“, stát znovu pozitivním (reverze), a pak následuje reaktivace HBV (Tab. 2).

**Tabulka 2.** Osoby ohrožené reaktivací HBV.

	<b>HBsAg</b>	<b>anti-HBc</b>	<b>HBV DNA (IU/ml)</b>
<b>Chronická hepatitida B, HBeAg pozitivní forma</b> <i>(fáze 1 a 2 dle nové nomenklatury)</i>	pozitivní	pozitivní	>20000
<b>Chronická hepatitida B, HBeAg negativní forma</b> <i>(fáze 4 dle nové nomenklatury)</i>	pozitivní	pozitivní	>2000
<b>Inaktivní nosič HBV</b> <i>(fáze 3 dle nové nomenklatury)</i>	pozitivní	pozitivní	0–2000
<b>Stav po hepatidě B</b> <i>(fáze 5 dle nové nomenklatury)</i>	negativní	pozitivní	negativní

Stěžejním bodem, který modifikuje průběh onemocnění jater při chronické HBV infekci u osob léčených imunosupresivou, je zvýšení úrovně replikace viru, zvýšení virové nálože v hepatocytech<sup>47</sup>. Výsledkem je vzplanutí zánětu, zrychlení procesu fibrózy jater, rozvoje cirhózy<sup>48</sup> a jejích komplikací, a vznik hepatocelulárního karcinomu<sup>49</sup>. Incidence hepatocelulárního karcinomu u imunosuprimovaných osob je vyšší než v běžné populaci,



a to zejména u osob s chronickou HBV infekcí. Dalším možným mechanismem v poškození jater virem hepatitidy B při imunosupresi je přímá toxicita virových proteinů intracelulárně. Tímto způsobem se vysvětluje méně obvyklá, ale nebezpečná forma reaktivace HBV, tzv. fibrotizující cholestatická hepatitida<sup>50</sup>. Třetím mechanismem, kdy imunosupresiva mohou poškodit játra, je náhlé ukončení jejich podávání. Imunosupresiva oslabují cytotoxickou reakci HBV-specifických T-lymfocytů, která je namířená proti infikovaným hepatocytům. Po vysazení imunosupresiv se cytotoxická reakce vedoucí k nekróze či apoptóze hepatocytů obnoví a přestřelí (rebound fenomén). Po vysazení imunosuprese se tak může rozvinout fulminantní hepatitida se selháním jater. Dalším důsledkem oslabené cytotoxické reakce proti infikovaným hepatocytům je vysoká pravděpodobnost přechodu do chronicity u osob, které HBV infekci akvírovaly při imunosupresivní léčbě<sup>51</sup>.

Reaktivace hepatitidy B je obvykle definována jako opětná pozitivita virémie u inaktivního nosiče nebo její vzestup o více než 1 log (nebo o 20000 IU/ml) u pacienta s aktivní chronickou hepatitidou. U osob s pouhou anti-HBc pozitivitou výše popsaným pochodem musí ještě předcházet reverze HBsAg. Po vzestupu virémie následuje vzplanutí zánětu, které se projeví vzestupem aktivity ALT v séru. Tíže vzplanutí hepatitidy je definováno výší ALT, mírné do trojnásobku normy, střední mezi trojnásobkem a desetinásobkem, vyšší aktivita ALT znamená těžké vzplanutí hepatitidy<sup>52</sup>. Reaktivace HBV při cyklické chemoterapii začíná excesivním vzestupem virémie, které byla před chemoterapií negativní, vzestup ALT se opoždí. Úprava nastává ve stejném pořadí, nejprve klesá virémie, později ALT. Aktivita ALT může být vysoká ještě po poklesu virémie na velmi nízké hodnoty, což může vést k mylné diagnóze lékové toxicity.

U pacientů léčených imunosupresivou dlouhodobě též při reaktivaci HBV stoupá virémie i ALT, k poklesu ale spontánně nedochází. Klinický obraz reaktivace HBV byl popsán již před dvaceti lety, reaktivace HBV nastala při léčbě maligního lymfomu u tří čtvrtin HBsAg pozitivních pacientů, u dvou čtvrtin se jednalo jen o asymptomatické zvýšení ALT, u jedné čtvrtiny se projevila jako akutní hepatitida s ikterem, jen u 4 pacientů ze 100 se jednalo o fulminantní hepatitidu s letálním zakončením<sup>53</sup>. Spontánní reaktivace HBV jsou u Evropanů raritní, resp. velmi obtížně se odlišují od akutní hepatitidy B, výskyt spontánních reaktivací není proto u naší populace přesně popsán.

### **Prevence reaktivace HBV**

Profylaxe NA je v současné době doporučena u všech HBsAg pozitivních pacientů podstupujících chemoterapii nebo imunosupresivní léčbu bez ohledu na to, jaké cystostatikum nebo imunosupresivum je podáváno. Prvním NA v léčbě chronické HBV infekce byl LAM a byl i prvním lékem v léčbě a v profylaxi reaktivace HBV. V systematickém přehledu je doloženo, že preemptivní podávání LAM snižuje výskyt reaktivací HBV během chemoterapie-imunosuprese 4–7x, tolerance LAM byla i v této indikaci vynikající. Lau ve své studii doložil užitečnost preemptivního podávání LAM u onkologických pacientů proti zahájení léčby až při prvních známkách reaktivace HBV<sup>54</sup>. Většina dat dokládajících přínos preemptivní léčby NA je podložena údaji o LAM, na druhou stranu LAM má vysokou frekvenci vzniku rezistentních mutací a v současných doporučeních je nahrazován ETV, TDF a TAF. Preemptivní léčbu mají dostávat i vybrané skupiny pacientů HBsAg negativních jen s izolovanou anti-HBc pozitivitou, jedná se o pacienty léčené rituximabem nebo pacienty podstupující transplantaci kostní dřeně<sup>55</sup>. Profylaxe NA u onkologických pacientů má být zahájena nejméně týden před podáním chemoterapie a ukončena 6–12 měsíců po jejím ukončení. Profylaxe NA se ale ukončuje jen u pacientů, kteří byli před zahájením chemoterapie inaktivními nosiči HBV, s velmi nízkou nebo negativní virémií<sup>56</sup>. Základním předpokladem pro správný výběr pacientů k profylaxi NA je vyšetření sérologických markerů hepatitidy B před zahájením chemoterapie či imunosuprese. V doporučených postupech Evropské asociace pro studium jater<sup>16</sup> je vyšetření sérologických markerů HBV u všech kandidátů chemoterapie či imunosupresivní léčby považováno za racionální, takový přístup byl převzat i do doporučených postupů České hepatologické společnosti. V doporučeném postupu Americké asociace pro studium chorob jater<sup>57</sup> i v doporučeném postupu Asociace amerických gastroenterologů<sup>58</sup> je vyšetření sérologických markerů HBV doporučeno pouze u rizikových skupin osob z hlediska výskytu HBV infekce. Za rizikové skupiny se považují zejména intravenózní uživatelé drog, osoby s tetováním, sexuálně promiskuitní osoby hetero i homosexuální orientace a cizinci pocházející z endemických oblastí. Asociace Amerických klinických onkologů bohužel zatím zavzala do svých doporučení pouze vyšetření HBsAg u rizikových osob. Doporučení Evropské asociace pro studium jater ohledně prevence a léčby reaktivace HBV jsou shrnuta v Tab. 3.

**Tabulka 3.** Doporučení Evropské asociace pro studium jater pro pacienty s chronickou hepatitidou B, kteří mají dostávat chemoterapii či imunosupresivní léčbu<sup>16</sup>.

1. HBsAg a anti-HBc vyšetřovat u všech kandidátů chemoterapie či imunosupresivní léčby
2. Séronegativní pacienty před léčbou očkovat proti HBV
3. U HBsAg pozitivních pacientů vyšetřit před léčbou hladinu HBV DNA v krvi
4. Zahájit u všech HBsAg pozitivních profylaktické podávání protivirového preparátu před léčbou a pokračovat i 12 měsíců po skončení chemoterapie či imunosuprese
5. LAM je v této indikaci vhodný pro pacienty, kteří mají nízkou hladinu HBV DNA a předpokládá se krátká léčba
6. Pacientům s vysokou iniciační hladinou HBV DNA a předpokládanou dlouhou či trvalou léčbou má být podáván protivirový preparát s nižším rizikem rezistence, tj. ETV, TDF nebo TAF
7. U pacientů HBsAg negativních a současně anti-HBc pozitivních s neprokazatelnou iniciační hladinou HBV DNA je na místě jen pečlivé monitorování HBV DNA. Protivirová léčba má být zahájena při vzestupu virémie, před klinickou manifestací rekurence HBV

Riziko reaktivace HBV u HBsAg pozitivních pacientů léčených chemoterapií pro hematologické malignity se pohybuje mezi 33 až 67 %. Riziko reaktivace je významně vyšší při léčbě režimy obsahujícími rituximab a kortikosteroidy. Yeo et al.<sup>47</sup> popsali riziko reaktivace mezi 6,9 % u gastrointestinálních tumorů a 41 % u plicních tumorů, riziko se zvyšovalo při použití režimů s kortikosteroidy a s antracykliny, které se hojně používají i v hematoonkologii. Předložená data napovídají, že riziko reaktivace spíše souvisí s použitými léky a s navozenou hloubkou imunosuprese, než s typem tumoru. Postupně byly identifikovány další negativní prognostické faktory, kterými jsou vysoká virémie před léčbou, mužské pohlaví a vysoká hodnota ALT. Výrazně negativní průběh měli pacienti, u kterých se reaktivace HBV projevila ikterem, a došlo k přerušení onkologické léčby<sup>59</sup>.

Zcela ojedinělým řešením reaktivace HBV s fulminantním selháním jater může být urgentní transplantace jater. Transplantace jater musí ale zůstat metodou jen pro omezený okruh pacientů, kteří v době reaktivace mají dobrou prognózu svého onkologického onemocnění. Úspěšná léčba reaktivace HBV transplantací jater byla popsána u několika pacientů léčených pro maligní lymfomy rituximabem, reaktivace nastala pozdně, až v době, kdy bylo dosaženo remise lymfomu. Pacienti po transplantaci žijí již 3–5 let a nedošlo u nich k rekurenci tumoru<sup>60</sup>.

Další skupina zahrnuje pacienty léčené pro idiopatické střevní záněty, revmatoidní artritidu a pacienty s psoriázou, reaktivace HBV u nich může nastat jak po klasické léčbě

(kortikoidy, methotrexát, azathioprin), tak po tzv. biologické léčbě preparáty s anti-TN- $\alpha$  aktivitou. Reaktivace HBV byla opakovaně popsána po infliximabu a adalimumabu a zcela ojediněle po etanerceptu. Odlišný efekt jednotlivých preparátů s anti-TNF- $\alpha$  aktivitou na průběh chronické hepatitidy B se vysvětluje jejich rozdílným mechanismem účinku. Infliximab je chimérická monoklonální protilátka složená z humánního konstantního a myšího variabilního fragmentu, podíl humánní složky je asi 66 %. Infliximab neutralizuje solubilní i na membránách navázané molekuly TNF- $\alpha$ . Buňky nesoucí navázaný infliximab jsou pak destruovány vazbou komplementu nebo cytotoxickými lymfocyty. Adalimumab je též monoklonální IgG protilátka, na rozdíl od předchozí plně humánní. Též neutralizuje solubilní i membránové molekuly TNF- $\alpha$  a identickými mechanismy vede k destrukci buněk nesoucích TNF- $\alpha$  na povrchu. Etanercept je rekombinantní, kovalentně vázaný dimer solubilních TNF receptorů (p75 TNF-R) fúzovaný s Fc fragmentem lidského IgG1. Váže se pouze na cirkulující, nikoliv na membránové TNF- $\alpha$  molekuly. Infliximab, který se podává v měsíčních intervalech ve vysokých dávkách, má tzv. „cytokine washout effect“, zatímco etanercept podobný efekt nemá. Infliximab negativně ovlivňuje produkci cytokinů CD4+ a CD8+ T-lymfocyty včetně produkce IFN- $\gamma$ , zatímco etanercept produkci IFN- $\gamma$  zvyšuje. Po ukončení léčby infliximabem dochází k restituci počtu i funkce makrofágů. Restituce CD+ T-lymfocytů může vyvolat rebound fenoménem „flare-up“ chronické hepatitidy B i několik měsíců po ukončení léčby infliximabem. Recentní studie identifikovala faktory predikující nepříznivý průběh (fulminantní hepatitida a úmrtí) reaktivace HBV u pacientů léčených preparáty s anti-TNF- $\alpha$  aktivitou. Jedná se o asijský původ, přítomnost nespecifického zánětu střevního, současná léčba azathioprinem. Dalšími nepříznivými faktory byly pozdní diagnostika reaktivace HBV a léčba LAM ve srovnání s léčbou ETV nebo TDF<sup>61</sup>.

### ***Pacienti s poruchou funkce ledvin***

Hemodialyzovaní pacienti i pacienti s transplantovanou ledvinou se od předchozích skupin určitým způsobem liší. Jednak jsou naprosto všichni pravidelně vyšetřováni na markery HBV, jednak jsou dlouhodobě sledováni na jednom pracovišti a jsou k dispozici data jejich dlouhodobého sledování a efektu dlouhodobé léčby NA<sup>62,63</sup>. Pacienti po transplantaci ledviny proto představují modelovou skupinu pacientů, kteří imunosupresiva i NA užívají dlouhodobě. Na velké skupině pacientů po transplantaci

ledviny prokázal Mathurin negativní vliv HBV infekce na dlouhodobé přežití<sup>64</sup>. Desetileté přežití pacientů po transplantaci ledviny s HBV infekcí bylo významně horší (58 %) proti pacientům bez HBV infekce (82 %), nárůst mortality ve skupině s HBV infekcí byl způsoben nárůstem mortality na jaterní choroby. Jedná se o historická data, neboť studie se uskutečnila v době, kdy ještě nebyl v klinické praxi ani LAM a nikdo z pacientů nedostával NA. V dalších studiích, které dokládají příznivý efekt dlouhodobé léčby NA u pacientů s HBV po transplantaci ledviny, též vyplynul přesvědčivý doklad o nevhodnosti LAM k dlouhodobé léčbě<sup>60</sup>. LAM a ADV, NA s vysokým rizikem vzniku rezistence, přinesla pacientům po transplantaci ledviny jen mírné zlepšení přežití, zato v souborech, kde pacienti dostávali i NA s vysokou rezistenční bariérou, ETV a TDF, se přežití pacientů s HBV infekcí a bez infekce významně nelišilo (Tab. 4)<sup>65,66</sup>.

**Tabulka 4.** Účinná léčba NA významně zlepšuje dlouhodobé přežití HBsAg pozitivních pacientů po transplantaci ledviny.

	<b>Mathurin</b> et al., 1999	<b>Ahn</b> et al., 2007	<b>Coscone</b> et al., 2012	<b>Šperl</b> et al., 2013
<b>Počet pacientů</b>	128	66	40	30
<b>Protivirová léčba</b>	žádná	LAM ADV	LAM ADV TDF ETV	LAM ADV TDF ETV
<b>5leté přežití (%)</b>	79	75	100	100
<b>10leté přežití (%)</b>	55	64,4	97,6	91,9

Protivirová léčba má být zahajována již u hemodialyzovaných pacientů. U pacientů s chronickou hepatitidou B s vysokou virémií ihned při stanovení diagnózy, u pacientů s nízkou virémií a inaktivních nosičů v době zařazení do čekací listiny k transplantaci. Léčba se má zahajovat ETV u pacientů dosud neléčených nebo TAF u pacientů, kteří již mají prokázanou rezistenci na LAM. Virémie musí být kontrolována ve 3–6 měsíčních intervalech do transplantace i po transplantaci.

## ***Závěr k léčbě HBV***

NA třetí generace (ETV, TDF a TAF) jsou vysoce účinné a bezpečné léky, které lze podávat dlouhodobě, dlouhodobá suprese replikace HBV pak rezultuje v regresi fibrózy jater, snížení rizika dekompenzace i v postupné snížení rizika HCC. Nevýhodou je nutnost dlouhodobého podávání s vysokým rizikem obnovení replikace viru při předčasném ukončení léčby NA. Díky plošnému očkování však nových případů akutní i chronické hepatitidy B v rozvinutých zemích významně ubylo a největší riziko představuje reaktivace HBV infekce u osob, které vzhledem k věku nebyly očkovány. Riziko reaktivace postihuje relativně malý počet osob léčených imunosupresivou nebo protinádorovou chemoterapií, může ale mít fatální důsledky. Reaktivaci HBV lze účinně zabránit profylaktickým podáváním NA, podmínkou ale je aktivní vyhledávání reaktivací HBV ohrožených osob před zahájením léčby imunosupresivou nebo před chemoterapií.

## **Chronická hepatitida C**

### **Úvod**

HCV infekce je jednou z nejčastějších příčin chronického onemocnění jater a celosvětově postihuje asi 170 miliónů lidí<sup>67</sup>. Virus hepatitidy C (HCV) byl objeven v roce 1989, jedná se o malý, obalený virus náležící do čeledi *Flaviviridae*. Je popsáno šest genotypů viru s mnoha podtypy<sup>68,69</sup>. Závažnost jaterního onemocnění způsobeného HCV může být různá, od zcela asymptomatické chronické infekce s mírnou elevací aktivit jaterních enzymů až po jaterní cirhózu komplikovanou jaterním selháním či HCC<sup>70</sup>. Cílem terapie je vyléčení HCV infekce – dosažení eradikace viru, které je definováno jako dosažení setrvalé virologické odpovědi (SVR12 a SVR24), odpovídající nedetekovatelné HCV RNA v krvi 12 nebo 24 týdnů po ukončení protivirové léčby<sup>71</sup>. Podle dlouhodobých studií SVR znamená trvalé vyléčení HCV infekce, tj. u osob se SVR 24 nedochází k pozdním relapsům onemocnění. Eradikace infekce brání rozvoji jaterních i mimojaterních komplikací HCV, včetně progresu jaterní fibrózy, dekompenzace jaterní cirhózy, a snižuje riziko vzniku HCC<sup>72</sup>. Dvacet pět let po objevu HCV nová přímo působící antivirotika (direct-acting antivirals, DAA), z nichž většina byla registrována v letech 2014–2016, dosahují účinnosti 95–100 %<sup>73-79</sup>. Zavedení DAA do klinické praxe je přirovnáváno k revoluci, nicméně účinnost protivirových režimů se zvyšovala postupně, díky preciznímu pochopení mechanismu replikace HCV v posledních letech<sup>80</sup>.

### **Replikační cyklus HCV**

HCV patří do rodu Hapacivirus a čeledi *Flaviviridae*, spolu s dalšími viry, např. virem žluté zimnice a dengue. Virus byl objeven v roce 1989 pomocí imunoscreeingů expresní knihovny se sérem pacienta s posttransfúzní non-A, non-B hepatitidou. Virové částice jsou velké 40–70 nm v průměru, core protein a obalové proteiny E1 a E2 jsou základními proteiny virionu. E1 a E2 jsou základními komponentami, které se nejspíše váží na obal z lipidové dvojvrstvy, který obaluje nukleokapsidu tvořenou několika kopiemi core proteinu a genomové RNA<sup>81</sup>. HCV cirkuluje v krvi v několika podobách, jako lipoproteinová částice s nízkou (LDL) a velmi nízkou (VLDL) denzitou, virion též může být vázán na imunoglobuliny nebo cirkulovat jako volná částice<sup>82</sup>. Virus HCV je tvořen jednovláknovou, pozitivní RNA,

kteřá se skládá z 5' nekódující oblasti (5' - non-coding region, NCR), která obsahuje vnitřní ribozomální vstupní místo (IRES, internal ribosomal entry site), dále z otevřeného čtecího rámce, který kóduje 3000 aminokyselin dlouhý pre-protein, a 3' NCR (Obr. 1). Pre-protein je poté štěpen na strukturální proteiny (core protein a obalové (envelope) proteiny E1 a E2) a nestrukturální proteiny (p7 iontový kanál, NS2-2 proteáza, NS3 serinovou proteáza, RNA helikázu, NS4A polypeptid, NS4B a NS5A proteiny, a NS5B RNA dependentní RNA polymeráza (RdRp))<sup>68</sup>.

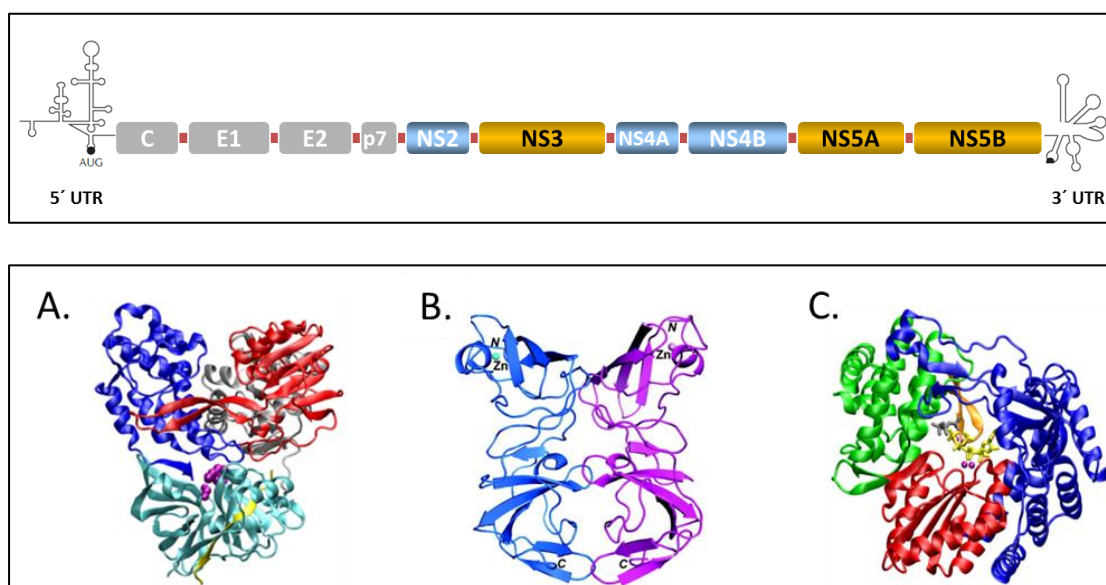
HCV infekce představuje velmi dynamický proces s životním poločasem viru pouze několik hodin a produkcí přibližně  $10^{12}$  virových částic denně<sup>83</sup>. Vysoká replikační aktivita spolu s chyběním opravných mechanismů virové RdRp má za následek vysokou genetickou variabilitu HCV. Izoláty HCV mohou být klasifikovány do jednotlivých genotypů a subtypů. Existuje 6 hlavních genotypů (1–6) vzájemně se lišících v 30–35 % nukleotidové sekvence. V rámci jednotlivých genotypů se rozlišují tzv. subtypy (a, b, c atd.), lišící se nukleotidovou sekvencí v rozsahu 20–25 %. Termín quasispecies odkazuje pak na genetickou heterogenitu genomu HCV, která koexistuje v daném infikovaném jedinci<sup>69</sup>. Nejvíce konzervativní je 5'-NCR a 99 terminálních bází 3'-UTR, mezi genotypy je rovněž shodná oblast core genu. Nejvíce variabilní je pak oblast E2. V současné době se genotypizace provádí INNO-LiPA assayí, reverzní hybridizací lineární próbou, která užívá próby komplementární k 5'-UTR a části core sekvence<sup>84</sup>. Genotypizaci je rovněž možno provádět pomocí sekvenace core a E1 oblasti nebo NS5B oblastí<sup>69</sup>.

HCV infikuje výhradně člověka a šimpanze. Hepatocyty představují hlavní cílové buňky infekce, HCV může být však detekován též v B-lymfocytech a dendritických buňkách. Ke vstupu HCV do buňky dochází za pomoci CD81, tetraspaninového proteinu exprimovaného na povrchu mnoha buněk včetně hepatocytů, LDL receptorů (LDLR), scavengerových receptorů třídy B typu I (SR-BI) a pomocí claudinu I. Následuje tzv. clathrinem zprostředkovaná endocytóza virové částice<sup>68</sup>. Mechanismy regulující přesně translaci, replikaci a kompletaci virového genomu nejsou dosud exaktně známy. Translaci otevřeného čtecího rámce HCV vzniká polyproteinový prekurzor, který je v průběhu translace a posttranslačně modifikován buněčnými (hostitelskými) a virovými proteázami za vzniku konečných virových strukturálních a nestrukturálních proteinů. Strukturální proteiny a p7 polypeptid jsou zpracovány signálními peptidázami v endoplazmatickém



retikulu, nestrukturální proteiny jsou dále zpracovány NS2-3 proteázou a NS3-4A serinovou proteázou. NS2-3 proteáza, též nazývaná autoproteázou, je nezbytná pro replikaci viru *in vivo* a štěpí pre-protein mezi nestrukturálními proteiny NS2 a NS3. Za autoproteázovou aktivitu NS2-3 proteázy je zodpovědná C-terminální doména NS2 a N-terminální doména NS-3. NS-2 má navíc stěžejní úlohu ve spojení core a envelope proteinů. NS4A polypeptid funguje jako kofaktor NS3-4A serinové proteázy, která je non-kovalentním heterodimerem skládajícím se z katalytické podjednotky (NS3) a kofaktoru (NS4A). NS3-4A je zodpovědná za štěpení polyproteinu na 4 různých místech. NS4B je malý membránový protein, jedna z jejích funkcí je tvorba membránové sítě sloužící jako „lešení“, na kterém probíhá replikace HCV. NS5A je fosfoprotein, který může být přítomen v základní fosforylované (56-kDa) a hyperfosforylované (58-kDa) formě a hraje zásadní roli ve vzniku funkčního replikačního komplexu HCV. Dalším klíčovým enzymem replikačního cyklu HCV je RdRp. Replikace viru probíhá na pozměněné membráně endoplazmatického retikula hepatocytu. Za použití HCV genomu jako templátu je vytvořeno komplementární negativní RNA vlákno, z něhož je poté vytvořeno nové vlákno pozitivní. Virus k replikaci využívá rovněž proteiny hostitele, zejména proteiny zapojené do lipidového metabolismu a mikro-RNA 122. Virové částice vyžívají v Golgihom systému, NS5A protein se podílí nejen na replikaci samotné, ale zejména na kompletaci virové částice a jejím uvolnění z hepatocytu<sup>68</sup>.

**Obr. 1.** Organizace genomu HCV a struktura jednotlivých proteinů (zleva: NS3-4A, NS5A, RdRp). Upraveno podle<sup>68,85</sup>.



## ***Výskyt a přenos onemocnění***

HCV infekce se vyskytuje celosvětově a postihuje asi 170 miliónů lidí<sup>67</sup>, celosvětová prevalence infekce HCV se pohybuje v běžné populaci kolem 2,8 %<sup>86</sup>. V roce 2001 bylo pomocí sérologického přehledu zjištěno, že prevalence positivity protilátek anti-HCV v běžné populaci ČR je 0,2 %<sup>87</sup>, séroprevalenční studie provedená v roce 2015 na 3 tisících jedinců pak zjistila prevalenci anti-HCV protilátek 1,67 %, z čehož bylo viremických 0,93 % osob<sup>88</sup>. HCV infekce je nejčastější příčinou jaterních onemocnění ve vyspělých zemích světa<sup>89</sup>. Do roku 2007 byla většina HCV pozitivních jedinců v ČR infikována genotypem viru 1b<sup>90</sup>, v roce 2015 je zastoupení jednotlivých genotypů v ČR následující: 25 % 1a, 25 % 1b, 46,4 % genotyp 3<sup>88</sup>.

Infekce virem hepatitidy C patří mezi krví přenosné infekce<sup>91</sup>. Hlavními cestami šíření HCV infekce jsou: přenos trasfuzí krve a krevními deriváty (zejména před rokem 1992), injekční aplikace drog, tetování a piercing neprováděné za aseptických podmínek (obvykle amatérsky), pravidelná dialyzační léčba, profesionální riziko expozice HCV (zdravotníci, záchranáři, sociální pracovníci), sexuální kontakt s HCV pozitivní osobou (častější mezi homosexuálními muži). Mezi další rizikové faktory patří rodinný kontakt s HCV pozitivní osobou, vertikální přenos z HCV pozitivní matky na novorozence (perinatální přenos), přenos infekce ve zdravotnických zařízeních a přenos infekce orgánovým štěpem před rokem 1992. Od zahájení rutinního testování dárců krve na přítomnost HCV infekce v roce 1992 je hlavní cestou šíření infekce sdílení infikovaných nástrojů při injekční aplikaci drog.

## ***Přirozený průběh infekce virem hepatitidy C***

Přenos HCV infekce se děje krevní cestou. HCV RNA je detekovatelná v krvi 7–21 dní po infekci. Množství HCV RNA rapidně stoupá a je následováno vzestupem aktivit jaterních aminotransferáz 4–12 týdnů od infekce. Minimum pacientů vyvine klinické známky infekce 2–12 týdnů po nákaze, většina zůstane v akutní fázi asymptomatická a není si proto choroby vědoma. Studie o přirozeném průběhu HCV infekce ukazují, že 55–86 % pacientů, kteří se infikují virem hepatitidy C, není schopno přirozeným způsobem virus eliminovat a infekce u nich tudíž přejde do chronického stadia<sup>92</sup>. Chronická HCV infekce je definována jako pozitivní HCV RNA v krvi více než 6 měsíců od nákazy. Ženy spontánní eliminují infekci častěji než muži, stejně tak jedinci mladšího věku. Spontánní

eliminace je rovněž častější u nosičů genotypu CC genu *IL28B*<sup>93</sup>. Po přechodu infekce do chronického stadia je spontánní eliminace infekce extrémně vzácná. I přesto, že jaterní onemocnění způsobené HCV má ve většině případů mírnou aktivitu a pomalý průběh, epidemiologické studie dokládají významnou mortalitu způsobenou HCV infekcí. K rozvoji jaterní cirhózy dojde u 15–30 % infikovaných jedinců v průběhu 10–20 let, doba do vzniku HCC je zhruba 20–30 let<sup>94</sup>. Prospektivní studie u imunosuprimovaných nemocných, jako jsou například pacienti s HIV koinfekcí či hypogamaglobulinémií, prokazují vyšší riziko vzniku cirhózy při HCV infekci<sup>95,96</sup>. Naopak studie u imunokompetentních jedinců dokládají obvykle mírný průběh onemocnění v prvních 20 letech od infekce, nejvyšší incidence cirhózy byla po 25 letech trvání choroby, avšak celkové přežití nebylo HCV infekcí ovlivněno, cirhózu vyvinulo 35 % HCV RNA pozitivních jedinců a nikdo z nemocných s dlouhodobě normálními hodnotami ALT cirhózu nevyvinul<sup>97-100</sup>. Relativně mírný průběh infekce je v kontrastu s počtem transplantací pro HCV a celkovou mortalitou HCV pozitivních pacientů. Průběh infekce je tedy ovlivněn celou řadou rizikových faktorů přítomných v jinak zdravé populaci. Následující faktory nejvíce nepříznivě ovlivňují progresi onemocnění. Stěžejní je věk<sup>101,102</sup>, vyšší věk v době biopsie a délka trvání choroby jsou spojeny s vyšším stupněm fibrózy. Horší průběh je rovněž spojen s významnou konzumací alkoholu (> 50 g denně)<sup>103</sup>, diabetem, obezitou, HIV a HBV koinfekcí a nealkoholickou steatohepatitidou. Pacienti infikovaní genotypem viru 3 mají rychlejší progresi fibrózy a vyšší riziko vzniku HCC<sup>104,105</sup>.

V minulých 20 letech byla snaha co nejpřesněji predikovat schopnost pacienta dosáhnout SVR léčbou pegylovaným IFN- $\alpha$  a ribavirinem (RBV). Existují faktory, které predikují schopnost dosáhnout SVR, a to jak ze strany hostitele, tak ze strany viru. Před léčbou je zásadním prediktorem dosažení SVR genotyp viru. Genotyp 1 odpovídá na léčbu velmi špatně (42–65 % SVR), zatímco pacienti s genotypem 2 a 3 dosahují SVR častěji (56–100%)<sup>106-108</sup>. Sérová koncentrace HCV RNA před léčbou takový význam nemá, pacienti s nízkou virémií (HCV RNA < 2 miliony kopií/ml, která odpovídá zhruba 600000 IU/ml) však dosahují SVR častěji<sup>109</sup>. Také rasa ovlivňuje odpověď k léčbě, nejhorší výsledky mají Afroameričané, přestože mají obvykle mírnější jaterní postižení<sup>110</sup>. Rovněž steatóza jater zhoršuje odpověď k léčbě<sup>111</sup>. Podíl pacientů, kteří dosáhnou SVR, klesá s pokročilostí fibrózy jater. Pacienti s pokročilou fibrózou či cirhózou mají nejnižší šanci dosáhnout SVR,

mají též vysoké riziko komplikací léčby a tolerance léčby je u nich špatná<sup>106,107</sup>. Výsledek léčby chronické HCV infekce významně ovlivňuje genetická diversita hostitele. Ve studii Chena et al.<sup>112</sup> bylo identifikováno 18 genů, jejichž exprese se signifikantně liší mezi respondenty a nonrespondenty k terapii pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV. Mnohé z těchto genů jsou tzv. interferon senzitivní (ISG). Některé z nich (*USP18/UBP43*, *ISG15*, *IFI27*) ovlivňují odpověď buněk na IFN- $\alpha$ , což vysvětlit mechanismus rezistence k léčbě IFN- $\alpha$ <sup>113</sup>. Genové variace v regulačních oblastech genu *IFNL4* kódujícího interferon  $\lambda 4$  (dříve nazývaný a v literatuře často stále uváděný jako *IL28B*) významně ovlivňují schopnost jak spontánní, tak léčbou indukované eliminace HCV a predikují tak odpověď k léčbě. Pacienti s genotypem CC nejčastěji vyšetřovaného jednonukleotidového polymorfismu *IFNL4* rs12979860 dosahují SVR signifikantně častěji než jedinci s genotypy CT a TT<sup>93,114</sup>.

### **Éra léčby interferonem a ribavirinem**

Interferon alfa (IFN- $\alpha$ ) byl prvním lékem použitým na začátku 80. let u pacientů s tzv. non-A, non-B hepatitidou, kteří se infikovali krevní transfuzí či nitrožilní aplikací drog, měli vysoké hodnoty aktivit jaterních enzymů a histologický nález typický pro chronickou hepatitidu<sup>115</sup>. Tato nespecifická, imunostimulující léčba vedla k normalizaci jaterních testů a zlepšení histologického nálezu. IFN- $\alpha$  2b byl registrován v USA k léčbě HCV infekce v roce 1991. Nevýhodou léčby byly nežádoucí účinky a nízká šance dosáhnout SVR: v randomizovaných studiích dosáhlo SVR pouze 6 % pacientů 24týdenní léčbou IFN- $\alpha$ , při prodloužení léčby na 48 týdnů byl počet dosažených SVR 13–19 %<sup>116,117</sup>. U pacientů s genotypem 1 byly výsledky ještě horší, navýšení dávky IFN- $\alpha$  či prodloužení léčby nevedlo ke zvýšení účinnosti, naopak, tolerance byla významně horší.

Významným krokem v léčbě HCV bylo přidání RBV do léčebných režimů. RBV je perorálně podávaný guanosinový analog s širokým spektrem protivirové účinnosti proti DNA i RNA virům. Jeho mechanismus účinku na HCV není dodnes přesně znám. Zatímco při použití v monoterapii měl RBV jen zanedbatelný protivirový účinek<sup>118</sup>, použití kombinace IFN- $\alpha$  2b a RBV vedlo k vyšší úspěšnosti léčby, SVR dosáhlo 43 % pacientů při 48mi týdenní léčbě ve srovnání s monoterapií IFN- $\alpha$ <sup>116,117</sup>. V logistické regresní analýze byly identifikovány faktory pozitivně ovlivňující dosažení SVR: genotyp viru 2 nebo 3, nízká virémie (HCV RNA před léčbou méně než 2 miliony kopií, resp. 600000 IU/ml), věk pod 40

let, minimální fibróza jater a ženské pohlaví<sup>117</sup>. Kombinace IFN- $\alpha$  a RBV se stala standardem léčby v roce 1999.

Aplikace konvenčního IFN- $\alpha$  třikrát týdně byla spojena s nestálou koncentrací léku v krvi vedoucí k výkyvům HCV RNA, zejména v iniciální fázi léčby<sup>119,120</sup>. Dalším cílem bylo tedy vyvinout interferon, jehož eliminační poločas by byl delší. Spojení interferonu s molekulou polyetylglykolu vedlo k prodloužení eliminačního poločasu na 75 a 30 hodin pro pegylovaný IFN- $\alpha$  2b (molekula 40 kDa), resp. pegylovaný IFN- $\alpha$  2a (molekula 12 kDa). Oba léky bylo tedy možno aplikovat pouze jednou týdně, podkožně, pegylovaný IFN- $\alpha$  2a ve fixní dávce 180  $\mu$ g, pegylovaný IFN- $\alpha$  2b v dávkování dle váhy, 1,5  $\mu$ g/kg<sup>121,122</sup>. Stejně jako u konvenčních interferonů, kombinace s RBV zvýšila počet dosažených SVR<sup>106,107</sup>. Studie fáze III prokázaly zásadní vliv genotypu viru na dosažení SVR. Zatímco pacienti s genotypem 1 dosáhli SVR ve 42–46 % případů při 48týdenní léčbě a podávání vyšších dávek RBV dle váhy pacienta, nemocní s genotypy 2 a 3 dosáhli SVR až v 80 % případů léčbou trvajícím 24 týdnů při fixním dávkování RBV 800 mg denně<sup>106,107</sup>.

Díky špatné toleranci podávané léčby a její nízké účinnosti byla snaha o přizpůsobení délky léčby s cílem dosáhnout nejen co nejvyššího počtu SVR, ale také ukončit léčbu co nejdříve u pacientů, kteří šanci na vyléčení měli mizivou, a minimalizovat tím nežádoucí účinky náročné terapie<sup>109,123</sup>. Terapie byla modifikována dle virologické odpovědi v prvních týdnech: HCV RNA byla stanovena před léčbou, v týdnech 4, 12 a 24 léčby. Rychlá virologická odpověď byla charakterizována nedetekovatelnou HCV RNA ve 4. týdnu léčby, při časně virologické odpovědi bylo dosaženo HCV RNA negativity v týdnu 12. Pozdní virologickou odpověď měli pacienti, u nichž byla detekovatelná HCV RNA v týdnu 12, ale negativní v týdnu 24. Pacienti, kteří nedosáhli poklesu HCV RNA nejméně o dva řády oproti výchozí virémii v týdnu 12 nebo neměli nedetekovatelnou HCV RNA v týdnu 24 měli extrémně malou šanci na dosažení SVR a bylo tedy doporučeno terapii ukončit předčasně jako neúčinnou<sup>124</sup>. Významným přínosem v predikci dosažení SVR měl objev jednonukleotidového polymorfismu (SNP) v blízkosti genu *IL28B* pomocí genome-wide association study<sup>114</sup>. SNP rs12979860 *IL28B* se stal nejpřesnějším prediktorem dosažení SVR při dvojkombinační léčbě pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV před léčbou, vyšší prediktivní hodnotu pro dosažení SVR v léčbě mělo již jen dosažení rychlé virologické odpovědi (negativní HCV RNA ve 4. týdnu terapie)<sup>71,110,125</sup>.

## **Éra přímo působících antivirotik**

Významný pokrok v pochopení molekulární virologie HCV nastal s vývojem genomického a subgenomického replikonového systému a s identifikací klonu JFH1 genotypu 2a, který vede po transfekci k produktivní HCV infekci v buněčné kultuře<sup>126</sup>. Díky těmto novým modelovým systémům a třídimensionálním modelům klíčových enzymů replikačního cyklu HCV byly poznány jednotlivé kroky replikace HCV a zároveň potenciální cíle nových léků – malých molekul s významnou aktivitou proti jednotlivým enzymům replikačního cyklu viru. Dvě první DAA, NS3-4A proteázové inhibitory, boceprevir a telaprevir, byly zavedeny do klinické praxe v roce 2011 v kombinaci s pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV<sup>127-130</sup>. Oba léky účinně blokují replikaci HCV, ale mají velmi nízkou rezistenční bariéru, což vede k rychlé selekci rezistenčních variant viru u pacientů se špatnou odpovědí k IFN- $\alpha$ . I po přidání proteázového inhibitoru do léčebného schématu byla stále stěžejní odpověď pacienta k interferonu. Klíčová úloha odpovědi na interferon byla nejvíce patrná u pacientů, kteří již byli dříve léčeni dvojkombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV a v léčbě neuspěli<sup>131,132</sup>. Relapséri (pacienti s nedetekovatelnou virémií v průběhu léčby a s relapsem infekce po jejím ukončení) dosahovali vysokého počtu SVR (více než 80 %), i když již měli cirhózu. Naopak pacienti, u nichž nebyl zaznamenán pokles HCV RNA v průběhu předchozí léčby, měli pouze malou šanci na dosažení SVR (okolo 30 %) i přes přidání proteázového inhibitoru a 48týdenní léčbu<sup>131</sup>. Další faktory určující odpověď k interferonu (stupeň fibrózy jater, rasa, genotyp *IL28B*) byly rovněž prediktory úspěchu léčby trojkombinací s proteázovým inhibitorem, ať již boceprevirem nebo telaprevirem<sup>129,130</sup>. Oba léky byly rovněž spojeny se širokým spektrem nežádoucích účinků: oba způsobovaly závažnou anémii, pro telaprevir byly typické kožní nežádoucí účinky (vyrážka, ve vzácných případech Stevens-Johnsonův a DRESS syndrom).

Výsledky léčby proteázovými inhibitory byly prezentovány i jako studie z reálné klinické praxe. Studie CUPIC hodnotila trojkombinační léčbu s boceprevirem nebo telaprevirem u pacientů s jaterní cirhózou v rámci programu časné dostupnosti u francouzských pacientů<sup>133</sup>. Závažné nežádoucí účinky byly v běžné praxi mnohem častější než udávala data z registračních studií a byly významné zejména u nemocných se známkami portální hypertenze, trombocytopenií a syntetickou jaterní dysfunkcí (hypalbuminémie). Pacienti s hodnotou trombocytů pod 100000/ $\mu$ l a koncentrací

albuminu nižší než 35 g/l měli 51% pravděpodobnost rozvoje závažné nežádoucí příhody v průběhu léčby s významně nízkou šancí na dosažení SVR (27 %). Zvládnání nežádoucích účinků záviselo jednoznačně na zkušenostech ošetřujících lékařů, zcela zásadní však zůstala správná indikace k léčbě, zejména u pacientů s cirhózou.

### ***Revoluční léčba bez interferonu***

Vývoj nových přímo působících antivirotik byl extrémně rychlý. Od zavedení proteázových inhibitorů první vlny první generace, které bylo nutno užívat v kombinaci s interferonem a RBV, až po zavedení bezinterferonových režimů v „jedné tabletě“, neuběhly ani čtyři roky.

Replikační cyklus HCV může být zablokován v několika krocích<sup>85,134,135</sup>. Skupiny DAA, která jsou v současné době k dispozici, zahrnují NS3-4A proteázové inhibitory, nukleotidová analoga – inhibitory RdRp, non-nukleosidové inhibitory RdRp a inhibitory NS5A proteinu. Léky se liší svou protivirovou aktivitou proti jednotlivým genotypům viru a rezistenční bariérou. NS3-4A proteázové inhibitory se váží do katalytického místa enzymu a inhibují posttranslační úpravu virového polyproteinu. NS3-4A inhibitory první vlny první generace, boceprevir a telaprevir, účinkovaly převážně proti genotypu 1, měly nízkou rezistenční bariéru a četné nežádoucí účinky. Druhá vlna první generace NS3-4A inhibitorů je účinná proti genotypům 1, 2 a 4, nikoliv však proti genotypu 3. Tyto léky mají rovněž nízkou rezistenční bariéru. Účinek některých může být potencován kombinací s ritonavirem, což umožní prodloužení dávkovacího intervalu a zvýšení expozice léku. Druhá generace NS3-4A inhibitorů je účinná proti všem genotypům viru (tzv. pangentypální účinnost) a má navíc vyšší rezistenční bariéru než generace první.

Nukleotidová analoga účinkují jako falešné substráty RdRp a způsobí předčasné ukončení nově tvořeného řetězce virové RNA. Před jejich začleněním do řetězce je nutná dvojí fosforylace, aby mohly být funkční v cílovém místě. Nukleotidová analoga fungují pangentypálně a mají vysokou rezistenční bariéru. Non-nukleosidové inhibitory RdRp se váží k jednomu ze 4 alosterických míst enzymu, naruší tak konformaci RdRp a tím blokuje její katalytickou aktivitu. Non-nukleosidové inhibitory, které jsou v současné době k dispozici, jsou obecně účinné proti genotypu 1 a mají nízkou rezistenční bariéru.

Inhibitory NS5A se váží na doménu 1 NS5A nestrukturálního proteinu a blokují jeho schopnost regulace množení HCV v replikačním komplexu, navíc zabraňují kompletaci a uvolňování virových částic. Některé z první generace NS5A inhibitorů jsou pangentypální, jiné mají nízkou aktivitu proti genotypu 3. Mají rovněž nízkou rezistenční bariéru. NS5A inhibitory 2. generace jsou účinné napříč genotypy, ale jejich rezistenční bariéra je jen lehce vyšší oproti NS5A inhibitorům první generace. Přehled jednotlivých DAA rozdělených do skupin dle mechanismu účinku uvádí Tab. 5.

**Tabulka 5:** DAA registrovaná v EU (k 1. 9. 2017). Podle<sup>136</sup>.

Skupina	Generace	Účinná látka	Dostupné a fixní kombinace DAA spolu s:
NS3-4A proteázové inhibitory	První vlna, první generace	Boceprevir Telaprevir	Peg-IFN- $\alpha$ +RBV Peg-IFN- $\alpha$ +RBV
	Druhá vlna, první generace	Simeprevir Paritaprevir	Peg-IFN- $\alpha$ +RBV OMB, DSV (Viekirax <sup>TM</sup> + Exviera <sup>TM</sup> )
	Druhá generace	Grazoprevir Glecaprevir Voxilaprevir	EBR (Zepatier <sup>TM</sup> ) PIB (Maviret <sup>TM</sup> ) SOF + VEL (Vosevi <sup>TM</sup> )
Nukleosidová/nukleotidová analoga	Nukleotidová analoga	Sofosbuvir	DCV, LDV, SIM, VEL, VOX
Non-nukleosidové inhibitory HCV RdRp	Inhibitory palm-domény I	Dasabuvir	OMB, PTV (Viekirax <sup>TM</sup> + Exviera <sup>TM</sup> )
NS5A inhibitory	První generace	Daclatasvir Ledipasvir Ombitasvir	SOF SOF (Harvoni <sup>TM</sup> ) PTV, DSV (Viekirax <sup>TM</sup> + Exviera <sup>TM</sup> )
	Druhá generace	Elbasvir Velpatasvir Pibrentasvir	GZR (Zepatier <sup>TM</sup> ) SOF (Epclusa <sup>TM</sup> ), SOF, VOX (Vosevi <sup>TM</sup> ) GLE (Maviret <sup>TM</sup> )

DCV, daclatasvir; DSV, dasabuvir; EBR, elbasvir; GLE, glecaprevir; GZR, grazoprevir; LDV, ledipasvir; OMB, ombitasvir; Peg-IFN- $\alpha$ , pegylovaný IFN- $\alpha$ ; PTV, paritaprevir; PIB, pibrentasvir; SIM, simeprevir; SOF, sofosbuvir; RBV, ribavirin; VEL, velpatasvir; VOX, voxilaprevir.



## ***Konec interferonové éry***

V roce 2014 bylo zavedeno do klinické praxe několik režimů založených na trojkombinaci pegylovaného IFN- $\alpha$ , RBV a jednoho z DAA. Nejslibnější byla kombinace pegylovaného IFN- $\alpha$ , RBV a sofosbuviru (SOF, 400 mg perorálně jednou denně) s vysokými počty dosažených SVR bez ohledu na genotyp viru při pouze 12týdenní léčbě. Ve studii Neutrino fáze III dosáhlo SVR 89 % pacientů s genotypem 1 (92 % u subtypu 1a, 82 % u subtypu 1b) a 96 % pacientů s genotypem 4<sup>137</sup>. U pacientů s cirhózou byla účinnost 80 % ve srovnání s 92 % u pacientů bez cirhózy. Nežádoucí účinky léčby v kombinaci se SOF byly srovnatelné s dvojkombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV. U pacientů, u kterých léčba selhala, nebyly prokázány léčbou indukované rezistentní varianty (RAV) HCV. U pacientů neúspěšně léčených pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV s genotypy 2 a 3 byla trojkombinace se SOF účinná v 96, resp. v 83 % případů<sup>138</sup>.

Trojkombinace pegylovaného IFN- $\alpha$ , RBV a simepreviru (SIM, 150 mg perorálně jednou denně) byla rovněž registrována v roce 2014 pro pacienty infikované genotypem 1 (a genotypem 4 v Evropě)<sup>139,140</sup>. SIM je NS3-4A proteázový inhibitor druhé vlny první generace. Jeho účinnost byla testována ve studiích fáze III Quest-1 a Quest-2 u dosud neléčených pacientů, SVR dosáhlo 80, resp. 81 % pacientů oproti 50 % pacientů léčených dvojkombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV v kontrolních skupinách. Účinnost kombinace se SIM byla nižší u subtypu viru 1a (75 %) oproti subtypu 1b (85 %). Tento rozdíl byl podmíněn nízkým počtem SVR u pacientů se RAV Q80K v NS3 proteázové sekvenci viru HCV. Pacienti se subtypem 1a a substitucí Q80K dosáhli SVR pouze v 58 % případů, bez substituce Q80K pak v 84 % případů<sup>139,140</sup>. Pacienti infikovaní subtypem 1a, u kterých je plánována léčba SIM, by měli být proto před jejím zahájením testováni na přítomnost substituce Q80K. SIM je velice dobře tolerován, pouze vyrážka a svědivka byly častější u pacientů léčených SIM než v kontrolních skupinách léčených dvojkombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV. V případě selhání léčby SIM rezistentní mutace, které vzniknou při léčbě, vymizí do 16 měsíců od ukončení terapie.

Trojkombinace pegylovaného IFN- $\alpha$ , RBV a NS5A inhibitoru daclatasviru (DCV) byla registrována v EU, ale nebyla používána<sup>141</sup>. Namísto toho byla používána kombinace SOF (400 mg jednou denně) a DCV (60 mg jednou denně), zejména u pacientů pokročilou jaterní chorobou a po transplantaci jater, v rámci programů časně dostupnosti před

zavedením fixních kombinací DAA do běžné klinické praxe. Použití této kombinace bylo podloženo studií fáze II s dokumentovanou účinností mezi 95 a 100 % za 12 nebo 24 týdnů s nebo bez RBV u pacientů s genotypem 1, naivních i dříve neúspěšně léčených včetně kombinace s proteázovými inhibitory, boceprevirem a telaprevirem<sup>142,143</sup>.

### **Počátek bezinterferonové léčby**

Malé studie fáze II se SOF a RBV u genotypu 2 a 3 a kombinace proteázového inhibitoru asunapreviru s DCV u genotypu 1 prokázaly, že je možná kombinace DAA působících na různých úrovních replikace viru bez nutnosti použití pegylovaného IFN- $\alpha$ <sup>144</sup>. Studie Fission (fáze III) u naivních pacientů zkoumala účinnost 12týdenní léčby SOF a RBV<sup>137</sup>. SVR dosáhlo 95 % pacientů s genotypem 2 a 56 % pacientů s genotypem 3. Ve studii Fusion byl SOF s RBV podáván dříve léčeným pacientům po dobu 12 nebo 16 týdnů. SVR dosáhlo 82 resp. 89 % nemocných s genotypem 2 a 3, resp. 62 % pacientů s genotypem 3<sup>145</sup>. Ve studii fáze III Valence dosáhlo SVR 97 % pacientů s genotypem 2 bez cirhózy a 100 % naivních pacientů s cirhózou, 91 % dříve neúspěšně léčených nemocných bez cirhózy a 88 % dříve léčených cirhotiků. Ve skupině genotypu 3 byl počet dosažených SVR pro stejné skupiny pacientů 94, 92, 87, resp. 60 %<sup>144</sup>. Kombinace SOF a RBV byla dobře snášena a u pacientů, u kterých léčba selhala, nebyly prokázány SOF-rezistentní varianty.

Kombinace SOF (400 mg jednou denně) a SIM (150 mg jednou denně) byla používána krátce na základě malé studie fáze II Cosmos, která zahrnuje pacienty infikované genotypem 1<sup>146</sup>. Skupina předchozích null-respondentů k léčbě pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV s nízkým stupněm fibrózy (F0 – F2 dle skóre Metavir) dosáhla SVR v 96 a 93 % případů 12týdenní léčbou s, resp. bez použití RBV. Skupina naivních i dříve léčených nemocných s pokročilou fibrózou (F3 a F4 dle skóre Metavir) dosáhla 93% účinnosti při 12týdenní léčbě, 93 a 100 % při léčbě trvajícím 24 týdnů, s nebo bez použití RBV. Kombinace byla dobře snášena.

### **Fixní kombinace DAA: úplné opuštění režimů založených na IFN- $\alpha$**

Dvě zcela nové, fixní kombinace DAA byla registrovány na konci roku 2014 v USA a na začátku roku 2015 v EU. První takovouto kombinací byla fixní kombinace SOF (400 mg) a ledipasviru (LDV, 90 mg) v jedné tabletě podávané jednou denně, s nebo bez RBV dle pokročilosti jaterního onemocnění (kombinace s RBV u pacientů s kompenzovanou a

dekompenzovanou jaterní cirhózou), s genotypy 1, 3 a 4<sup>75</sup>. Účinnost a bezpečnost kombinace SOF a LDV byla testována ve třech registračních studiích<sup>147-149</sup>. Ve studii ION-1 byla účinnost 99 a 97 % u naivních pacientů s a bez použití RBV při 12týdenní léčbě, a 98 a 99 % s a bez RBV v léčbě 24týdenní. Ve studii ION-3, u naivních pacientů bez cirhózy, dosáhlo SVR 94 % pacientů pouhou 8týdenní léčbou bez RBV, 93 % 8týdenní léčbou s RBV a 95 % 12týdenní léčbou bez RBV. Post-hoc analýza prokázala, že zkrácení léčby na 8 týdnů je dostačující u naivních pacientů bez cirhózy s iniciální HCV RNA méně než 6 milionů IU/ml. Do studie ION-2 byli zařazeni dříve neúspěšně léčení nemocní, SVR dosáhlo 94 a 96 % pacientů po 12 týdnech léčby a 99 a 99 % pacientů po 24 týdnech léčby, s nebo bez použití RBV. Přidání RBV umožní zkrácení léčby na 12 týdnů u pacientů s kompenzovanou i dekompenzovanou jaterní cirhózou, zejména dříve neúspěšně léčených, před i po transplantaci jater<sup>150,151</sup>. Vysoké počty SVR byly dosaženy nejen u pacientů s genotypem 1, ale i u pacientů s genotypem 4 a 6. U pacientů, u kterých selže kombinace LDV a SOF, nalezneme často rezistenční varianty k NS5A inhibitoru, nikoliv však k SOF. NS5A rezistenční varianty mohou přetrvávat mnoho měsíců i let jako dominantní populace viru, jejich význam pro následující léčbu t. č. není znám.

Trojkombová léčba ombitasvirem (OMB) spolu s ritonavirem potencovaným paritaprevirem (r/PTV a OMB, v jedné tabletě, celkem 2 tablety jednou denně) a dasabuvirem (DSV, 1 tableta dvakrát denně) je určena pro pacienty s genotypem 1, v kombinaci s RBV u subtypu viru 1a. Dvojkombinace OMB s r/PTV je pak účinná u pacientů infikovaných genotypem 4<sup>73,74</sup>. Registrace trojkombové léčby r/PTV, OMB a DSV byla podložena šesti klinickými studiemi fáze III<sup>152-158</sup>. Ve studii Sapphire-I<sup>152</sup> se léčili naivní pacienti bez cirhózy po dobu 12 týdnů. SVR dosáhlo 98 % pacientů se subtypem viru 1b a 95 % pacientů se subtypem 1a. Studie Pearl-IV dokládá nutnost užití RBV u genotypu 1a<sup>153</sup>: 12týdenní léčbou s RBV dosáhlo SVR 97 % pacientů, zatímco bez RBV pouze 90 %. Pacienti s genotypem 1b léčení ve studii Pearl-III<sup>156</sup> dosáhli 99% SVR jak s RBV, tak bez podání RBV. U dříve neúspěšně léčených nemocných bez cirhózy dvojkombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV ve studii Sapphire-II<sup>155</sup> bylo dosaženo SVR v 97 % u subtypu 1b a 96 % u subtypu 1a při použití RBV. U pacientů s kompenzovanou cirhózou byla účinnost rovněž vysoká, SVR dosáhlo 92 % pacientů s genotypem 1 12týdenní léčbou a 96 % 24týdenní léčbou s RBV<sup>158</sup>. Z prodloužení léčby na 24 týdnů s RBV profitovali dříve

neúspěšně léčení cirhotici s genotypem 1a. Studie Turquoise-III<sup>159</sup> studovala 12týdenní léčbu na populaci 60 kompenzovaných cirhotiků. I bez použití RBV dosáhlo SVR 100 % pacientů s excelentní tolerancí léčby.

Kombinace 400 mg SOF s velpatasvirem (VEL) 100 mg, fixní kombinace v 1 tabletě jednou denně, byla registrována v roce 2016 v USA i EU na základě studií Astral 1–4 u pacientů napříč genotypy. Studie Astral-1<sup>160</sup> zkoumala účinnost u pacientů s genotypy 1, 2, 4, 5 a 6, naivních nebo již dříve léčených. SVR dosáhlo 98 % pacientů s genotypem 1a a 99 % pacientů s genotypem 1b. Léčba byla účinná u 99 % cirhotiků zařazených do studie. Přítomnost RAV před léčbou neovlivnila účinnost terapie u pacientů s genotypem 1. Nežádoucí účinky léčby byly srovnatelné s placebem. Studie Astral-3<sup>161</sup> srovnávala účinnost 12týdenní léčby SOF a VEL s 24týdenní léčbou kombinací SOF a RBV u pacientů s genotypem 3. SVR dosáhlo 98 % pacientů (ve srovnání s 90 % u pacientů léčených SOF a RBV). Cirhotici s genotypem 3 dosáhli SVR v 93 % případů. Přidání RBV je doporučeno zvážit u cirhotiků infikovaných genotypem 3.

Fixní kombinace grazopreviru (GZR, 100 mg) s elbasvirem (EBR, 50 mg) v jedné tabletě podávané jednou denně byla zkoumána ve studii fáze III C-EDGE u naivních pacientů s genotypy 1, 4 a 6<sup>162</sup>. Pacienti byli léčení 12 týdnů bez RBV, SVR dosáhlo 99 % pacientů infikovaných genotypem 1b a u 92 % pacientů s genotypem 1a. Kombinace GZR a EBR je účinná i u pacientů s cirhózou, SVR dosáhlo 97 % pacientů. Přítomnost RAV před léčbou může ovlivnit dosažení SVR u pacientů s genotypem 1a, a proto je u těchto nemocných doporučováno testování rezistence před zahájením léčby, u pacientů s průkazem těchto RAV má být přidán RBV a léčba prodloužena na 16 týdnů<sup>163</sup>. Léčba kombinací GZR a EBR je účinná rovněž u pacientů dříve neúspěšně léčených trojkombinací s boceprevirem nebo telaprevirem, SVR dosáhlo 96 % pacientů<sup>164</sup>. Díky jaterní eliminaci je možno GZR a EBR použít bezpečně a s vysokou účinností u pacientů se selháním ledvin včetně nemocných chronicky hemodialyzovaných<sup>71,165</sup>.

Kombinace SOF, VEL a voxilapreviru (VOX), Vosevi®, byla registrována k léčbě chronické HCV infekce v roce 2017. Jedná se o fixní léčebnou kombinaci obsahující 400 mg SOF, 100 mg VEL a 100 mg proteázového inhibitoru VOX v jedné tabletě, která se užívá jedenkrát denně<sup>166</sup>. Léčba je 8týdenní pro naivní pacienty a nemocné bez cirhózy, 12týdenní pak pro nemocné již dříve léčené a cirhotiky. Jedná se o tzv. pangentotypální

režim, je tedy účinný u pacientů infikovaných genotypy 1–6. Jeho podání je kontraindikováno u pacientů s dekompenzovanou cirhózou (funkční klasifikace Child-Pugh B a C) a u pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin (GF < 30 ml/min.) a u pacientů léčených pravidelnou hemodialýzou. Účinnost kombinace SOF s VEL a VOX byla hodnocena ve čtyřech studiích fáze 3, dvou studiích s pacienty dříve léčenými DAA a dvou studiích s pacienty naivními, s HCV infekcí genotypu 1 až 6 bez cirhózy nebo s kompenzovanou cirhózou. SVR12 dosáhlo více než 95 % pacientů včetně nemocných, u kterých selhala předchozí léčba obsahující NS5A inhibitor<sup>167,168</sup>. Tolerance léčby je vynikající, léčbu ukončilo pro nežádoucí účinky méně než 0,1 % pacientů<sup>166</sup>. Nejčastějšími nežádoucími účinky pak byla bolest hlavy, zvracení a průjem.

Fixní kombinace glecapreviru (GLE) 300 mg denně a pibrentasviru (PIB) 120 mg denně (Maviret®) užívaná rovněž v jedné denní dávce byla registrována k léčbě HCV infekce v roce 2017 a má pangentypální účinnost. U dosud neléčených pacientů bez cirhózy je léčba 8týdenní, u pacientů s kompenzovanou cirhózou pak 12týdenní. Režim lze použít i u pacientů, u kterých selhala předchozí léčba obsahující proteázový inhibitor nebo NS5A inhibitor. Kombinaci je možno podat i nemocným s těžkou poruchou funkce ledvin a pacientům hemodialyzovaným bez nutnosti úpravy dávky<sup>169</sup>. Dvanáctitýdenní léčbou dosáhlo SVR12 97–100 %, 96–100 %, 83–94% a 100 % dosud neléčených pacientů s genotypy 1, 2, 3 a 4–6, osmitýdenní léčbou dosáhlo SVR12 97–98 % pacientů s genotypy 1–3<sup>170,171</sup>. Léčba je velice dobře tolerována, nejčastějšími nežádoucími účinky jsou bolest hlavy, únava a nauzea<sup>169</sup>. Dostupné léčebné režimy u pacientů bez cirhózy a s cirhózou shrnují Tab. 6 a 7<sup>71,163</sup>.

**Tabulka 6:** Dostupné režimy léčby chronické HCV infekce u pacientů bez jaterní cirhózy (dosud neléčené a pacienty s neúspěšnou léčbou pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV) v roce 2017. Upraveno podle<sup>71,163</sup>.

	PEG-IFN- $\alpha$ RBV + SOF	PEG-IFN- $\alpha$ + RBV + SMV	SOF + LDV	OMB + r/PTV + DSV	SOF + VEL	GZR + EBR	SOF + SMV	SOF + DCV	SOF + VEL + VOX	PIB + GLE
<b>GT 1a</b>	12 T	12 T, poté P/R 12–36 T	8–12 T	12 T	12 T	12 T bez průkazu RAV	12 T	12 T	8–12 T	8 T
<b>GT 1b</b>				12 T	12 T	12 T			8–12 T	8 T
<b>GT 2</b>	12 T	X	X	X	12 T	X	X	12 T	8 T	8 T
<b>GT 3</b>	12 T	X	X	X	12 T	X	X	12 T	8 nebo 16 T	8–12 T
<b>GT 4</b>	12 T	12 T, poté P/R 12–36 T	12 T	12 T bez DSV	12 T	12 T	12 T	12 T	8 T	8–12 T
<b>GT 5, 6</b>	12 T	X	12 T	X	12 T	X	X	X	8 T	8–12 T

DCV, daclatasvir; DSV, dasabuvir; EBR, elbasvir; GLE, glecaprevir; GT, genotyp; GZR, grazoprevir; LDV, ledipasvir; OMB, ombitasvir; Peg-IFN- $\alpha$ , pegylovaný interferon  $\alpha$ ; P/R, kombinace Peg-IFN- $\alpha$  a ribavirin; PIB, pibrentasvir; SIM, simpeprevir; SOF, sofosbuvir; T, týden; GT, genotyp; RAV, resistance-associated variant; RBV, ribavirin; r/PTV, ritonavirem potencovaný paritaprevir; VEL, velpatasvir; VOX, voxilaprevir; X, se režim u daného genotypu nepoužívá.

**Tabulka 7:** Dostupné režimy léčby chronické HCV infekce u pacientů s kompenzovanou jaterní cirhózou, Child-Pugh A (pacienty dosud neléčené a pacienty s neúspěšnou léčbou pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV). Vzhledem k velmi nízké účinnosti režimů založených na pegylovaném IFN- $\alpha$  u cirhotiků jsou uvedeny pouze bezinterferonové režimy. Upraveno podle<sup>71,163</sup>.

	SOF + LDV	OMB + rPTV + DSV	SOF + VEL	GZR + EBR	SOF + SMV	SOF + DCV	SOF + VEL + VOX	PIB + GLE
<b>GT 1a</b>	12 T	24 T s RBV	12 T	12 T bez průkazu RAV	24 T s nebo bez RBV (bez Q80K)	24 T s nebo bez RBV	12 T	12 T
<b>GT 1b</b>		12 T	12 T	12 T			12 T	
<b>GT 2</b>	X	X	12 T	X	X	16–24 T	12 T	12 T
<b>GT 3</b>	X	X	12 T	X	X	24 T s nebo bez RBV	12 T	16T
<b>GT 4</b>	12 T	12 T bez DSV s RBV	12 T	12 T	X	X	12 T	12 T
<b>GT 5 a 6</b>	12 T	X	12 T	X	X	X	12 T	12 T

DCV, daclatasvir; DSV, dasabuvir; EBR, elbasvir; GT, genotyp; GZR, grazoprevir; LDV, ledipasvir; OMB, ombitasvir; Peg-IFN- $\alpha$ , pegylovaný interferon  $\alpha$ ; SIM, simeprevir; SOF, sofosbuvir; T, týden; GT, genotyp; RAV, resistance-associated variant; RBV, ribavirin; r/PTV, ritonavirem potencovaný paritaprevir; VEL, velpatasvir; X, se režim u daného genotypu nepoužívá.

### **Indikace k protivirové léčbě**

Kandidáty protivirové terapie jsou všichni pacienti s chronickou HCV infekcí, ať již dosud neléčení nebo v minulosti léčení neúspěšně, kteří jsou k léčbě motivováni a nemají žádnou kontraindikaci léčby<sup>71,163</sup>. Protivirová léčba by měla být upřednostněna u pacientů s pokročilou fibrózou (METAVIR F3), u cirhotiků (METAVIR F4), a u pacientů s extrahepatálními manifestacemi HCV infekce (vaskulitida, HCV-asociovaná glomerulonefritida, HCV asociované non-Hodgkinské lymfomy). U pacientů s extrahepatálními manifestacemi HCV infekce by léčba měla být zahájena časně bez ohledu na stupeň jaterní fibrózy. Přednostní léčba je rovněž indikována i u pacientů, kteří představují významné epidemiologické riziko šíření HCV infekce, tj. zejména u pacientů, u kterých lze předpokládat opakovaný pobyt ve zdravotnických zařízeních a provádění invazivních výkonů<sup>71,163</sup>.

Léčba by dále měla být přednostně poskytnuta pacientům s dekompenzovanou jaterní cirhózou<sup>71,163</sup>. Tato skupina osob má jednoznačnou kontraindikaci léčby založené na podání IFN- $\alpha$  z důvodu rizika závažných komplikací, zejména infekčních<sup>133</sup>. Data z klinických studií i reálné praxe podporují závěry, že právě tato skupina pacientů má jednoznačný přínos z úspěšné léčby HCV infekce, která může vést ke zlepšení jaterní funkce, poklesu MELD a Child-Pugh skóre<sup>151,172</sup>. Léčba těchto pacientů by měla být vedena ve specializovaných, ideálně transplantačních centrech s rozsáhlými zkušenostmi s léčbou pomocí DAA. Podle zkušeností z reálné praxe protivirová léčba již nevede ke zlepšení u významně pokročilých nemocných, s MELD skóre více než 15 bodů<sup>173,174</sup>. Naopak, u těchto nemocných je léčba méně účinná a je spojena s vyšším rizikem nežádoucích příhod, zejména s progresí jaterní dysfunkce. U těchto pacientů by měla být proto léčba odložena až do doby po transplantaci jater.

Mezi další skupiny osob s HCV infekcí, u kterých je přednostní indikace zahájení moderními variantami léčby, patří osoby s HIV a HBV koinfekcí<sup>71,163</sup>, pacienti před a po transplantaci jater a nemocní ohrožení rychlou progresí fibrózy (imunosuprimovaní pacienti, nemocní po orgánových transplantacích včetně jater). Léčba je indikována také u pacientů se středně pokročilou fibrózou (METAVIR F2). Léčba pacientů s minimální fibrózou (METAVIR F0–F1) může být odložena<sup>71,163</sup>. Odložení léčby by nicméně mělo být s pacientem diskutováno a finální rozhodnutí by mělo jeho názor zohlednit. Pacienti s odloženou léčbou by měli být sledováni v pravidelných intervalech za účelem včasného zachycení významné progresie onemocnění. Skupiny pacientů, kteří by měli být léčeni přednostně, definuje Tab. 8<sup>71,163</sup>.



**Tabulka 8:** Skupiny pacientů podle stupně urgency zahájení protivirové léčby. Upraveno podle<sup>71,163</sup>.

STUPEŇ URGENCE	SKUPINA PACIENTŮ
Léčba je indikována	Všichni dosud neléčení a v minulosti léčení pacienti s kompenzovaným i dekompenzovaným jaterním onemocněním
Léčba by měla být upřednostněna	Pacienti s významnou fibrózou (F3) či cirhózou (F4) včetně dekompenzované cirhózy HIV koinfekce HBV koinfekce Pacienti indikovaní k transplantaci jater Pacient s rekurencí HCV po transplantaci jater Pacienti s klinicky významnými extrahepatálními manifestacemi Pacienti s vysilující únavou Osoby představující epidemiologické riziko (hemodialyzované osoby, aktivní uživatelé intravenózních drog, homosexuálové, ženy ve fertilním věku plánující graviditu)
Léčba je odůvodněná	Pacienti se středně pokročilou fibrózou (F2)
Léčba může být odložena	Pacienti bez fibrózy nebo s minimální fibrózou (F0–F1), kteří nemají žádnou z extrahepatálních manifestací
Léčba není indikována	Pacienti s přežitím limitovaným jiným než jaterním onemocněním

### **Screening HCV infekce**

Velká část osob infikovaných HCV si není infekce vědoma<sup>175</sup>. Identifikace těchto jedinců je však jednou ze základních podmínek možnosti adekvátní léčby HCV infekce. Efektivního screeningu lze dosáhnout pouze dokonalou informovaností lékařů primární péče (praktičtí lékaři, gynekologové, porodníci) a specialistů, kteří se podílejí na péči o pacienty ve vysoce rizikových skupinách. Screeningovým vyšetřením HCV infekce je vyšetření anti-HCV protilátek<sup>71</sup>. Anti-HCV protilátky by měly být vyšetřeny u všech osob, u nichž je podezření, že byly někdy v průběhu života exponovány některému z rizikových faktorů přenosu HCV<sup>71,163</sup>.

Na základě znalostí o možnostech přenosu je doporučováno testování HCV infekce zejména u osob s anamnézou injekční aplikace drog, a to i v případě jediné aplikace před mnoha lety, u příjemců krevních derivátů či orgánových transplantátů před rokem 1992, u osob HIV pozitivních, u hemofiliků, u pacientů s anamnézou hemodialyzační léčby, u pacientů s elevací aktivity jaterních aminotransferáz. Dále mají být testovány děti HCV pozitivních matek, zdravotničtí pracovníci a osoby s anamnézou poranění injekční jehlou,

sexuální partneři HCV pozitivních osob a pacienti v minulosti vystavení invazivním lékařským zákrokům, zejména pak osoby s anamnézou komplikovaného chirurgického výkonu nebo osoby s anamnézou dlouhé hospitalizace (riziko iatrogenního přenosu).

### ***Vyšetření pokročilosti jaterního onemocnění před léčbou***

Referenční metodou pro stanovení pokročilosti onemocnění byla po mnoho let jaterní biopsie, umožňující jak hodnocení zánětlivé aktivity (grading), tak i stupně fibrózy (staging)<sup>176,177</sup>. V současné již můžeme, na základě mnoha publikovaných studií a recentních doporučení EASL, přijmout jako alternativu provedení jaterní biopsie některou z metod neinvazivního stanovení stupně jaterní fibrózy<sup>178</sup>. Nejširší uplatnění získalo hodnocení jaterní fibrózy stanovením tuhosti jater pomocí transientní (Fibroscan®)<sup>179</sup> a shear-wave (Supersonic Imagine®)<sup>180</sup> elastografie, které mají v případech chronické HCV infekce dobrou výpovědní hodnotu<sup>180-183</sup>. Jaterní biopsie zůstává určena pro pacienty, u kterých je podezření na přidružené jaterní onemocnění, nebo u nich nelze neinvazivní vyšetření provést.

Ke stanovení stupně fibrózy lze užít i některé tzv. krevní biomarkery, tato vyšetření jsou však spolehlivá pouze v diskriminaci jaterní cirhóza vs. non-cirhóza, jednotlivá stadia fibrózy nelze z tohoto vyšetření spolehlivě určit<sup>183-185</sup>.

Extrémní důležitost má identifikace pacientů s jaterní cirhózou nebo přemostující fibrózou, protože jejich dlouhodobá prognóza, a to i po úspěšné léčbě, je závislá na stupni fibrózy jater před léčbou<sup>72,186</sup>. Pacienti s jaterní cirhózou jsou indikováni k doživotní dispenzarizaci a screeningu HCC<sup>187</sup>. Fakt, že pacient nemá pokročilou jaterní fibrózu, je nyní důležitý rovněž z pohledu načasování protivirové léčby s ohledem na rychle se měnící léčebné možnosti<sup>71,163</sup>.

### ***Léčba specifických skupin pacientů***

#### ***Pacienti s kompenzovanou a dekompenzovanou cirhózou jater***

Pacienti s kompenzovanou jaterní cirhózou představují skupinu, u které by měla být protivirová léčba zahájena co nejdříve<sup>71,163</sup>. Všechny komplikace jaterní cirhózy, zejména dekompenzace onemocnění a HCC, mohou nastat v krátkém časovém horizontu.

Úspěšná léčba riziko dekompenzace onemocnění i riziko HCC signifikantně snižuje<sup>72</sup>. Preferovanými režimy v této skupině jsou v současné době jednoznačně bezinterferonové režimy, použití režimu založeném na podávání pegylovaného IFN- $\alpha$  je u pacientů s cirhózou jater vysoce rizikové stran závažných nežádoucích účinků, účinnost léčby je rovněž nesrovnatelně nižší<sup>71,163</sup>.

### ***Hepatitida C a transplantace jater***

I přes současné převratné změny v léčbě zůstává hepatitida C celosvětově jednou z nejčastějších příčin chronického jaterního selhání a indikací k transplantaci jater (LTx). K transplantaci jsou indikováni pacienti s chronickým jaterním selháním při cirhóze C, při hodnocení stupně jaterní dysfunkce dle Child-Pughovy klasifikace jsou ideálními kandidáty nemocní skupiny B (7–9 bodů)<sup>188</sup>. O transplantaci je nutno uvažovat u všech pacientů s cirhózou a MELD skóre > 14 bodů. HCC představuje velmi častou komplikaci cirhózy C. K LTx jsou obvykle indikováni pacienti splňující tzv. Milánská kritéria, tedy 1 ložisko HCC do 5 cm nebo 3 ložiska HCC, z nichž žádné nesmí být větší než 3 cm<sup>189</sup>. Biopsická verifikace tumoru není nutná, dostačující je obraz charakteristický pro HCC na dynamických zobrazovacích metodách (CT, MRI)<sup>190</sup>. Indikaci k LTx mohou rovněž představovat komplikace portální hypertenze, jako je recidivující krvácení z jícnových či žaludečních varixů, refrakterní ascites či encefalopatie<sup>188</sup>.

Aktivní replikace HCV nepředstavovala v minulosti kontraindikaci k LTx. Transplantace odstraní cirhotická játra a rizika vyplývající z jejich dysfunkce, neodstraní však HCV infekci. Další vývoj a prognóza pacienta po transplantaci závisela na tíži rekurence HCV ve štěpu. Rekurence hepatitidy C v jaterním štěpu nastává však téměř u 100 % pacientů, kteří transplantaci podstupují s detekovatelnou HCV RNA v krvi, a vede k rychlému poškození jaterního štěpu, které končí znovu cirhózou s jaterním selháním s nutností retransplantace<sup>191-193</sup>. Přežití pacientů transplantovaných pro HCV bylo v minulosti signifikantně horší než u ostatních diagnóz a dosahovalo 61–75 % a 68 % po pěti, resp. 10 letech od LTx<sup>192</sup>. V případě cirhózy štěpu je prognóza nepříznivá, k dekompenzaci dojde až u 40 % pacientů do 1 roku.

Až do roku 2011 byla jedinou možností léčby HCV infekce před i po LTx kombinace pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV<sup>194</sup>. Pacienti léčení v čekací listině dosahovali SVR ve 20 %

případů, léčba však byla kontraindikována u pacientů s dekompenzovanou cirhózou, zejména pro riziko závažných infekcí<sup>195</sup>. Rovněž po transplantaci byla šance na dosažení SVR nízká, pouze 20–30 % u pacientů s genotypem 1<sup>196,197</sup>. Proteázové inhibitory 1. generace, telaprevir a boceprevir, byly zavedeny do léčby v roce 2011. Nutnost jejich podávání v kombinaci s pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV zvýšila jen málo počet pacientů se SVR, léčba byla rovněž provázena závažnými, zejména hematologickými nežádoucími účinky, významné byly u transplantovaných nemocných lékové interakce s imunosupresivy vyžadující pečlivé monitorování laboratorních parametrů<sup>198</sup>.

Po zavedení bezinterferonových režimů do běžné klinické praxe v roce 2014 byla léčba HCV infekce pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV u pacientů po LTx zcela opuštěna<sup>151,199</sup>. V současné době je k dispozici celá řada přímo působících antivirotik (SOF, LDV, DCV, VEL, OMB, PTV, SIM, EBR, GZR, DSV) s vynikající účinností a tolerancí, která můžeme použít nejen u pacientů po LTx, ale i u pacientů v čekací listině s dekompenzací jaterní cirhózy (SOF v kombinaci s LDV nebo VEL)<sup>151,199,200</sup>. Cílem protivirové léčby HCV před LTx je eradikace infekce, která zabrání reinfekci jaterního štěpu. Léčba u pacientů s dekompenzovanou cirhózou může rovněž přispět ke zlepšení jaterní dysfunkce a předejít tak nutnosti transplantace<sup>172</sup>.

Prvním přímo působícím antivirotikem užitým k léčbě pacientů v čekací listině byl SOF. V kombinaci s RBV byl podáván pacientům indikovaným k LTx pro HCC s kompenzovanou cirhózou. SVR dosáhlo 70 % pacientů, podmínkou úspěšné léčby bylo dosažení nedetekovatelné HCV RNA alespoň 30 dní před LTx<sup>201</sup>. Kombinace SOF a LDV s RBV byla studována ve studiích SOLAR-I a SOLAR-II, pacienti dosáhli 86–89, resp. 85–88 % SVR<sup>151,199</sup>. Trojkombinační režim r/PTV, OMB a DSV lze bezpečně použít u pacientů s kompenzovanou cirhózou, v tomto případě má 100% účinnost u pacientů s genotypem 1b i bez nutnosti přidání RBV<sup>159</sup>.

Cílem protivirové léčby po transplantaci je eradikace infekce, zabránění poškození jaterního štěpu. Dosažení SVR vede k signifikantnímu zlepšení přežití příjemců i jaterních štěpů<sup>196</sup>. První bezinterferonovou kombinací byl opět SOF s RBV, více než dvojnásobný počet SVR byl patrný ve všech skupinách léčených pacientů včetně těch s dekompenzovanou cirhózou či fibrotizující cholestatickou hepatitidou<sup>202,203</sup>. Režim r/PTV, OMB a DSV byl testován ve studii CORAL-I u pacientů s genotypem 1. SVR dosáhlo

97 % pacientů, režim byl výborně tolerován<sup>157</sup>. Ve studii ALLY-1, zkoumající kombinaci DCV se SOF, byl celkový počet SVR 94 %<sup>204</sup>. Jednalo se o pacienty obtížně léčitelné, 30 % z nich mělo již vyvinutou cirhózu jaterního štěpu. Režim byl skvěle tolerován, navíc přinesl pouze minimum lékových interakcí. Rovněž kombinace SOF s LDV (studie SOLAR-I a II) přinesla excelentní výsledky (96–98 % SVR) u pacientů s kompenzovanou cirhózou štěpu, nezávisle na délce léčby (12 vs. 24 týdnů)<sup>151,199</sup>.

### ***Koinfekce HBV/HCV***

Ve většině případů replikace HCV tlumí replikaci HBV, proto lze zpravidla v séru prokázat HCV RNA, zatímco sérová koncentrace HBV DNA je pod hranicí detekce. HCV je pak hlavní příčinou progresu jaterního onemocnění. Léčba je vedena dle stejných doporučení jako u pacientů bez HBV infekce. Po dosažení SVR, tedy po eradikaci HCV, narůstá riziko reaktivace HBV<sup>205</sup>. Pokud k této situaci dojde a objeví se významná replikace HBV, je indikováno zahájení léčby nukleotidovými analogy. Nukleotidová analoga jsou indikována jako součást protivirové léčby také v případě, že významná replikace HBV je přítomna ještě před zahájením protivirové léčby HCV infekce. V tomto případě je důležité provést kontrolu potenciálních lékových interakcí podávaných antivirových.

### ***Imunosuprimovaní pacienti***

Poškození jater je u chronické HCV infekce vyvoláno imunitně zprostředkovanými mechanismy<sup>70</sup>. Imunitní odpověď na virovou infekci je odpovědná za spontánní i léčbou navozenou eliminaci viru, je odpovědná za imunitní kontrolu úrovně virové replikace. Skutečnost, že podání preparátů oslabujících imunitní odpověď je spojeno se vzestupem virémie, byla v minulosti popsána u pacientů s chronickou HCV infekcí podstupujících protinádorovou chemoterapii. Zdálo se, že reaktivace chronické hepatitidy C vlivem imunosupresiv jsou méně časté i méně závažné než reaktivace hepatitidy B<sup>206</sup>. Tuto představu potvrdil i Mahale et al. studií z roku 2012<sup>207</sup>. Autoři retrospektivně zhodnotili 308 pacientů léčených chemoterapií pro různé hematologické malignity, reaktivaci HCV definovali jako vzestup HCV RNA o více než 1 log a akutní exacerbaci jako reaktivaci provázenou více než trojnásobným vzestupem aktivity ALT. K akutní exacerbaci HCV došlo během chemoterapie jen u 11 % pacientů, nejčastěji u pacientů léčených rituximabem, vinkristinem nebo methotrexátem. Na rozdíl od reaktivace chronické hepatitidy B byl

prokázán vliv podání kortikoidů jen na virologickou reaktivaci HCV, nebyl ale provázen vzestupem ALT. Na rozdíl od chronické hepatitidy B též nebyl zaznamenán žádný případ fulminantního selhání jater během chemoterapie.

Kombinace léčby HCV infekce režimem s pegylovaným IFN- $\alpha$  a protinádorové chemoterapie nebyla možná pro prohloubení myelosuprese a zvýšení rizika závažných bakteriálních infekcí. Vysoká účinnost a dobrá tolerance léčby HCV kombinací DAA u pacientů léčených imunosupresivou byla dokumentována na souborech pacientů po transplantaci jater, kdy jediným faktorem snižujícím účinnost léčby je pokročilost fibrózy jaterního štěpu, nikoliv podávaná imunosupresiva<sup>151</sup>. Při léčbě HCV u pacientů užívajících imunosupresiva je proto nutno volit kombinaci DAA, jejíž vysoká účinnost byla popsána i u pacientů po transplantaci jater.

Naopak monoterapie preparáty s anti-TNF $\alpha$  aktivitou se zdá být u pacientů s chronickou hepatitidou C bezpečná<sup>208</sup>. Opět je zde rozdíl proti hepatitidě B, kde byly po zmíněných preparátech popsány i fatální reaktivity. U pacientů s chronickou hepatitidou C nejsou virologické reaktivity po anti-TNF $\alpha$  preparátech obvyklé<sup>209</sup>. Přesto je na místě indikovat takové pacienty k léčbě kombinací DAA v první linii, jednak u nich nelze do budoucna vyloučit nutnost podání jiných imunosupresiv schopných reaktivovat HCV, jednak se eliminuje virus a možnost přenosu infekce na jiné pacienty při jejich pobytu ve zdravotnických zařízeních.

Nepříznivý vliv dlouhodobého podávání imunosupresiv na přežití pacientů s chronickou hepatitidou C je nejlépe zdokumentován u pacientů po transplantaci ledviny. Mathurin et al. popsali významně horší desetileté přežití po transplantaci ledviny u pacientů s chronickou hepatitidou C ve srovnání s pacienty bez HCV infekce<sup>64</sup>. Horší přežití pacientů s chronickou hepatitidou C po transplantaci ledviny bylo způsobeno vzestupem mortality na jaterní selhání, ostatní příčiny úmrtí byly v obou skupinách srovnatelné. V interferonové éře nebyla léčba pacientů užívajících imunosupresiva nebo chemoterapii možná. U pacientů po transplantaci ledviny byla léčba režimem s pegylovaným IFN- $\alpha$  považována za kontraindikovanou pro vysoké riziko selhání štěpu ledviny na tzv. interferonem  $\alpha$  indukovanou allograft nefropatii, Z Fabriziho meta-analýzy vyplývá, že k významnému poškození štěpu ledviny léčbou interferonem  $\alpha$  dochází nejméně u poloviny léčených pacientů<sup>210</sup>. Publikovány byly pouze tři malé studie označující léčbu interferonem  $\alpha$  po transplantaci ledviny za bezpečnou<sup>211-213</sup>. Toto nikdy nebylo obecně

akceptováno a léčba interferonem po transplantaci ledviny zůstávala omezena jen na ojedinělé případy pacientů s těžkou reaktivací HCV provázenou dysfunkcí jater, u kterých riziko selhání jater převažovalo nad rizikem ztráty štěpu ledviny. Jedinou možností, jak zabránit reaktivaci HCV po transplantaci, bylo zbavit pacienta HCV infekce ještě před transplantací. Z tohoto pohledu lze léčbu kandidátů transplantace ledviny léčených pravidelnou hemodialýzou považovat za profylaxi reaktivace HCV vlivem imunosupresiv. Bezinterferonové režimy otevřely možnost zbavit infekce virem hepatitidy C i pacienty, kteří transplantaci ledviny v minulosti podstoupili, přestože HCV infekcí trpěli. K léčbě HCV u pacientů po transplantaci ledviny je nutno volit jiné režimy než u hemodialyzovaných pacientů, jedná se o režimy, které nemají významné lékové interakce s imunosupresivy. U současných kandidátů transplantace ledviny považujeme za vhodnější zachovat dosavadní postup, tj. zbavit pacienta HCV infekce ještě před transplantací, ovšem léčbou bezpečným a dobře tolerovaným bezinterferonovým režimem. Neléčit pacienta před transplantací ledviny a spolehnout se na bezinterferonovou léčbu po transplantaci může být provázeno komplikacemi v podobě časného rozvoje reaktivace HCV infekce po transplantaci s těžkou dysfunkcí jater, zhoršit úspěšnost probíhající protivirové léčby může být i zhoršení funkce štěpu ledviny po transplantaci vyžadující změnu protivirové léčby.

I když účinnost interferonových režimů ale byla u hemodialyzovaných pacientů stejná jako u pacientů s normální funkcí ledvin, tolerance byla významně horší<sup>214,215</sup>. Léčbu jich proto podstoupila jen malá část<sup>216</sup>. Řešením je léčba kombinací DAA, jak byla popsána v předchozím textu.

### ***Pacienti v programu náhrady funkce ledvin***

Prevalence HCV infekce mezi pacienty s chronickým onemocněním ledvin je mnohonásobně vyšší než prevalence HCV v běžné populaci<sup>216,217</sup>. Pacienti s renální insuficiencí (CKD, chronic kidney disease) a pacienti v programu náhrady funkce ledvin (RRT) představují velmi speciální skupinu nemocných s chronickou HCV infekcí. HCV infekce je u pacientů v RRT asociována s vyšší všeobecnou i jaterní mortalitou<sup>64,218</sup>. Hlavním faktorem limitujícím přežití těchto nemocných však zůstává kardiovaskulární morbidita<sup>71</sup>. Největším rizikem vyplývajícím z HCV infekce je reaktivace infekce po transplantaci ledviny při imunosupresivní léčbě, jak bylo popsáno výše<sup>64</sup>.

V interferonové éře byly k léčbě hemodialyzovaných pacientů postupně použity všechny postupy dle historického vývoje. První práce popisovaly léčbu konvenčním nebo konsenzuálním interferonem  $\alpha$  podávaným třikrát týdně v monoterapii, později léčbu pegylovaným IFN- $\alpha$  podávaným jednou týdně v redukované i v plné dávce. Kombinace s RBV pronikala do léčby hemodialyzovaných pacientů opožděně a jeho použití bylo vázáno na dostupnost erythropoetinu. RBV je u pacientů se selháním ledvin léčených hemodialýzou kumuluje a vede k těžké hemolytické anémii. Anémie se rozvíjí i použitím velmi redukováných dávek (200 mg 1 až 3x týdně) a nutnosti podávání transfuzí lze zabránit jen vysokými dávkami erythropoetinu. Nutnost přidávání RBV do léčby HCV u hemodialyzovaných pacientů byla některými autory zpochybňována. Vyšší účinnost kombinace pegylovaného IFN- $\alpha$  s RBV proti monoterapii pegylovaným IFN- $\alpha$  jsme prokázali i na našem souboru, definitivně ji potvrdil Liu v randomizované studii. Historický vývoj léčby chronické HCV infekce je shrnut v tabulce 5. Z přehledu vyplývá, že účinnost léčby i výskyt nežádoucích účinků popsané jednotlivými autory se značně liší. Jediným možným vysvětlením je selekce pacientů bez hluboké anémie a komorbidit k léčbě v případě autorů popisujících vynikající účinnost léčby. Sami jsme při léčbě našich pacientů kontraindikovali pouze vysoce rizikové pacienty s jednoznačnou kontraindikací podání interferonu  $\alpha$  a dosáhli jsme úspěšnosti léčby přibližně v polovině rozmezí uvedeného v posledním řádku Tab. 9.

**Tabulka 9:** Přehled publikovaných prací o léčbě chronické HCV infekce u hemodialyzovaných pacientů v interferonové éře.

Publikace	Léčba	Počet/ genotyp (GT)	Dokonče ní léčby	Léčba (týdny)	SVR (%)	Nežádoucí účinky
Mousa et al., 2004 <sup>219</sup>	IFN + RBV	20/GT1 4/GT4		n = 9 24 T n = 11 48 T	66 % 55 %	NS
Rivera et al., 2005 <sup>220</sup>	IFN (n=20) Peg-IFN (n=7)	27/GT1b	24/27	48 T	40,7 %	3/27 (12%) pancytopenie
Kokoglu et al., 2006 <sup>221</sup>	Peg-IFN	12/GT1	12/12	48 T	75 %	9/12 (75%) anémie 7/12 (58%) trombocytopenie 4/12 (33%) leukopenie
Sporea et al., 2006 <sup>222</sup>	Peg-IFN	10	6/10	48 T	30 %	6/10 trombocytopenie 4/10 leukopenie 1 sepse, 1 úmrtí na mozkové krvácení



Sikole et al., 2007 <sup>223</sup>	Peg-IFN	14	9/14	48 T	36 %	3/14 pneumonie, perikarditida, 1 úmrtí na mozkové krvácení
Rendina et al., 2007 <sup>224</sup>	Peg-IFN 135 µg RBV 200 mg/den	16/GT1 19/non-GT1	5/16 19/19	48 T 24 T	97 % 100 %	1 anémie, 1 polékový exantém
van Leusen et al., 2008 <sup>225</sup>	Peg-IFN + RBV	5/GT1 2/GT2	7/7	48 T 24 T	60 % 100 %	Redukce dávky PegINF 4 transfúze krve
Carriero et al., 2008 <sup>226</sup>	Peg IFN + RBV	14 12/GT1	7/14		28,6 %	2 úmrtí na kardiovaskulární komplikace Anémie
Ayaz et al., 2008 <sup>227</sup>	Peg-IFN	22/GT1	17/22	48 T	64,7 %	5/22 únava, anémie, krvácení
Akhan et al., 2008 <sup>228</sup>	Peg-IFN	12	12/12	48 T	50 %	Trombocytopenie
Šperl et al., 2008 <sup>229</sup>	Peg-IFN 180 µg +RBV	12/GT1b 4/GT1b	8/16	48 T	66 % 75 %	2/6 akutní rejekce nefunkčního štěpu ledviny 1/16 infarkt myokardu
Kose et al., 2009 <sup>230</sup>	Peg-IFN	33	26/33		78,8 %	Anémie, trombocytopenie
Dzekova et al., 2009 <sup>231</sup>	Peg-IFN	14	14/14	48 T	37,5 %	
Alsaran et al., 2011 <sup>232</sup>	Peg-IFN + RBV u 3 pacientů)	13	13/13	48 T	69 %	Redukce dávek léků
Peck-Radosavljevic et al., 2010 <sup>214</sup>	Peg-IFN 135 µg 90 µg	29/GT1 9/non-GT1 32/GT1 11/non-GT1	28/38 32/43	48 T 48 T	31 % 66,7 % 37,5 % 27,3 %	3 úmrtí, 6 SAE 5 SAE
Deltenre et al., 2011 <sup>233</sup>	Peg IFN 135 µg RBV 600 mg/týden +/-EPO nebo RBV 1000 mg/týden + EPO	32 naivní 19/GT1 13/non-GT1	26/38	48 T GT1/4 24 T GT2/3	50 % 40 % G1 86 % G2	2 úmrtí na mozkové krvácení 58 % anémie 5 % anémie
Liu et al., 2012 <sup>234</sup>	Peg-IFN 135 µg + RBV 200mg/den Peg-IFN 135	103/GT1 102/GT1	96/103 98/102	48 T 48 T	64 % 33 %	72% anémie 36% anémie
Šperl et al., 2015 <sup>215</sup>	Peg-IFN 135 µg +RBV	16/GT1b 23/GT1b	14/39	48 T	42,9 % 66,7 %	2 rejekce nefunkčního štěpu ledviny 1 indukovaná autoimunní hepatitida 2 trombocytopenie s krvácením 1 pneumonie 8 anémie
<b>Celkem</b>		<b>526</b>	<b>526/616</b>		<b>27,3–78,8 %</b>	

V současné době jsou bezinterferonové režimy v Evropě standardem léčby HCV infekce u hemodialyzovaných pacientů. Jako optimální varianta léčby se jeví kombinace r/PTV spolu s OMB a DSV, dále pak GZR a EBR, a GLE s PIB, protože tato léčiva jsou eliminována především játry<sup>73,74,77,235</sup>. Pro tyto zmíněné dvě kombinace jsou k dispozici již i data z prospektivních studií, dokládající jejich účinnost a bezpečnost, která se prakticky neliší od účinnosti a bezpečnosti ověřené u pacientů s normální funkcí ledvin. Ve studii C-SURFER<sup>165</sup> (GZR a EBR) dosáhlo SVR 115 ze 122 pacientů s CKD 4 a 5 (94%), ve studii RUBY-1<sup>163</sup> (r/PTV, OMB, DSV) se vyléčilo 18 z 20 pacientů s CKD 4 a 5 (90%). Studie EXPEDITION-IV<sup>235</sup>, hodnotí účinnost a bezpečnost GLE s PIB u celkem 104 pacientů s CKD 4 (12 %) a CKD 5 (88 %), pravidelně dialyzovaných bylo z nich 82 % pacientů. Všichni pacienti byli léčeni kombinací GLE s PIB po dobu 12 týdnů, SVR dosáhlo 98 % léčených pacientů napříč genotypy, u nikoho z pacientů nebylo popsáno virologické selhání (1 pacient léčbu přerušil, 1 byl ztracen z dalšího sledování).

SOF, který je v současné době nejvíce používaným antivirotikem v léčbě HCV infekce, by dle doporučení výrobce neměl být užit u pacientů s glomerulární filtrací  $\leq 30$  ml/min/1.73m<sup>2</sup><sup>75,76,79</sup>. Na druhou stranu naléhavá potřeba léčit hemodialyzované pacienty před transplantací ledviny vedla k užití SOF v reálné praxi i k léčbě hemodialyzovaných pacientů v redukované (200 mg denně) i v plné dávce (400 mg denně). Recentně publikovaná farmakokinetická studie<sup>236</sup> vyloučila kumulaci SOF i jeho metabolitů v krvi hemodialyzovaných pacientů. Bezpečnost a účinnost SOF v léčbě hemodialyzovaných pacientů byla zatím doložena na několika malých souborech pacientů<sup>74,79</sup>, prospektivní studie zatím nejsou dokončeny. Dalšími přímo působícími antivirotiky, jejichž bezpečnost a účinnost u hemodialyzovaných pacientů byla popsána na malých souborech z reálné praxe, jsou DCV a asunaprevir<sup>73,237</sup>. Soubory z reálné praxe jsou dominantně složeny z pacientů infikovaných genotypem 1, data o léčbě genotypů 2 a 3 zatím chybí zcela. Tyto léky by přesto měly být užívány s velkou opatrností a léčba by měla být vedena ve specializovaných centrech s velkou zkušeností s touto specifickou podskupinou nemocných. K protivirové léčbě by měli být přednostně indikováni pacienti, kteří jsou vhodnými kandidáty transplantace ledviny<sup>71</sup>. V ostatních případech je třeba zcela individuální přístup, posouzení závažnosti jaterního postižení, celkové prognózy nemocného a především možných rizik vyplývajících z podání protivirové léčby.

## **Závěr k léčbě HCV**

Nebývalý pokrok v léčbě HCV v posledních třech letech vedl k situaci, že teoreticky všichni infikovaní jedinci mohou být léčeni díky skvělé toleranci nových DAA, pokud o své infekci vědí a k léčbě mají přístup. Nelze zatím plně souhlasit s názorem, že specifické skupiny pacientů přestaly díky DAA existovat. Univerzální DAA režim zatím neexistuje, pacienty ze specifických skupin lze účinně a bezpečně léčit jen za podmínky výběru vhodné kombinace DAA. Správný výběr léčebné kombinace je podmínkou úspěchu zejména u pacientů hemodialyzovaných a u pacientů po orgánových transplantacích. Novou specifickou skupinou se stali např. pacienti s epilepsií, kde lze jen obtížně hledat vhodnou kombinaci DAA s ohledem na lékové interakce s řadou antiepileptik. Jinak mají nová DAA jen minimum kontraindikací.

Díky absenci zvířecího rezervoáru HCV infekce by celosvětová eradikace byla možná<sup>238</sup>, ale dá se jí jen těžko dosáhnout bez účinné profylaktické vakcíny. Eliminace infekce v zemích s dostatečnými finančními zdroji se zdá být, díky vysoce účinné léčbě, v blízké budoucnosti reálná<sup>89</sup>.

## **Zhodnocení významu vlastních výsledků**

**V příloze 1** jsme popsali tři případy reaktivace HBV po léčbě maligního lymfomu rituximabem. U všech tří došlo k reaktivaci až po řadě dávek rituximabu, kdy již bylo dosaženo remise lymfomu, u všech tří se rozvinulo fulminantní selhání jater a všichni tři podstoupili úspěšnou urgentní transplantaci jater. Cílem práce bylo upozornit na možná fatální rizika nedodržení doporučených pravidel pro profylaxi reaktivace HBV při léčbě rituximabem, a dále upozornit na záludnost rituximabu, kdy k reaktivaci HBV dochází až po dlouhé době podávání. Zejména jsme chtěli upozornit na možnost řešení těžké reaktivace HBV provázené fulminantním selháním jater urgentní transplantací jater. Urgentní transplantaci jater lze ale provést jen u osob, které již v době reaktivace HBV dosáhly remise lymfomu a jejich prognóza je dobrá. Naše publikace je citována a zmiňována v doporučeném postupu profylaxe reaktivace HBV vydaném Asociací Amerických gastroenterologů<sup>136</sup>.

**V příloze 2** jsme popsali naše více než desetileté zkušenosti s léčbou HBV pomocí NA u pacientů po transplantaci ledviny. Práci jsme publikovali jako „original letter“ v časopise *Journal of Hepatology*. Pro tuto formu publikace jsme se rozhodli po seznámení s prací francouzských autorů<sup>66</sup>, kteří na podobném souboru pacientů dosáhli identických výsledků. V té době ještě nebyla plná shoda na prospěšnosti dlouhodobého podávání NA pacientům po transplantaci ledviny infikovaným HBV. Ve shodě s francouzskými autory jsme prokázali signifikantní zlepšení přežití pacientů i štěpů léčených dlouhodobě NA třetí generace ve srovnání s neléčenými historickými kontrolami i s pacienty léčenými nižšími generacemi NA. Navíc jsme neprokázali negativní vliv podávaných NA na funkci štěpu ledviny.

Naše první výsledky léčby chronické hepatitidy C jsme publikovali v roce 2007 v reakci na publikovanou práci italských autorů<sup>224</sup>. Volili jsme proto formu publikace „letter to the editor“ (**příloha 3**), přestože se jednalo o data získávaná během předchozích 5 let a velikost našeho souboru byla srovnatelná s originálními pracemi jiných autorů, které jsou vyjmenovány v tabulce 5. Naším cílem bylo zpochybnit výsledky italských autorů, jejichž práce vytvářela falešný dojem, že léčba chronické hepatitidy C kombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV je vysoce účinná i pacientů infikovaných genotypem 1 a je provázena nečetnými a nezávažnými nežádoucími účinky. Takto vysoké účinnosti bylo

možno dosáhnout jen velmi selektovaným výběrem pacientů s předpoklady pro dobrou toleranci léčby. Za nepřijatelnou selekci lze považovat vytváření kontrolní skupiny ze stejného počtu pacientů, kteří léčbu pegylovaným IFN- $\alpha$  odmítli. Skupina pacientů léčených se od skupiny kontrolní nelišila v základních demografických a laboratorních parametrech, rozdíly v přítomnosti komorbidit ale autoři neuvedli. Skutečnost, že polovina z původního souboru 70 pacientů nedala souhlas s léčbou, je též překvapující. Hemodialyzovaní pacienti jsou obvykle díky nesmírně psychické i fyzické zátěži spojené s pravidelnou hemodialýzou velmi senzitivní a snaží se vyhnout dalším možným obtížím. Po detailním poučení o rizicích vyplývajících z chronické HCV infekce, možnostech zvládnání nežádoucích účinků a dostatečném čase na rozmyšlenou však léčbu pegylovaným IFN- $\alpha$  na našem pracovišti neodmítali. Na podporu našich argumentů jsme předložili soubor 16 hemodialyzovaných pacientů infikovaných genotypem 1b, kteří byli k léčbě indikováni dle standardních kritérií, tj. kontraindikováni byli pouze ti, kteří měli absolutní kontraindikaci podání pegylovaného IFN- $\alpha$ . Vyléčit se nám podařilo 11 z 16 pacientů (SVR u 68,8% léčených pacientů), což byl velmi dobrý výsledek při srovnání s výsledky dalších autorů popsanych v tabulce 5. Domníváme se, že na úspěšnosti léčby našeho souboru se podílela skutečnost, že podávání erythropoetinu bylo v daném období již standardním postupem v péči o hemodialyzované pacienty v ČR. Anémie při protivirové léčbě nebyla proto tak zásadním problémem jako u autorů, kteří erythropoetin pacientům podávat nemohli. Dalším přínosem naší práce je identifikace rizikových faktorů rozvoje akutní rejeckce nefunkčního štěpu ledviny. V našem souboru bylo 6 pacientů léčených pro HCV infekci po selhání štěpu ledviny, akutní rejeckce štěpu se rozvinula pouze dvou z nich, v obou případech byla doba od ukončení imunosupresivní léčby do zahájení léčby pegylovaným IFN- $\alpha$  kratší než jeden rok. Oba pacienti museli podstoupit urgentní graftektomii, jejich léčba HCV infekce přesto byla úspěšná. V naší další praxi jsme léčbu pegylovaným IFN- $\alpha$  zahajovali pouze u pacientů se štěpem ledviny in situ více než rok po selhání funkce štěpu a ukončení imunosupresivní léčby. V případě, že uvedený interval byl kratší a pacient nechtěl čekat, musel podstoupit graftektomii. S akutní rejeckí nefunkčního štěpu ledviny jsme se v dalších letech již nesetkali.

Další soubor hemodialyzovaných pacientů léčených pegylovaným IFN- $\alpha$  pro chronickou HCV infekci jsme popsali v roce 2015 (**příloha 4**). Od roku 2011, kdy byla

zavedena pro praxe první přímo působící antivirotika, se situace v léčbě chronické HCV infekce měnila, očekávalo se zavedení bezinterferonových režimů. Měnil se i pohled na léčbu hemodialyzovaných pacientů, cílem bylo vybírat k léčbě pegylovaným IFN- $\alpha$  pouze pacienty s vysokou šancí na dosažení eliminace viru (SVR) a pacienty s nízkou šancí nebo závažnými komorbiditami nechat čekat na bezpečnější a účinnější bezinterferonové režimy. Odhad pravděpodobnosti úspěchu léčby se stal důležitým faktorem při rozhodování pacientů, zda poskytnou souhlas s léčbou pegylovaným IFN- $\alpha$ . V té době byl již znám nejsilnější prediktor dosažení SVR, kterým byl genotyp *IL28B*. Na základě kombinace genotypu *IL28B*, neinvazivně posouzeného stupně fibrózy jater a případně i odpovědi na předchozí léčbu bylo možno vybrat skupinu pacientů s pravděpodobností dosažení SVR mezi 80–90 %. Z tohoto pohledu byla dřívější úspěšnost léčby (68,8 %) nedostatečná pro přesvědčení pacienta k zahájení léčby pegylovaným IFN- $\alpha$ . Problémem byla skutečnost, že veškeré výše popsané prediktory úspěšnosti léčby, zejména genotyp *IL28B*, byly identifikovány a ověřeny jen u pacientů s normální funkcí ledvin. Analogická data pro hemodialyzované pacienty nebyla k dispozici. Náš další soubor léčených hemodialyzovaných pacientů jsme proto rozšířili o identicky léčené a hodnotitelné pacienty dalších dvou spoluautorů. Na souboru 39 hemodialyzovaných pacientů jsme pak vyhodnotili sílu jednotlivých prediktorů dosažení SVR. Zjistili jsme, že nízká iniciální virémie je u hemodialyzovaných pacientů silnějším prediktorem léčby než genotyp *IL28B*: nízkou iniciální virémií měli všichni pacienti s příznivým (CC) genotypem *IL28B*, nízkou iniciální virémií ale měla i polovina pacientů s CT genotypem *IL28B*. Ve skupině pacientů s nízkou iniciální virémií (HCV RNA < 600000 IU/ml) jsme dosáhli SVR u 24 z 28 pacientů (85,7 % vyléčených). Na základě nízké iniciální virémie jsem tak byli schopni vybrat hemodialyzované pacienty infikované špatně léčitelným genotypem 1b, kteří měli vysokou šanci na vyléčení režimem s pegylovaným IFN- $\alpha$ . Naštěstí jsme se sami popsanému výběru hemodialyzovaných pacientů nemuseli sami věnovat, neboť krátce po publikaci naší práce se bezinterferonové režimy staly dostupnými v ČR k léčbě chronické HCV infekce u této specifické skupiny pacientů. Nicméně naše doporučení, jak vybírat hemodialyzované pacienty k léčbě pegylovaným IFN- $\alpha$ , může stále najít uplatnění v oblastech, kde bezinterferonová léčba není k dispozici vůbec nebo jen v omezeném rozsahu.

**Přílohou 5** je práce, která vznikla na základě řešení grantu IGA MZ ČR, který se zabýval prediktivními faktory úspěšné léčby chronické HCV infekce režimy založenými na pegylovaném IFN- $\alpha$ . U pacientů léčených trojkombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  s RBV a s boceprevirem nebo s telaprevirem jsme zkoumali vývoj exprese interferon senzitivních genů s v průběhu léčby v mononukleárech z periferní krve (PBMC). Zjistili jsme, že přidání NS3-4A inhibitoru první generace k pegylovanému IFN- $\alpha$  a RBV nedokáže zlepšit zvýšit aktivitu interferon senzitivních genů v PBMC v iniciační fázi léčby, která je pro dosažení SVR rozhodující, u pacientů s pokročilou fibrózou nebo cirhózou jater a u pacientů, kteří dříve neodpověděli na léčbu pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV. Zjistili jsme, že pravděpodobnost dosažení SVR léčbou trojkombinací závisí na iniciační expresi genu *USP18* a vzestupu jeho exprese po zahájení léčby. Tyto výsledky teoreticky vysvětlily nízkou účinnost trojkombinace pegylovaného IFN- $\alpha$ , RBV a proteázového inhibitoru první generace (bocepreviru nebo telapreviru) v léčbě specifických skupin pacientů. Získané výsledky též podporují klinické doporučení, aby cirhotici a pacienti, kteří v minulosti neodpověděli na dvojkombinaci pegylovaného IFN- $\alpha$  s RBV, byli přednostně léčeni bezinterferonovými režimy.

**Příloha 6** je publikací výsledků multicentrické klinické studie, klinického hodnocení léčiva (C-EDGE H2H)<sup>239</sup>. Studie jsme se účastnili jako jedno z center a po jejím ukončení jsem přijal úlohu koordinátora při hodnocení výsledků. Na základě výsledků předaných sponzorem jsem připravil návrh rukopisu publikace. Do finální podoby pak rukopis upravil sponzorem pověřený rodilý mluvčí a grafik. Tato publikace je významná z hlediska léčby chronické HCV infekce u specifických skupin pacientů ve dvou bodech. Jedná se hodnocení bezpečnosti a účinnosti léčby kombinací GZR a EBR, tj. kombinace, jejíž vysoká účinnost a bezpečnost byly v předchozí klinické studii (C-SURFER)<sup>165</sup> ověřena i u pacientů s různým stupněm renální insuficience včetně hemodialyzovaných pacientů. Cíle současné studie bylo zhodnotit účinnost zmíněné kombinace ve východoevropské populaci. Účinnost jednotlivých přímo působících antivirotik může být regionálně odlišná v závislosti na prevalenci RAV v různých populacích infikovaných pacientů. Z nepřímého srovnání mezi výskytem RAV (NS5A i NS3 specifických) ve studiích prováděných na pacientech mimo Východní Evropu vyplynulo, že jejich prevalence je ve východoevropské populaci nižší (32 % pacientů s NS3 RAV a 14 % NS5A RAV ve studii C-WORTHY<sup>240</sup> a 17 % resp. 12 %

ve studii C-EDGE H2H). V souladu s tímto srovnáním byla i účinnost GZR a EBR ve studii C-EDGE H2H lepší než ve studiích prováděných v USA, Kanadě a v Západní Evropě. Kombinací GZR a EBR se ve studii C-EDGE H2H vyléčilo 128 ze 129 pacientů (99,7 %) zahrnujíc i cirhotiky a pacienty, kteří dříve neodpověděli na léčbu pegylovaným IFN- $\alpha$  a RBV, ve studii C-WORTHY byla účinnost ve všech 4 větvích v rozmezí 90–100 %. Kombinace GZR a EBR v jedné tabletě získala po ukončení studie C-EDGE H2H registraci i v Evropě včetně ČR. Druhým bodem, kterým tato studie přispěla k prohloubení poznatků o léčbě specifických skupin, bylo srovnání účinnosti a snášenlivosti kombinace GZR a EBR s účinností a snášenlivostí léčby v kontrolním rameni studie, s kombinací pegylovaný IFN- $\alpha$ , RBV a SOF. Studie prokázala vyšší účinnost EBR a GZR proti zmíněné trojkombinaci s pegylovaným IFN- $\alpha$ . Rozdíl v účinnosti byl způsoben horší účinností režimu založeného na pegylovaném IFN- $\alpha$  u pacientů, kteří svým profilem splňují kritéria pro zařazení do některé ze specifických skupin, u pacientů s cirhózou a u pacientů v minulosti neúspěšně léčených kombinací pegylovaného IFN- $\alpha$  a RBV. Tento výsledek vypovídá, že ani přidání nejúčinnějšího přímo působícího antivirotika SOF k pegylovanému IFN- $\alpha$  a RBV nedokáže u specifických skupin pacientů (cirhotiků, dříve neúspěšně léčených pacientů) prolomit neschopnost stimulace interferon senzitivních genů a je klinickým korelátem dat, která jsme získali i v naší práci.

**Přílohou 7** je naše první práce týkající se výsledků bezinterferonové léčby chronické hepatitidy C u hemodialyzovaných pacientů. Práce popisuje úspěšnou léčbu 6 pacientů infikovaných genotypem 3a. Ačkoliv soubor zahrnuje jen 6 pacientů, je v současné době největším popsaným souborem hemodialyzovaných pacientů infikovaných genotypem 3, dosud publikované práce se zabývaly především bezinterferonovou léčbou u pacientů infikovaných genotypem 1. Ze stejného důvodu není dosud pro hemodialyzované pacienty k dispozici standardní bezinterferonový režim, jehož účinnost a bezpečnost by byla ověřena v prospektivní studii. Léčebný režim v podobě redukováné dávky SOF a plné dávky DCV jsme vybrali na základě dostupných dat o virologické účinnosti a farmakokinetice obou preparátů. Zvoleným režimem jsme u všech 6 pacientů dosáhli SVR, včetně dvou, kteří již měli kompenzovanou jaterní cirhózu. Tolerance léčby byla vynikající. Zmíněnou kombinaci SOF s DCV považujeme za vhodnou



alternativu pro hemodialyzované pacienty s genotypem 3, kteří se v současnosti připravují na transplantaci ledviny a nemohou čekat na schválení režimů pangentypálních.

**Přílohou 8** je česká práce hodnotící naše výsledky v léčbě rekurence chronické hepatitidy C u pacientů po transplantaci jater. Práce zhodnotila celkem 149 pacientů transplantovaných pro jaterní cirhózu při chronické HCV infekci v letech 1995–2013. Protivirovou léčbu založenou na interferonu  $\alpha$  (konvenční IFN- $\alpha$  nebo pegylovaný IFN- $\alpha$ , obojí s RBV) mohlo zahájit jen 82, zbývající léčbu zahájit nemohli pro absolutní kontraindikaci podání interferonu  $\alpha$ . Z 82 léčených pacientů dosáhlo jen SVR jen 39 pacientů. Vzhledem ke skutečnosti, že všichni byli infikováni genotypem 1b, se jednalo o velmi dobrý výsledek. Hlavní přínosem této práce bylo zdokumentování nepříznivého vývoje a vysoké mortality pacientů s rekurencí HCV po transplantaci jater v ČR. Za pozornost stojí graf č. 3, který dokládá vysokou mortalitu pacientů, kteří SVR nedosáhli a nebo nebyli vůbec léčeni vůbec. Data obsažená v této práci byla hlavním argumentem při jednání o úhradě léčby HCV infekce bezinterferonovými režimy kandidátům transplantace jater a pacientům po transplantaci jater v roce 2014. Od druhé poloviny roku 2014, kdy jsme mohli začít zmíněné skupiny pacientů léčit bezinterferonovými režimy, byla transplantace jater provedena u dalších 33 pacientů, za uvedené období jsme již nezaznamenali žádné úmrtí na rekurenci HCV infekce po transplantaci jater.

## Seznam příloh

1. Šperl J, Fraňková S, Kieslichová E, Oliverius M, Janoušek L, Honsová E, Trunečka P, Špičák J. Urgent liver transplantation for chemotherapy-induced HBV reactivation: a suitable option in patients recently treated for malignant lymphoma. *Transplant Proc.* 2013 Sep;45(7):2834-7. **IF 0,984.**
2. Šperl J, Fraňková S, Špičák J, Viklický O. Further evidence of the benefits associated with antiviral treatment in kidney allograft recipients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2013 Apr;58(4):833-5. **IF 10,401.**
3. Šperl J, Petrášek J, Špičák J, Viklický O. Acute rejection of non-functional allograft in kidney transplant recipients with hepatitis C treated with peginterferon-alpha 2a. *J Hepatol.* 2008 Sep;49(3):461-2. **IF 7,056.**
4. Šperl J, Fraňková S, Šenkeříková R, Neřoldová M, Hejda V, Volfová M, Merta D, Viklický O, Špičák J, Jirsa M. Relevance of low viral load in haemodialysed patients with chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* 2015 May 14;21(18):5496-504. **IF 3,365.**
5. Fraňková S, Jirsa M, Merta D, Neřoldová M, Urbánek P, Šenkeříková R, Špičák J, Šperl J. USP18 downregulation in peripheral blood mononuclear cells predicts nonresponse to interferon-based triple therapy in patients with chronic hepatitis C, genotype 1: a pilot study. *Ther Clin Risk Manag.* 2015 Dec 17;11:1853-61. **IF 1,903.**
6. Šperl J, Horvath G, Halota W, Ruiz-Tapiador JA, Streinu-Cercel A, Jancoriene L, Werling K, Kileng H, Koklu S, Gerstoft J, Urbanek P, Flisiak R, Leiva R, Kazenaite E, Prinzing R, Patel S, Qiu J, Asante-Appiah E, Wahl J, Nguyen BY, Barr E, Platt HL. Efficacy and safety of elbasvir/grazoprevir and sofosbuvir/pegylated interferon/ribavirin: A phase III randomized controlled trial. *J Hepatol.* 2016 Dec;65(6):1112-1119. **IF 12,486.**
7. Šperl J, Fraňková S, Kreidlová M, Merta D, Tóthová M, Špičák J. Combination of sofosbuvir and daclatasvir in the treatment of genotype 3 chronic hepatitis C virus infection in patients on maintenance hemodialysis. *Ther Clin Risk Manag.* 2017 Jun 22;13:733-738. **IF 2,2.**
8. Šperl J, Fraňková S, Trunečka P. Transplantace jater pro chronickou hepatitidu C, význam protivirové léčby. *Gastroenterologie a hepatologie.* 2013, **67(5)**, 407-412. ISSN 1804-7874.

## Literatura

1. Lin CL, Kao JH. Hepatitis B viral factors and clinical outcomes of chronic hepatitis B. *J Biomed Sci.* 2008;15(2):137-145.
2. McMahon BJ. Epidemiology and natural history of hepatitis B. *Semin Liver Dis.* 2005;25 Suppl 1:3-8.
3. Norder H, Courouce AM, Coursaget P, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology.* 2004;47(6):289-309.
4. Neurath AR, Kent SB, Strick N, Parker K. Identification and chemical synthesis of a host cell receptor binding site on hepatitis B virus. *Cell.* 1986;46(3):429-436.
5. Glebe D, Urban S. Viral and cellular determinants involved in hepadnaviral entry. *World J Gastroenterol.* 2007;13(1):22-38.
6. Newbold JE, Xin H, Tencza M, et al. The covalently closed duplex form of the hepadnavirus genome exists in situ as a heterogeneous population of viral minichromosomes. *J Virol.* 1995;69(6):3350-3357.
7. Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology.* 2004;126(7):1750-1758.
8. Block TM, Guo H, Guo JT. Molecular virology of hepatitis B virus for clinicians. *Clin Liver Dis.* 2007;11(4):685-706, vii.
9. Alberti A, Diana S, Scullard GH, Eddleston WF, Williams R. Full and empty Dane particles in chronic hepatitis B virus infection: relation to hepatitis B e antigen and presence of liver damage. *Gastroenterology.* 1978;75(5):869-874.
10. Kara IH, Yilmaz ME, Suner A, Kadiroglu AK, Isikoglu B. The evaluation of immune responses that occur after HBV infection and HBV vaccination in hemodialysis patients. *Vaccine.* 2004;22(29-30):3963-3967.
11. Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science.* 1999;284(5415):825-829.
12. Visvanathan K, Skinner NA, Thompson AJ, et al. Regulation of Toll-like receptor-2 expression in chronic hepatitis B by the precore protein. *Hepatology.* 2007;45(1):102-110.
13. Weber F, Kochs G, Haller O. Inverse interference: how viruses fight the interferon system. *Viral Immunol.* 2004;17(4):498-515.
14. Lampertico P, Maini M, Papatheodoridis G. Optimal management of hepatitis B virus infection - EASL Special Conference. *J Hepatol.* 2015;63(5):1238-1253.
15. Rehermann B. Intrahepatic T cells in hepatitis B: viral control versus liver cell injury. *J Exp Med.* 2000;191(8):1263-1268.
16. European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee, European Association for the Study of the L. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2017;67(2):370-398.
17. Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, et al. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2003;10(4):298-305.

18. Marcellin P, Lau GK, Bonino F, et al. Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2004;351(12):1206-1217.
19. Janssen HL, van Zonneveld M, Senturk H, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet*. 2005;365(9454):123-129.
20. Marcellin P, Bonino F, Lau GK, et al. Sustained response of hepatitis B e antigen-negative patients 3 years after treatment with peginterferon alpha-2a. *Gastroenterology*. 2009;136(7):2169-2179 e2161-2164.
21. Brunetto MR, Moriconi F, Bonino F, et al. Hepatitis B virus surface antigen levels: a guide to sustained response to peginterferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2009;49(4):1141-1150.
22. Liaw YF, Raptopoulou-Gigi M, Cheinquer H, et al. Efficacy and safety of entecavir versus adefovir in chronic hepatitis B patients with hepatic decompensation: a randomized, open-label study. *Hepatology*. 2011;54(1):91-100.
23. Liaw YF, Sheen IS, Lee CM, et al. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), emtricitabine/TDF, and entecavir in patients with decompensated chronic hepatitis B liver disease. *Hepatology*. 2011;53(1):62-72.
24. Papatheodoridis GV, Chan HL, Hansen BE, Janssen HL, Lampertico P. Risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: assessment and modification with current antiviral therapy. *J Hepatol*. 2015;62(4):956-967.
25. Papatheodoridis GV, Dalekos GN, Yurdaydin C, et al. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in Caucasian chronic hepatitis B patients receiving entecavir or tenofovir. *J Hepatol*. 2015;62(2):363-370.
26. Su TH, Hu TH, Chen CY, et al. Four-year entecavir therapy reduces hepatocellular carcinoma, cirrhotic events and mortality in chronic hepatitis B patients. *Liver Int*. 2016;36(12):1755-1764.
27. Lai CL, Chien RN, Leung NW, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med*. 1998;339(2):61-68.
28. Lok AS, Lai CL, Leung N, et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2003;125(6):1714-1722.
29. Chang ML, Chien RN, Yeh CT, Liaw YF. Virus and transaminase levels determine the emergence of drug resistance during long-term lamivudine therapy in chronic hepatitis B. *J Hepatol*. 2005;43(1):72-77.
30. Marcellin P, Chang TT, Lim SG, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2003;348(9):808-816.
31. Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2003;348(9):800-807.
32. Liaw YF, Gane E, Leung N, et al. 2-Year GLOBE trial results: telbivudine is superior to lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2009;136(2):486-495.
33. Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, et al. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2008;359(23):2442-2455.

34. Gish RG, Lok AS, Chang TT, et al. Entecavir therapy for up to 96 weeks in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2007;133(5):1437-1444.
35. Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, et al. Long-term monitoring shows hepatitis B virus resistance to entecavir in nucleoside-naïve patients is rare through 5 years of therapy. *Hepatology*. 2009;49(5):1503-1514.
36. Yao GB, Zhu M, Cui ZY, Wang BE, Yao JL, Zeng MD. A 7-year study of lamivudine therapy for hepatitis B virus e antigen-positive chronic hepatitis B patients in China. *J Dig Dis*. 2009;10(2):131-137.
37. Papatheodoridis G, Vlachogiannakos I, Cholongitas E, et al. Discontinuation of oral antivirals in chronic hepatitis B: A systematic review. *Hepatology*. 2016;63(5):1481-1492.
38. Lampertico P, Chan HL, Janssen HL, Strasser SI, Schindler R, Berg T. Review article: long-term safety of nucleoside and nucleotide analogues in HBV-monoinfected patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2016;44(1):16-34.
39. Buti M, Gane E, Seto WK, et al. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection: a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016;1(3):196-206.
40. Chan HL, Fung S, Seto WK, et al. Tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B virus infection: a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016;1(3):185-195.
41. Mast EE, Margolis HS, Fiore AE, et al. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) part 1: immunization of infants, children, and adolescents. *MMWR Recomm Rep*. 2005;54(RR-16):1-31.
42. Chang MH, You SL, Chen CJ, et al. Long-term Effects of Hepatitis B Immunization of Infants in Preventing Liver Cancer. *Gastroenterology*. 2016;151(3):472-480 e471.
43. McAleer WJ, Buynak EB, Maigetter RZ, Wampler DE, Miller WJ, Hilleman MR. Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast. *Nature*. 1984;307(5947):178-180.
44. Fabrizi F, Martin P, Dixit V, Bunnapradist S, Dulai G. Meta-analysis: the effect of age on immunological response to hepatitis B vaccine in end-stage renal disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;20(10):1053-1062.
45. Samuel D, Muller R, Alexander G, et al. Liver transplantation in European patients with the hepatitis B surface antigen. *N Engl J Med*. 1993;329(25):1842-1847.
46. Hui CK, Bowden S, Jackson K, et al. Clinical significance of intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B patients who received cytotoxic chemotherapy. *Blood*. 2005;105(6):2616-2617.
47. Yeo W, Zee B, Zhong S, et al. Comprehensive analysis of risk factors associating with Hepatitis B virus (HBV) reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Br J Cancer*. 2004;90(7):1306-1311.
48. Iloeje UH, Yang HI, Su J, et al. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology*. 2006;130(3):678-686.

49. Kremsdorf D, Soussan P, Paterlini-Brechot P, Brechot C. Hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: paradigms for viral-related human carcinogenesis. *Oncogene*. 2006;25(27):3823-3833.
50. Lau JY, Bain VG, Davies SE, et al. High-level expression of hepatitis B viral antigens in fibrosing cholestatic hepatitis. *Gastroenterology*. 1992;102(3):956-962.
51. Marcucci F, Mele A, Spada E, et al. High prevalence of hepatitis B virus infection in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2006;91(4):554-557.
52. Hoofnagle JH. Reactivation of hepatitis B. *Hepatology*. 2009;49(5 Suppl):S156-165.
53. Lok AS, Liang RH, Chiu EK, Wong KL, Chan TK, Todd D. Reactivation of hepatitis B virus replication in patients receiving cytotoxic therapy. Report of a prospective study. *Gastroenterology*. 1991;100(1):182-188.
54. Lau GK, Yiu HH, Fong DY, et al. Early is superior to deferred preemptive lamivudine therapy for hepatitis B patients undergoing chemotherapy. *Gastroenterology*. 2003;125(6):1742-1749.
55. Lau GK, Leung YH, Fong DY, et al. High hepatitis B virus (HBV) DNA viral load as the most important risk factor for HBV reactivation in patients positive for HBV surface antigen undergoing autologous hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2002;99(7):2324-2330.
56. Terrier B, Pol S, Thibault V, Gottenberg JE, Cacoub P, Groupe d'etude et de recherche en medecine interne et maladies infectieuses sur le virus de l'hepatite C. [Management of the risk of hepatitis B virus reactivation in patients receiving immunosuppressive and immunomodulatory agents in internal medicine: data from the REACTI-B survey and proposal for a management algorithm]. *Rev Med Interne*. 2012;33(1):4-12.
57. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology*. 2009;50(3):661-662.
58. Perrillo RP, Gish R, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute technical review on prevention and treatment of hepatitis B virus reactivation during immunosuppressive drug therapy. *Gastroenterology*. 2015;148(1):221-244 e223.
59. Loomba R, Rowley A, Wesley R, et al. Systematic review: the effect of preventive lamivudine on hepatitis B reactivation during chemotherapy. *Ann Intern Med*. 2008;148(7):519-528.
60. Sperl J, Frankova S, Spicak J, Viklicky O. Further evidence of the benefits associated with antiviral treatment in kidney allograft recipients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2013;58(4):833-835.
61. Esteve M, Saro C, Gonzalez-Huix F, Suarez F, Forne M, Viver JM. Chronic hepatitis B reactivation following infliximab therapy in Crohn's disease patients: need for primary prophylaxis. *Gut*. 2004;53(9):1363-1365.
62. Berger A, Preiser W, Kachel HG, Sturmer M, Doerr HW. HBV reactivation after kidney transplantation. *J Clin Virol*. 2005;32(2):162-165.
63. Vallet-Pichard A, Fontaine H, Mallet V, Pol S. Viral hepatitis in solid organ transplantation other than liver. *J Hepatol*. 2011;55(2):474-482.
64. Mathurin P, Mouquet C, Poynard T, et al. Impact of hepatitis B and C virus on kidney transplantation outcome. *Hepatology*. 1999;29(1):257-263.

65. Ahn HJ, Kim MS, Kim YS, et al. Clinical outcome of renal transplantation in patients with positive pre-transplant hepatitis B surface antigen. *J Med Virol.* 2007;79(11):1655-1663.
66. Coscinea S, Fontaine H, Meritet JF, et al. Benefits associated with antiviral treatment in kidney allograft recipients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2012;57(1):55-60.
67. Cooke GS, Lemoine M, Thursz M, et al. Viral hepatitis and the Global Burden of Disease: a need to regroup. *Journal of viral hepatitis.* 2013;20(9):600-601.
68. Moradpour D, Penin F, Rice CM. Replication of hepatitis C virus. *Nature reviews. Microbiology.* 2007;5(6):453-463.
69. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2005;42(4):962-973.
70. Asselah T, Bieche I, Sabbagh A, et al. Gene expression and hepatitis C virus infection. *Gut.* 2009;58(6):846-858.
71. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection 2015. <http://www.easl.eu> 2015.
72. van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, et al. Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *Jama.* 2012;308(24):2584-2593.
73. Garimella T, Wang R, Luo WL, et al. Single-dose pharmacokinetics and safety of daclatasvir in subjects with renal function impairment. *Antivir Ther.* 2015;20(5):535-543.
74. Singh T, Guirguis J, Anthony S, Rivas J, Hanouneh IA, Alkhouri N. Sofosbuvir-based treatment is safe and effective in patients with chronic hepatitis C infection and end stage renal disease: a case series. *Liver Int.* 2016;36(6):802-806.
75. SPC Harvoni: [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/003850/WC500177995.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003850/WC500177995.pdf).
76. SPC Eplusa: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/004210/WC500211151.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/004210/WC500211151.pdf).
77. SPC Zepatier: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/004126/WC500211235.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/004126/WC500211235.pdf).
78. SPC Daklinza: [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/003768/WC500172848.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003768/WC500172848.pdf).
79. Gevers TJ, Burger D, Schipper-Reintjes E, Kooistra MP, Richter C. Full-dose sofosbuvir and daclatasvir for chronic hepatitis C infection in haemodialysis patients. *Neth J Med.* 2016;74(5):225-227.
80. Pawlotsky JM, Feld JJ, Zeuzem S, Hoofnagle JH. From non-A, non-B hepatitis to hepatitis C virus cure. *Journal of hepatology.* 2015;62(1 Suppl):S87-99.
81. Wakita T, Pietschmann T, Kato T, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nature medicine.* 2005;11(7):791-796.
82. Andre P, Perlemuter G, Budkowska A, Brechot C, Lotteau V. Hepatitis C virus particles and lipoprotein metabolism. *Seminars in liver disease.* 2005;25(1):93-104.
83. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science.* 1998;282(5386):103-107.

84. Welzel T, Bhardwaj N, Hedskog C, et al. Global Epidemiology of HCV Subtypes and Resistance-associated Substitutions Evaluated by Sequencing-Based Subtype Analyses. *Journal of hepatology*. 2017.
85. Bartenschlager R, Lohmann V, Penin F. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection. *Nature reviews. Microbiology*. 2013;11(7):482-496.
86. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013;57(4):1333-1342.
87. Nemecek V, Castkova J, Fritz P, et al. The 2001 serological survey in the Czech Republic-viral hepatitis. *Central European journal of public health*. 2003;11 Suppl:S54-61.
88. Chlibek Roman SJ, Sosovickova Renata, Gal Petr, Dite Petr, Stepanova Vlasta, Pliskova Lenka, Plisek Stanislav. Hepatitis C prevalence in the general adult population in the Czech Republic – results of a seroprevalence study. *PLoS One*. 2017; 12(4):e0175525.
89. Wedemeyer H, Duberg AS, Buti M, et al. Strategies to manage hepatitis C virus (HCV) disease burden. *Journal of viral hepatitis*. 2014;21 Suppl 1:60-89.
90. Cornberg M, Razavi HA, Alberti A, et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada and Israel. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2011;31 Suppl 2:30-60.
91. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2011;17(2):107-115.
92. Wiegand J, Deterding K, Cornberg M, Wedemeyer H. Treatment of acute hepatitis C: the success of monotherapy with (pegylated) interferon alpha. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2008;62(5):860-865.
93. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*. 2009;461(7265):798-801.
94. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *The New England journal of medicine*. 1995;332(22):1463-1466.
95. Darby SC, Ewart DW, Giangrande PL, et al. Mortality from liver cancer and liver disease in haemophilic men and boys in UK given blood products contaminated with hepatitis C. UK Haemophilia Centre Directors' Organisation. *Lancet*. 1997;350(9089):1425-1431.
96. Bjoro K, Froland SS, Yun Z, Samdal HH, Haaland T. Hepatitis C infection in patients with primary hypogammaglobulinemia after treatment with contaminated immune globulin. *The New England journal of medicine*. 1994;331(24):1607-1611.
97. Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. Irish Hepatology Research Group. *The New England journal of medicine*. 1999;340(16):1228-1233.
98. Seeff LB, Miller RN, Rabkin CS, et al. 45-year follow-up of hepatitis C virus infection in healthy young adults. *Annals of internal medicine*. 2000;132(2):105-111.
99. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology*. 2000;32(1):91-96.



100. Wiese M, Grungreiff K, Guthoff W, et al. Outcome in a hepatitis C (genotype 1b) single source outbreak in Germany--a 25-year multicenter study. *Journal of hepatology*. 2005;43(4):590-598.
101. Freedman ND, Everhart JE, Lindsay KL, et al. Coffee intake is associated with lower rates of liver disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2009;50(5):1360-1369.
102. Pradat P, Voirin N, Tillmann HL, Chevallier M, Trepo C. Progression to cirrhosis in hepatitis C patients: an age-dependent process. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2007;27(3):335-339.
103. Marcellin P, Asselah T, Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36(5 Suppl 1):S47-56.
104. Bochud PY, Cai T, Overbeck K, et al. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Journal of hepatology*. 2009;51(4):655-666.
105. Nkontchou G, Ziol M, Aout M, et al. HCV genotype 3 is associated with a higher hepatocellular carcinoma incidence in patients with ongoing viral C cirrhosis. *Journal of viral hepatitis*. 2011;18(10):e516-522.
106. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358(9286):958-965.
107. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *The New England journal of medicine*. 2002;347(13):975-982.
108. 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. *Annals of internal medicine*. 2004;140(5):346-355.
109. 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. *Journal of hepatology*. 2006;44(1):97-103.
110. McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *The New England journal of medicine*. 2009;361(6):580-593.
111. Walsh MJ, Jonsson JR, Richardson MM, et al. Non-response to antiviral therapy is associated with obesity and increased hepatic expression of suppressor of cytokine signalling 3 (SOCS-3) in patients with chronic hepatitis C, viral genotype 1. *Gut*. 2006;55(4):529-535.
112. Chen L, Borozan I, Feld J, et al. Hepatic gene expression discriminates responders and nonresponders in treatment of chronic hepatitis C viral infection. *Gastroenterology*. 2005;128(5):1437-1444.
113. Randall G, Chen L, Panis M, et al. Silencing of USP18 potentiates the antiviral activity of interferon against hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*. 2006;131(5):1584-1591.
114. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*. 2009;461(7262):399-401.

115. Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, et al. Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *The New England journal of medicine*. 1986;315(25):1575-1578.
116. 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. *The New England journal of medicine*. 1998;339(21):1485-1492.
117. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet*. 1998;352(9138):1426-1432.
118. Reichard O, Andersson J, Schvarcz R, Weiland O. Ribavirin treatment for chronic hepatitis C. *Lancet*. 1991;337(8749):1058-1061.
119. Pawlotsky JM, Dahari H, Neumann AU, et al. Antiviral action of ribavirin in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2004;126(3):703-714.
120. Herrmann E, Lee JH, Marinos G, Modi M, Zeuzem S. Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. *Hepatology*. 2003;37(6):1351-1358.
121. Lindsay KL, Trepo C, Heintges T, et al. 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.
122. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *The New England journal of medicine*. 2000;343(23):1666-1672.
123. Moreno C, Deltenre P, Pawlotsky JM, Henrion J, Adler M, Mathurin P. Shortened treatment duration in treatment-naive genotype 1 HCV patients with rapid virological response: a meta-analysis. *Journal of hepatology*. 2010;52(1):25-31.
124. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection 2011. <http://www.easl.eu> 2011.
125. 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*. 2010;139(1):120-129 e118.
126. 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.
127. 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*. 2010;376(9742):705-716.
128. Sherman KE, Flamm SL, Afdhal NH, et al. Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *The New England journal of medicine*. 2011;365(11):1014-1024.
129. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *The New England journal of medicine*. 2011;364(13):1195-1206.

130. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *The New England journal of medicine*. 2011;364(25):2405-2416.
131. 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. *The Lancet. Infectious diseases*. 2015;15(1):27-35.
132. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *The New England journal of medicine*. 2011;364(13):1207-1217.
133. Hezode C, Fontaine H, Dorival C, et al. Effectiveness of telaprevir or boceprevir in treatment-experienced patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis. *Gastroenterology*. 2014;147(1):132-142 e134.
134. Pawlotsky JM. The science of direct-acting antiviral and host-targeted agent therapy. *Antiviral therapy*. 2012;17(6 Pt B):1109-1117.
135. Pawlotsky JM. New hepatitis C therapies: the toolbox, strategies, and challenges. *Gastroenterology*. 2014;146(5):1176-1192.
136. EASL. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2016.09.001>.
137. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *The New England journal of medicine*. 2013;368(20):1878-1887.
138. Lawitz E, Poordad F, Brainard DM, et al. Sofosbuvir with peginterferon-ribavirin for 12 weeks in previously treated patients with hepatitis C genotype 2 or 3 and cirrhosis. *Hepatology*. 2015;61(3):769-775.
139. Jacobson IM, Dore GJ, Foster GR, et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a plus ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-1): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2014;384(9941):403-413.
140. Manns M, Marcellin P, Poordad F, et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naive 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.
141. Dore GJ, Lawitz E, Hezode C, et al. Daclatasvir plus peginterferon and ribavirin is noninferior to peginterferon and ribavirin alone, and reduces the duration of treatment for HCV genotype 2 or 3 infection. *Gastroenterology*. 2015;148(2):355-366 e351.
142. Hezode C, Hirschfield GM, Ghesquiere W, et al. Daclatasvir plus peginterferon alfa and ribavirin for treatment-naive chronic hepatitis C genotype 1 or 4 infection: a randomised study. *Gut*. 2015;64(6):948-956.
143. Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *The New England journal of medicine*. 2014;370(3):211-221.
144. Zeuzem S, Dusheiko GM, Salupere R, et al. Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. *The New England journal of medicine*. 2014;370(21):1993-2001.

145. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *The New England journal of medicine*. 2013;368(20):1867-1877.
146. 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-naive patients: the COSMOS randomised study. *Lancet*. 2014;384(9956):1756-1765.
147. Afdhal N, Reddy KR, Nelson DR, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *The New England journal of medicine*. 2014;370(16):1483-1493.
148. Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *The New England journal of medicine*. 2014;370(20):1889-1898.
149. Kowdley KV, Gordon SC, Reddy KR, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for 8 or 12 weeks for chronic HCV without cirrhosis. *The New England journal of medicine*. 2014;370(20):1879-1888.
150. Bourliere M, Bronowicki JP, de Ledinghen V, et al. Ledipasvir-sofosbuvir with or without ribavirin to treat patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis non-responsive to previous protease-inhibitor therapy: a randomised, double-blind, phase 2 trial (SIRIUS). *The Lancet. Infectious diseases*. 2015;15(4):397-404.
151. 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.
152. Feld JJ, Kowdley KV, Coakley E, et al. Treatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *The New England journal of medicine*. 2014;370(17):1594-1603.
153. Ferenci P, Bernstein D, Lalezari J, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with or without ribavirin for HCV. *The New England journal of medicine*. 2014;370(21):1983-1992.
154. Hezode C, Asselah T, Reddy KR, et al. Ombitasvir plus paritaprevir plus ritonavir with or without ribavirin in treatment-naive and treatment-experienced patients with genotype 4 chronic hepatitis C virus infection (PEARL-I): a randomised, open-label trial. *Lancet*. 2015;385(9986):2502-2509.
155. Zeuzem S, Jacobson IM, Baykal T, et al. Retreatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *The New England journal of medicine*. 2014;370(17):1604-1614.
156. Andreone P, Colombo MG, Enejosa JV, et al. ABT-450, ritonavir, ombitasvir, and dasabuvir achieves 97% and 100% sustained virologic response with or without ribavirin in treatment-experienced patients with HCV genotype 1b infection. *Gastroenterology*. 2014;147(2):359-365 e351.
157. Kwo PY, Mantry PS, Coakley E, et al. An interferon-free antiviral regimen for HCV after liver transplantation. *The New England journal of medicine*. 2014;371(25):2375-2382.
158. Poordad F, Hezode C, Trinh R, et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *The New England journal of medicine*. 2014;370(21):1973-1982.

159. 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. *Journal of hepatology*. 2016;64(2):301-307.
160. Feld JJ, Jacobson IM, Hezode C, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection. *The New England journal of medicine*. 2015;373(27):2599-2607.
161. Foster GR, Afdhal N, Roberts SK, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 2 and 3 Infection. *The New England journal of medicine*. 2015;373(27):2608-2617.
162. Zeuzem S, Ghalib R, Reddy KR, et al. Grazoprevir-Elbasvir Combination Therapy for Treatment-Naive Cirrhotic and Noncirrhotic Patients With Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1, 4, or 6 Infection: A Randomized Trial. *Annals of internal medicine*. 2015;163(1):1-13.
163. 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;150(7):1590-1598.
164. Buti M, Gordon SC, Zuckerman E, et al. Grazoprevir, Elbasvir, and Ribavirin for Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection After Failure of Pegylated Interferon and Ribavirin With an Earlier-Generation Protease Inhibitor: Final 24-Week Results From C-SALVAGE. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016;62(1):32-36.
165. Roth D, Nelson DR, Bruchfeld A, et al. Grazoprevir plus elbasvir in treatment-naive and treatment-experienced patients with hepatitis C virus genotype 1 infection and stage 4-5 chronic kidney disease (the C-SURFER study): a combination phase 3 study. *Lancet*. 2015;386(10003):1537-1545.
166. SPC Vosevi: <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/33858>.
167. Bourliere M, Gordon SC, Flamm SL, et al. Sofosbuvir, Velpatasvir, and Voxilaprevir for Previously Treated HCV Infection. *The New England journal of medicine*. 2017;376(22):2134-2146.
168. Jacobson IM, Lawitz E, Gane EJ, et al. Efficacy of 8 Weeks of Sofosbuvir, Velpatasvir, and Voxilaprevir in Patients With Chronic HCV Infection: 2 Phase 3 Randomized Trials. *Gastroenterology*. 2017;153(1):113-122.
169. SPC Maviret: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/EPAR\\_-\\_Summary\\_for\\_the\\_public/human/004430/WC500233680.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/004430/WC500233680.pdf).
170. Forns X, Lee SS, Valdes J, et al. Glecaprevir plus pibrentasvir for chronic hepatitis C virus genotype 1, 2, 4, 5, or 6 infection in adults with compensated cirrhosis (EXPEDITION-1): a single-arm, open-label, multicentre phase 3 trial. *The Lancet. Infectious diseases*. 2017.
171. Kwo PY, Poordad F, Asatryan A, et al. Glecaprevir and pibrentasvir yield high response rates in patients with HCV genotype 1-6 without cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2017;67(2):263-271.
172. Belli LS, Berenguer M, Cortesi PA, et al. Delisting of liver transplant candidates with chronic hepatitis C after viral eradication: A European study. *Journal of hepatology*. 2016.

173. Foster GR, Irving WL, Cheung MC, et al. Impact of direct acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2016;64(6):1224-1231.
174. Cheung MC, Walker AJ, Hudson BE, et al. Outcomes after successful direct-acting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2016.
175. Bruggmann P, Berg T, Ovrehus AL, et al. Historical epidemiology of hepatitis C virus (HCV) in selected countries. *Journal of viral hepatitis*. 2014;21 Suppl 1:5-33.
176. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431-435.
177. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD, American Association for the Study of Liver D. Liver biopsy. *Hepatology*. 2009;49(3):1017-1044.
178. EASL. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of hepatology*. 2015;63(S):S87-S99.
179. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound in medicine & biology*. 2003;29(12):1705-1713.
180. Samir AE, Dhyani M, Vij A, et al. Shear-wave elastography for the estimation of liver fibrosis in chronic liver disease: determining accuracy and ideal site for measurement. *Radiology*. 2015;274(3):888-896.
181. Boursier J, Konate A, Gorea G, et al. Reproducibility of liver stiffness measurement by ultrasonographic elastometry. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2008;6(11):1263-1269.
182. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, et al. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut*. 2007;56(7):968-973.
183. Castera L, Vergniol J, Foucher J, et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2005;128(2):343-350.
184. Degos F, Perez P, Roche B, et al. Diagnostic accuracy of FibroScan and comparison to liver fibrosis biomarkers in chronic viral hepatitis: a multicenter prospective study (the FIBROSTIC study). *Journal of hepatology*. 2010;53(6):1013-1021.
185. Zarski JP, Sturm N, Guechot J, et al. Comparison of nine blood tests and transient elastography for liver fibrosis in chronic hepatitis C: the ANRS HCEP-23 study. *Journal of hepatology*. 2012;56(1):55-62.
186. D'Ambrosio R, Aghemo A, Rumi MG, et al. A morphometric and immunohistochemical study to assess the benefit of a sustained virological response in hepatitis C virus patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2012;56(2):532-543.
187. EASL. EASL–EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*. 2012;56:908-943.
188. EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *J Hepatol* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2015.10.006>. 2016.

189. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *The New England journal of medicine*. 1996;334(11):693-699.
190. ASL–EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*.56:908-943.
191. Berenguer M. Recurrent hepatitis C: worse outcomes established, interventions still inadequate. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2007;13(5):641-643.
192. Berenguer M, Schuppan D. Progression of liver fibrosis in post-transplant hepatitis C: mechanisms, assessment and treatment. *Journal of hepatology*. 2013;58(5):1028-1041.
193. Verna EC, Abdelmessih R, Salomao MA, Lefkowitz J, Moreira RK, Brown RS, Jr. Cholestatic hepatitis C following liver transplantation: an outcome-based histological definition, clinical predictors, and prognosis. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2013;19(1):78-88.
194. Berenguer M. Management of hepatitis C virus in the transplant patient. *Clinics in liver disease*. 2007;11(2):355-376.
195. Everson GT. Treatment of chronic hepatitis C in patients with decompensated cirrhosis. *Reviews in gastroenterological disorders*. 2004;4 Suppl 1:S31-38.
196. Jan Šperl SF, Pavel Trunečka. Transplantace jater pro chronickou hepatidu C, význam protivirové léčby. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2013;67(5):407-412.
197. Dumortier J, Scoazec JY, Chevallier P, Boillot O. Treatment of recurrent hepatitis C after liver transplantation: a pilot study of peginterferon alfa-2b and ribavirin combination. *Journal of hepatology*. 2004;40(4):669-674.
198. Coilly A, Roche B, Dumortier J, et al. Safety and efficacy of protease inhibitors to treat hepatitis C after liver transplantation: a multicenter experience. *Journal of hepatology*. 2014;60(1):78-86.
199. Manns M, Samuel D, Gane EJ, et al. Ledipasvir and sofosbuvir plus ribavirin in patients with genotype 1 or 4 hepatitis C virus infection and advanced liver disease: a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *The Lancet. Infectious diseases*. 2016;16(6):685-697.
200. Curry MP, O'Leary JG, Bzowej N, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV in Patients with Decompensated Cirrhosis. *The New England journal of medicine*. 2015;373(27):2618-2628.
201. Curry MP, Forns X, Chung RT, et al. Sofosbuvir and ribavirin prevent recurrence of HCV infection after liver transplantation: an open-label study. *Gastroenterology*. 2015;148(1):100-107 e101.
202. Charlton M, Gane E, Manns MP, et al. Sofosbuvir and ribavirin for treatment of compensated recurrent hepatitis C virus infection after liver transplantation. *Gastroenterology*. 2015;148(1):108-117.
203. Forns X, Charlton M, Denning J, et al. Sofosbuvir compassionate use program for patients with severe recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Hepatology*. 2015;61(5):1485-1494.

204. Poordad F, Schiff ER, Vierling JM, et al. Daclatasvir with sofosbuvir and ribavirin for hepatitis C virus infection with advanced cirrhosis or post-liver transplantation recurrence. *Hepatology*. 2016;63(5):1493-1505.
205. De Monte A, Courjon J, Anty R, et al. Direct-acting antiviral treatment in adults infected with hepatitis C virus: Reactivation of hepatitis B virus coinfection as a further challenge. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2016;78:27-30.
206. Juan J, Feld JJ. Hepatitis B virus and hepatitis C virus treatment and management in patients receiving immune-modifying agents. *Current opinion in rheumatology*. 2014;26(4):395-403.
207. Mahale P, Kontoyiannis DP, Chemaly RF, et al. Acute exacerbation and reactivation of chronic hepatitis C virus infection in cancer patients. *Journal of hepatology*. 2012;57(6):1177-1185.
208. Caso F, Cantarini L, Morisco F, et al. Current evidence in the field of the management with TNF-alpha inhibitors in psoriatic arthritis and concomitant hepatitis C virus infection. *Expert opinion on biological therapy*. 2015;15(5):641-650.
209. Loras C, Gisbert JP, Saro MC, et al. Impact of surveillance of hepatitis b and hepatitis c in patients with inflammatory bowel disease under anti-TNF therapies: multicenter prospective observational study (REPENTINA 3). *Journal of Crohn's & colitis*. 2014;8(11):1529-1538.
210. Fabrizi F, Lunghi G, Dixit V, Martin P. Meta-analysis: anti-viral therapy of hepatitis C virus-related liver disease in renal transplant patients. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2006;24(10):1413-1422.
211. Aljumah AA, Saeed MA, Al Flaiw AI, et al. Efficacy and safety of treatment of hepatitis C virus infection in renal transplant recipients. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2012;18(1):55-63.
212. Pageaux GP, Hilleret MN, Garrigues V, et al. Pegylated interferon-alpha-based treatment for chronic hepatitis C in renal transplant recipients: an open pilot study. *Transpl Int*. 2009;22(5):562-567.
213. Shu KH, Lan JL, Wu MJ, et al. Ultralow-dose alpha-interferon plus ribavirin for the treatment of active hepatitis C in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2004;77(12):1894-1896.
214. Peck-Radosavljevic M, Boletis J, Besisik F, et al. Low-dose peginterferon alfa-2a is safe and produces a sustained virologic response in patients with chronic hepatitis C and end-stage renal disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2011;9(3):242-248.
215. Sperl J, Frankova S, Senkerikova R, et al. Relevance of low viral load in haemodialysed patients with chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2015;21(18):5496-5504.
216. Goodkin DA, Bieber B, Gillespie B, Robinson BM, Jadoul M. Hepatitis C infection is very rarely treated among hemodialysis patients. *American journal of nephrology*. 2013;38(5):405-412.
217. Ladino M, Pedraza F, Roth D. Hepatitis C Virus Infection in Chronic Kidney Disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2016;27(8):2238-2246.



218. Espinosa M, Martin-Malo A, Alvarez de Lara MA, Aljama P. Risk of death and liver cirrhosis in anti-HCV-positive long-term haemodialysis patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2001;16(8):1669-1674.
219. Mousa DH, Abdalla AH, Al-Shoail G, Al-Sulaiman MH, Al-Hawas FA, Al-Khader AA. Alpha-interferon with ribavirin in the treatment of hemodialysis patients with hepatitis C. *Transplantation proceedings*. 2004;36(6):1831-1834.
220. Rivera M, Gentil MA, Sayago M, et al. Treatment of hepatitis C virus with interferon in hemodialysis patients awaiting kidney transplant. *Transplantation proceedings*. 2005;37(3):1424-1425.
221. Kokoglu OF, Ucmak H, Hosoglu S, et al. Efficacy and tolerability of pegylated-interferon alpha-2a in hemodialysis patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21(3):575-580.
222. Sporea I, Popescu A, Sirli R, et al. Pegylated-interferon alpha 2a treatment for chronic hepatitis C in patients on chronic haemodialysis. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2006;12(26):4191-4194.
223. Sikole A, Dzekova P, Selja N, et al. Treatment of hepatitis C in hemodialysis patients with pegylated interferon alpha-2a as monotherapy. *Ren Fail*. 2007;29(8):961-966.
224. Rendina M, Schena A, Castellaneta NM, et al. The treatment of chronic hepatitis C with peginterferon alfa-2a (40 kDa) plus ribavirin in haemodialysed patients awaiting renal transplant. *Journal of hepatology*. 2007;46(5):768-774.
225. van Leusen R, Adang RP, de Vries RA, et al. Pegylated interferon alfa-2a (40 kD) and ribavirin in haemodialysis patients with chronic hepatitis C. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2008;23(2):721-725.
226. Carriero D, Fabrizi F, Uriel AJ, Park J, Martin P, Dieterich DT. Treatment of dialysis patients with chronic hepatitis C using pegylated interferon and low-dose ribavirin. *The International journal of artificial organs*. 2008;31(4):295-302.
227. Ayaz C, Celen MK, Yuce UN, Geyik MF. Efficacy and safety of pegylated-interferon alpha-2a in hemodialysis patients with chronic hepatitis C. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2008;14(2):255-259.
228. Akhan SC, Kalender B, Ruzgar M. The response to pegylated interferon alpha 2a in haemodialysis patients with hepatitis C virus infection. *Infection*. 2008;36(4):341-344.
229. Sperl J, Petrasek J, Spicak J, Viklicky O. Acute rejection of non-functional allograft in kidney transplant recipients with hepatitis C treated with peginterferon-alpha 2a. *Journal of hepatology*. 2008;49(3):461-462; author reply 462-463.
230. Kose S, Gurkan A, Akman F, Kelesoglu M, Uner U. Treatment of hepatitis C in hemodialysis patients using pegylated interferon alpha-2a in Turkey. *J Gastroenterol*. 2009;44(4):353-358.
231. Dzekova P, Asani A, Selim G, et al. Long-term follow up of sustained viral response after treatment of hepatitis C with pegylated interferon alpha-2a in hemodialysis patients. *The International journal of artificial organs*. 2009;32(3):180-184.
232. Alsaran K, Sabry A, Shaheen N. Pegylated interferon alpha-2a for treatment of chronic HCV infection in hemodialysis patients: a single Saudi center experience. *Int Urol Nephrol*. 2011;43(3):865-873.

233. Deltenre P, Moreno C, Tran A, et al. Anti-viral therapy in haemodialysed HCV patients: efficacy, tolerance and treatment strategy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;34(4):454-461.
234. Liu CJ, Chuang WL, Lee CM, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for the treatment of dual chronic infection with hepatitis B and C viruses. *Gastroenterology.* 2009;136(2):496-504 e493.
235. Gane EJL, Eric; Pugatch, David; . EXPEDITION-IV: Safety and Efficacy of GLE/PIB in Adults with renal impairment and Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1-6 Infection. *Hepatology.* 2016;64(S):1125A-1125A.
236. Desnoyer A, Pospai D, Le MP, et al. Pharmacokinetics, safety and efficacy of a full dose sofosbuvir-based regimen given daily in hemodialysis patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2016;65(1):40-47.
237. Beinhardt S, Al Zoairy R, Ferenci P, et al. DAA-based antiviral treatment of patients with chronic hepatitis C in the pre- and postkidney transplantation setting. *Transpl Int.* 2016;29(9):999-1007.
238. Simmonds P. The origin of hepatitis C virus. *Current topics in microbiology and immunology.* 2013;369:1-15.
239. Sperl J, Horvath G, Halota W, et al. Efficacy and safety of elbasvir/grazoprevir and sofosbuvir/pegylated interferon/ribavirin: a phase III randomized controlled trial. *Journal of hepatology.* 2016.
240. Lawitz E, Gane E, Pearlman B, et al. Efficacy and safety of 12 weeks versus 18 weeks of treatment with grazoprevir (MK-5172) and elbasvir (MK-8742) with or without ribavirin for hepatitis C virus genotype 1 infection in previously untreated patients with cirrhosis and patients with previous null response with or without cirrhosis (C-WORTHY): a randomised, open-label phase 2 trial. *Lancet.* 2015;385(9973):1075-1086.