

Клиническое значение устойчивости вируса гепатита С к противовирусным препаратам прямого действия

Christoph Sarrazin*

J. W. Goethe-University Hospital, Medizinische Klinik 1, Theodor-Stern-Kai 7, 60590 Frankfurt am Main, Germany

Реферат

Лечение хронического гепатита С противовирусными препаратами прямого действия (ПППД) в большинстве случаев приводит к устойчивому вирусологическому ответу. Неэффективность терапии связана с далеко зашедшим фиброзом, характером ответа на предшествующую противовирусную терапию и вирусологическими факторами, такими как исходная вирусная нагрузка и субоптимальность взаимодействия между ПППД и точкой его приложения, обусловленная особенностями варианта вируса гепатита С (HCV). Аминокислотный полиморфизм вирусных белков NS3, NS5A и NS5B у разных генотипов и подтипов HCV и даже штаммов одних и тех же генотипов и подтипов, снижающий эффективность ПППД, называют вариантами, связанными с резистентностью (BCR). Однако противовирусная терапия терпит неудачу обычно лишь при сочетании BCR с другими предрасполагающими вирусологическими факторами и особенностями организма больного, снижением чувствительности к дополнительной противовирусной терапии или недостаточной продолжительностью лечения. Настоящий обзор посвящен тестированию гено- и фенотипической устойчивости вируса и данным клинических исследований влияния BCR на эффективность стандартной трехкомпонентной терапии, включающей софосбувир, симепревир или даклатасвир, и доступных схем без интерферона.

©2015 European Association for the Study of the Liver.

Ключевые слова: вирус гепатита С, хронический гепатит С, противовирусные препараты прямого действия, устойчивость, противовирусная терапия.

Получено 22 апреля 2015 г.; получено с поправками 15 сентября 2015 г.; принято в печать 15 сентября 2015 г.

* Автор, ответственный за переписку. Tel.: +49 69 6301 5122; fax: +49 69 6301 83112.

E-mail: sarrazin@em.uni-frankfurt.de.

Сокращения: HCV — вирус гепатита С; BCR — варианты, связанные с резистентностью; ПППД — противовирусные препараты прямого действия; УВО — устойчивый вирусологический ответ; ХГС — хронический гепатит С.

Введение

До того как в 1989 г. стало известно, что вирус гепатита С (HCV) передается парентеральным (при медицинских манипуляциях, таких как трансфузии компонентов крови, вакцинации и т. п., инъекционной наркомании, нанесении татуировок) и половым путем, распространенность хронического гепатита С (ХГС) была значительной: от 0,4–3 % в большинстве стран до эпидемического уровня (6–10 %) в таких странах, как Пакистан, Египет и Монголия [1, 2]. Исходя из информации крупных всемирных баз данных, в мире насчитывается от 64 млн до 103 млн больных вирусным ХГС [2]. В отсутствие отягчающих факторов, ХГС прогрессирует медленно и приводит к циррозу только через 20–30 лет [3]. До открытия HCV и путей его распространения им заразилось множество людей. Сейчас во многих странах возросло число больных, обратившихся за помощью на поздних стадиях заболевания [4]. Множеству больных безотлагательно требуется высокоэффективная противовирусная терапия. Эффективность лечения пегилированным интерфероном- α и рибавирином относительно невелика. Частота эрадикации вируса приблизительно 50 %. Кроме того, интерферон- α оказывает выраженное побочное действие, которое делает невозможным его применение у 50 % больных [5]. Успехи исследования молекулярной биологии HCV и разработка к 1999 г. методов его культивирования *in vitro* облегчили создание противовирусных препаратов прямого действия (ПППД) для лечения ХГС. В настоящее время во многих странах одобрены к применению ПППД 4 классов, мишенями которых являются 3 белка HCV [6]. Ниже мы рассмотрим особенности их химической структуры и действия. При ХГС, в отличие от хронического гепатита В и ВИЧ-инфекции, целью терапии является эрадикация вируса, которая довольно часто (20–40 % случаев) наступает и без лечения [7]. Отсутствие спонтанной эрадикации обусловлено той или иной степенью недостаточности иммунной системы. Механизм эрадикации пока не до конца ясен, но известны некоторые косвенные факторы макроорганизма, связанные со спонтанной или обусловленной терапией эрадикацией, в т. ч. генотип IFNL4 (интерферон- λ 4, прежнее название IL28B — интерлейкин

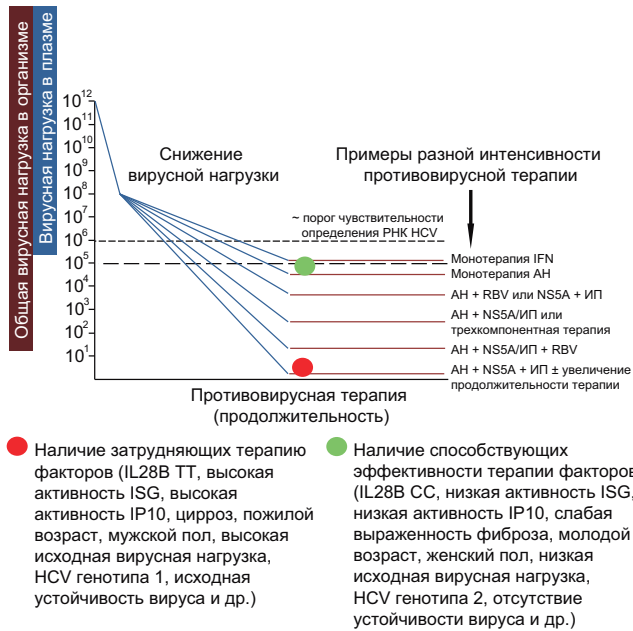


Рис. 1. Чувствительность к противовирусной терапии. Снижение вирусной нагрузки, необходимое для эрадикации HCV, в зависимости от терапии и индивидуальных особенностей возбудителя и больного. Согласно представленной гипотезе, снижение концентрации РНК HCV в сыворотке, необходимое для окончательного искоренения инфекции иммунной системой организма, зависит от используемых препаратов, продолжительности терапии и ряда особенностей вируса и организма больного. ISG — интерферон-стимулируемые гены; IP10 — интерферон-γ-индуцируемый белок 10; IL28 — интерлейкин 28; RBV — рибавирин; АН — аналоги нуклеоз(т)идов; ИП — ингибитор протеазы.

28В), уровень IP10 (интерферон-γ-индуцируемый белок 10) и др. [8, 9]. То, каких усилий потребует эрадикация HCV путем противовирусной терапии у больного, зависит от способности его иммунной системы подавлять инфекцию. В одних случаях для этого достаточно короткого курса не самого сильнодействующего препарата, в других — требуется продолжительная комбинированная терапия несколькими высокоактивными противовирусными препаратами. Установлено также, что независимыми прогностическими факторами вирусологического ответа на терапию являются генотип HCV и стадия фиброза печени (рис. 1). Исходя из принципиальной возможности эрадикации HCV при разной ее вероятности в каждом отдельном случае, о чем сказано выше, легко понять, что варианты, связанные с резистентностью (BCP) к ПППД, для клинической практики при ХГС имеют иное значение, чем при ВИЧ-инфекции и хроническом гепатите В. С другой стороны, описаны случаи эрадикации вируса у больных с исходными или селекционированными в ходе лечения BCP HCV при кратковременной комбинированной терапии ингибитором NS3-протеазы теллапревиром, пэгинтерфероном и рибавирином и даже монотерапии теллапревиром [10, 11], а вирусологические прорывы и рецидивы — у лиц без исходных BCP при комбинированной терапии высокоактивными ПППД [12]. В данном обзоре значение BCP рассматривается во взаимосвязи с их рас-

пространенностью, долей в популяции квазивидов HCV, противовирусной активностью ПППД и генетическим барьером устойчивости вируса к ним, продолжительностью противовирусной терапии и индивидуальными особенностями больного, такими как пол, генотип IFNL4 и стадия фиброза печени.

Анализ генотипической устойчивости

Анализ генотипической устойчивости опирается на технологии секвенирования ДНК. Предел чувствительности определения доступными в настоящее время методами не дает возможности установить все существующие у больного варианты вируса, хотя высокая репликативная активность HCV предрасполагает к точечным мутациям, непрерывно воспроизводящим все возможные одиночные и двойные варианты [13]. В следующем разделе под наличием BCP подразумевается, что они были выявлены тем или иным методом секвенирования, а под исходными, или первичными, BCP — варианты, выявленные до начала лечения.

В большинстве случаев для выявления BCP к определенным ПППД используют популяционное секвенирование генома HCV, идентифицирующее их среди квазивидов HCV при частоте около 20 %. Технологии клонального и глубокого секвенирования позволяют надежно идентифицировать варианты вируса при частоте 0,5–1,0 % [14]. Однако до сих пор неясно, каков порог распространенности BCP в популяции вируса, выше которого они становятся клинически значимым прогностическим фактором отсутствия вирусологического ответа на терапию. Вследствие чрезвычайного разнообразия штаммов HCV и методологических ограничений любой метод секвенирования может оставить невыявленным BCP из-за препятствующей амплификации вторичной структуры РНК этого вируса, трудности подбора праймеров и низкой распространенности BCP среди квазивидов HCV.

NS3-протеаза

Вероятность первичной устойчивости к ПППД крайне вариабельна и во многом зависит от репликативной способности штамма. В ряде случаев устойчивость к ингибиторам NS3-протеазы сопровождается нарушением репликации, вследствие которого устойчивый штамм после отмены терапии относительно быстро вытесняется вирусом дикого типа, что делает маловероятным первичное доминирование штаммов, устойчивых к ингибиторам NS3-протеазы. Частота спонтанного возникновения 1 BCP у HCV генотипа 1 при терапии большинством ингибиторов NS3-протеазы составляет 0,1–3,1 % (табл. 1). Возможность первичного выявления относительно высокая лишь у варианта Q80K, который в большинстве случаев обладает устойчивостью разной степени к некоторым одобренным к применению ингибиторам NS3-протеазы (симепревиру, асунапревиру, паритапревиру). Интересно, что этот вариант обнаруживается почти исключительно в штаммах HCV подтипа 1a с частотой, зависящей от рас-

Таблица 1. Естественная распространенность ВСП к нуклеотидным и нуклеозидным ингибиторам NS3, NS5A, NS5B, выявленная путем популяционного секвенирования (ВСП, фенотипическая устойчивость которых превышает устойчивость дикого типа > 2 раз)^a

Вариант	Ген HCV	Устойчивость к	Естественная распространенность в генотипах HCV					Источник
			1a	1b	2	3	4	
V36A/C/G	NS3	BOC/TVR/PTV	HH	HH	HD	HD	HD	[85, 120]
V36M	NS3	BOC/TVR	0,2–0,6 %	0,1 %	HD	HD	HD	[85, 120, 121]
F43I/L/S/V	NS3	SMV/ASV/PTV	HH	HH	HD	HD	HD	[17, 86, 97, 120]
T54A	NS3	BOC/TVR	0,1–1,9 %	HH	HD	HD	HD	[120–122]
T54S	NS3	BOC/TVR	0,4–3,1 %	1,2–2,0 %	HD	HD	HD	[85, 86, 120, 121]
V55A	NS3	BOC/TVR	2,8 %	0,4 %	HD	HD	HD	[120]
Y56H	NS3	PTV	HH	HH	HD	HD	HD	[97, 120]
Q80K	NS3	SMV/ASV/PTV	4,8–75,0 %	0,5–1,2 %	HD	HD	HD	[15]
Q80R	NS3	SMV/ASV	0,8 %	0,6–0,7 %	HD	HD	HD	[21, 97, 120]
S122R	NS3	SMV/ASV	HH	HH	HD	HD	HD	[97, 122]
R155K	NS3	BOC/TVR/SMV/ASV/PTV	0,2–0,9 %	HH	HD	HD	HD	[85, 97, 120, 121]
R155I/G/K/L/M/T/Q/S	NS3	BOC/TVR/SMV/ASV/PTV	HH	HH	HD	HD	HD	[85, 120]
A156F/N/S/T/V	NS3	BOC/TVR/SMV/ASV/PTV	HH	HH	HD	HD	HD	[17, 21, 85, 86, 97, 120]
V158I	NS3	BOC	HH	0,1 %	HD	HD	HD	[120, 121]
D168E	NS3	SMV/ASV/PTV	0,2–0,3 %	0,1–1,4 %	HD	HD	HD	[17, 85, 86, 97, 120]
D168G/H/V/TY	NS3	SMV/ASV/PTV	HH	HH	HD	HD	HD	[17, 97, 120]
V170A	NS3	BOC/TVR	HP	0,1 %	HD	HD	HD	[85, 120]
M175L	NS3	BOC	HP	0,8–1,1 %	HD	HD	HD	[120, 121]
K24G/N	NS5A	LDV	HH	HP	HD	HD	HD	[25]
K24R	NS5A	LDV	< 1,0–1,5 %	HP	HD	HD	HD	[25, 123]
M28A	NS5A	DCV/LDV	0,5 %	HP	HD	HD	HD	[25]
M28G	NS5A	LDV	HH	HP	HD	HD	HD	[25, 97]
M28T	NS5A	DCV/LDV/OMV	0,4–1,8 %	HP	HD	HH	82 % (M28L)	[25, 120, 124]
M28V	NS5A	OMV	3,5 %	HP	HD	HD	HD	[97]
F28S	NS5A	DCV	HP	HP	HH	HD	HD	[125]
L28F/T	NS5A	DCV/OMV	HP	HH	8 % (L28F)	HD	HD	[97, 120, 125]
Q30H/R/E/L/T	NS5A	DCV/LDV/OMV	0,3–1,3 %	HP	HD	90,4–100 % (Q30A)	50–100 % (Q30R)	[25, 36, 97, 120, 124]
R30H	NS5A	DCV	HP	0,4 %	HD	HD	HH	[120, 126]
R30S	NS5A	DCV	HP	HP	HD	HD	10 %	[126]
R30G/H	NS5A	DCV	HP	HP	HD	HD	HH	[126]
A30K	NS5A	DCV	HP	HP	HD	2,3–6,3 %	HD	[127]
L31M	NS5A	DCV/LDV	0,9–1,8 %	2,1–6,3 %	74–85 %	1 %	92,5–100 %	[97, 120, 124–127]
L31I/F/V	NS5A	DCV/LDV/OMV	HH	0,7–1,0 %	HD	HH	HD	[25, 97, 120, 124, 127]
P32L	NS5A	DCV/LDV	HH	< 0,5 %	HD	HH	HH	[25, 97, 120, 124]
S38F	NS5A	LDV	HH	HH	HD	HD	HD	[25, 97]
H58D	NS5A	DCV/LDV/OMV	< 1 %	HP	HD	HD	HD	[25, 97, 120, 123]
P58D	NS5A	LDV	HP	HH	HD	HD	HD	[25, 97]
A92K	NS5A	LDV	HH	HH	HD	HD	HD	[25, 97]
A92T	NS5A	LDV	HH	2,8 %	HD	HD	HD	[25, 97]
C92R	NS5A	DCV	HP	HP	HH	HD	HD	[125]
Y93C/F/N	NS5A	DCV/LDV/OMV	HH–0,6 %	HH–0,7 %	HD	HH	HD	[25, 97, 120, 124]
Y93H	NS5A	DCV/LDV/OMV	< 1,5 %	3,8–14,1 %	HH	1,3–8,3 %	5–13 %	[25, 36, 97, 120, 124–127]
Y93S	NS5A	LDV	< 0,5 %	< 0,5 %	HD	HD	HD	[25]
S282T	NS5B	SOF	HH	HH	HH	HH	HD	[31, 85, 99, 120, 128, 129]
M289I/L	NS5B	SOF	HH	1,8 %	3,5 %	HD	HD	[31]
C316Y	NS5B	DSV	0,2–1,2 %	HH	HD	HD	HD	[36, 97, 120]
C316N	NS5B	DSV/SOF	HH	10,9–35,6 %	HD	HD	7,9 %	[29, 36, 97, 120]
C316H	NS5B	DSV/SOF	HH	1,9–2,1 %	HD	HD	HD	[36, 97]
L320F	NS5B	SOF	HH	HH	HD	HD	HD	[31]

Таблица 1. Окончание

Вариант	Ген HCV	Устойчивость к	Естественная распространенность в генотипах HCV					Источник
			1a	1b	2	3	4	
S368T	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[97]
N411S	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[85, 97]
M414T	NS5B	DSV	0,5 %	0,4 %	НД	НД	НД	[120, 130]
M414I	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[85, 120]
E446K/Q	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[36]
Y448C	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[85, 97, 120]
Y448H	NS5B	DSV	0,2 %	1,3 %	НД	НД	НД	[120]
A553I/T/V	NS5B	DSV	6 %	НН	НД	НД	НД	[36]
G554S/D ^b	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[85, 97, 120]
S556G	NS5B	DSV	0,6–3,1 %	7–16 %	100 %	100 %	97 %	[29, 97, 130]
S556N/R	NS5B	DSV	0,6–1,2 %	НН	НД	НД	НД	[97, 120, 130]
G558R ^b	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[36]
D559G	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[85, 97, 120]
Y561H	NS5B	DSV	НН	НН	НД	НД	НД	[36]

ASV — асунапревир; BOC — боцепревир; PTV — паритапревир; SMV — симепревир; TVR — теллапревир; DCV — даклатасвир; LDV — ледипасвир; OMV — омбитасвир; DSV — дасабувир; SOF — софосбувир; НД — нет данных; НН — не наблюдался; НП — неприменимо из-за разницы аминокислотных последовательностей соответственно генотипам и подтипам HCV (NS3: аминокислоты V170 и M175 преобладают у HCV генотипа 1b. NS5A: K24, M28, Q30, H58 — у HCV генотипа 1a; F28 — у HCV генотипа 2a; L28 — у HCV генотипа 2b; A30 — у HCV генотипа 3).

^aКратность повышения устойчивости представлена как условный показатель, зависящий от метода определения и использованного репликона HCV. Прямое сравнение данных разных исследований не проводилось.

^bСелекция варианта описана при неэффективности комбинированной терапии PTV/OMV/DSV, данных о EC₅₀ нет.

пространности HCV подтипа 1a единого происхождения (клады), среди населения данного региона. В Северной Америке вариант Q80K обнаруживается у 48 % больных с HCV генотипа 1a, в Южной Америке — приблизительно у 9 %, в Европе — приблизительно у 19 %, со значительной разницей в частоте между отдельными странами этих континентов [15].

Опубликованных данных о естественной частоте возникновения устойчивых вариантов HCV других генотипов очень мало. По-видимому, спонтанным возникновением ВСР вследствие мутаций вирусной РНК обусловлено снижение противовирусной активности ингибиторов NS3-протеазы при ХГС, вызванном определенными генотипами вируса. Например, S122R, с которым связана умеренная устойчивость к симепревиру, присутствует как естественный вариант в штаммах HCV генотипа 2, а D168Q, придающий высокую устойчивость к симепревиру, обнаруживается во всех штаммах вируса, выделенных от больных с HCV генотипа 3 [16, 17]. Снижение чувствительности к симепревиру у HCV генотипа 5, по-видимому, обусловлено Q80K как естественным вариантом. Примечательно, что при ХГС, вызванном HCV генотипа 4 или 6, при котором, по данным клинических исследований, симепревир высокоэффективен, вариантов, обеспечивающих вирусу устойчивость к ингибиторам NS3-протеазы, не описано [16, 17]. Однако отсутствие известных ВСР к определенным ингибиторам NS3-протеазы не гарантирует высокую противовирусную активность последних. Например, теллапревир, по данным клинического исследования, оказался неэффективен против HCV генотипа 3, несмотря на отсутствие у больных первичных ВСР к нему [18]. Возможно, устойчивость обусловлена неизвестными вариантами, у которых нарушена способность связывать ингибитор.

Медианное время, необходимое для исчезновения доступных определению путем популяционного секвениро-

вания ВСР, зависит от того, устойчивость к какому ингибитору NS3-протеазы они вызывают. Для боцепревира, теллапревира и симепревира периоды полужизни ВСР генотипа 1a (1b) в вирусной популяции больных равны, по опубликованным данным, 14,0 (12,5), 10,6 (0,9) и 8,3 (5,5) мес. соответственно [19–21]. В отношении паритапревира исследован только HCV генотипа 1a. ВСР к ингибиторам NS3-протеазы после 24 нед. наблюдения обнаруживались у 46 % больных, после 48 нед. — у 9 % [22]. Более длительные проспективные исследования персистенции ВСР с помощью клонального или глубокого секвенирования немногочисленны. По их данным, после 4–5 лет наблюдения ВСР к ингибиторам NS3-протеазы обнаруживались лишь в единичных случаях [23, 24].

Ген NS5A

В целом у пациентов с HCV генотипа 1 ВСР с первичной устойчивостью к ингибиторам NS5A встречаются чаще, чем к ингибиторам NS3. Частота спонтанного возникновения единичного ВСР, по данным разных исследований путем популяционного секвенирования, колеблется от 0,3 до 2,8 % (см. табл. 1). В отношении HCV генотипа 1b отмечено два исключения: вариант L31M, обеспечивающий вирусу низкую или умеренную устойчивость к даклатасвиру и ледипасвиру, обнаруживается у 2,1–6,3 % больных, а наиболее часто выявляемый ВСР Y93H — у 3,8–14,1 % штаммов HCV генотипа 1b. Этот вариант вызывает устойчивость (от умеренной до высокой) ко всем трем одобренным к применению ингибиторам NS5A. При использовании более чувствительных методов первичные ВСР обнаруживаются еще чаще. Глубокое секвенирование штаммов вируса от 2000 участников большой программы исследований II–III фазы выявило ВСР к ингибитору

NS5A ледипасвиру в 15,7 % из них при HCV генотипа 1a и в 16,4 % — при HCV генотипа 1b [25].

Исследования географического распределения первичных ВСР ограничены. Распространенность большинства ВСР от географического региона не зависит. Y93H, по-видимому, при HCV генотипа 1b в Европе обнаруживается чаще, чем в США (у 15 и 9,3 % больных соответственно) [25].

Относительно других генотипов HCV данные очень ограничены. Отчасти устойчивость им придают те же ВСР, что и генотипу 1. Несколько подобных вариантов часто обнаруживаются у не получавших противовирусной терапии больных (см. табл. 1).

Интересно, что штаммы с устойчивостью к ингибиторам NS5A более склонны к длительному персистенции, чем штаммы с устойчивостью к ингибиторам NS3-протеазы, т. к., по-видимому, сохраняют репликативную способность. По данным клинических исследований, штаммы с устойчивостью к ингибиторам NS5A обнаруживались у 85 % больных в течение 1–2 лет после неэффективной терапии [22, 26, 27]. Почему распространенность естественных ВСР неожиданно низка, несмотря на сохранность репликативной способности, неясно. Возможно, это обусловлено трудно уловимыми различиями, первоначальной селекцией иммунной системой или другими не исследованными механизмами.

NS5B-полимераза

Пока для терапии ХГС одобрен только один ненуклеозидный ингибитор NS5B-полимеразы, связывающий домен «ладонь I». Варианты с первичной устойчивостью к дасабувиру обнаруживаются в 0,2–3,1 % случаев ХГС, вызванного вирусом генотипа 1 (см. табл. 1). Исключением является вариант С316N, который встречается только в штаммах HCV генотипа 1b и представляет собой вариант, спонтанно возникающий с высокой (10,9–35,6 %) частотой. Кроме того, при генотипе 1b чаще, чем при генотипе 1a, обнаруживается вариант S556G (7–25 vs 3–6 %). Оба упомянутых варианта обеспечивают невысокую устойчивость к дасабувиру. Вариант С316N в штаммах HCV генотипа 1b в Европе выявляется чаще, чем в США (25 и 6 % соответственно) [28].

Данные относительно других генотипов, как и в случае ингибиторов NS5A, ограничены. S556G как естественный вариант обнаруживается в штаммах HCV генотипов 2, 3, 4 и 5 с частотой 97–100 %. Кроме того, наблюдаются спонтанные мутации в других точках, сопровождающиеся устойчивостью к NS5B-полимеразе (например, варианты M289I/L, С316N), возникновением которых наряду с S556G, скорее всего, объясняется неэффективностью дасабувира при ХГС, вызванном иными, чем 1, генотипами HCV [29].

Данные о репликативной способности устойчивых к дасабувиру штаммов и возможности их персистенции скудны. Однако и эти предварительные сведения указывают, что по крайней мере некоторые из подобных штаммов (например, вариант M414T, S556G) склонны к персистенции и при длительном проспективном наблюдении обнаруживаются не менее года после неэффек-

тивной терапии. В целом ВСР к дасабувиру через 24 нед. еще определялись у 75 % больных, через 48 нед. — у 57 %. Интересно, что варианты с устойчивостью к ингибиторам NS5B, возникшие одновременно с устойчивыми к ингибиторам NS5A, персистируют чаще, чем возникшие изолированно [22].

Наконец, пока не описаны естественные ВСР к нуклеотидному аналогу софосбувиру, выявленные путем селекции *in vitro* (см. табл. 1). Это связано со значительным повреждением репликативной способности штаммов HCV, содержащих вариант S282T. Утратой этим вариантом репликативной способности объясняется и отсутствие, по опубликованным данным, вирусологических прорывов после лечения софосбувиrom. Единственный случай рецидива у больного, имевшего вариант S282T, произошел через несколько недель после окончания терапии в связи с его вытеснением диким типом вируса [30, 31]. По-видимому, это особый случай, обусловленный вторичным длительным применением софосбувира после включавшей его неэффективной терапии [32]. Вызывают ли устойчивость к софосбувиру распространенные, спонтанно возникающие варианты с высокой репликативной способностью (L159F, C316N и V321A), пока не установлено [33]. При рецидивах после терапии по схемам на основе софосбувира варианты L159F и V321A обнаруживаются с повышенной частотой, хотя на основании анализа репликонов выявить у них устойчивость к софосбувиру не удалось [34].

Роль персистенции ВСР

Вероятно, селекция ВСР происходит в отсутствие вирусологического ответа на терапию всегда, но в значительной части подобных случаев секвенирование не выявляет ВСР. При вирусологическом прорыве на фоне терапии ВСР обнаруживаются почти всегда, при рецидивах частота их выявления колеблется от 53 до 91 % в зависимости от продолжительности терапии, класса ПППД и терапевтической схемы [20, 21, 25, 35, 36]. То, что в части случаев ВСР определить не удается, в значительной мере обусловлено недостаточной чувствительностью методов секвенирования, быстрым вытеснением ВСР диким типом вируса после завершения терапии и тем, что среди квазивидов в штаммах HCV ВСР составляют меньшинство. Кроме того, кратковременная терапия ПППД не приводит к полному искоренению вируса дикого типа, поэтому при рецидивах он преобладает в популяции вируса.

Длительное персистенция ВСР ВИЧ и HBV, селекция которых произошла в период противовирусной терапии на основе ПППД, препятствующее вирусологическому ответу на терапию, обусловлено сохранением их репликативной способности за счет стабильности ДНК. Вследствие повреждения репликативной способности после отмены ПППД доля ВСР среди квазивидов вируса быстро падает до уровня, недоступного определению путем популяционного секвенирования. Однако по опыту лечения ВИЧ-инфекции известно, что при повторном применении одного и того же препарата или препарата той же группы быстро происходит реселекция ВСР, составлявших меньшинство квазивидов [37]. Глубокое секвениро-

вание с биоинформационной оценкой нуклеотидных последовательностей, на которые опирается полиморфизм, свидетельствует скорее о связи персистенции с реселекцией сохранившихся ВСР, чем о селекции идентичных ВСР, возникших заново [37]. У HCV нет стабильного ДНК-генома. Смена поколений происходит у него очень быстро — 10^{10} – 10^{12} вирионов в сутки при короткой продолжительности их полужизни (2–5 ч). Частота ошибок репликации составляет 10^{-3} – 10^{-5} мутаций на нуклеотид при одной репликации генома, что значительно выше частоты мутаций ВИЧ и вируса гепатита В [38]. Результаты немногочисленных исследований повторного применения одних и тех же ПППД при ХГС противоречивы. По одним данным, длительного персистенции и реселекции ВСР не наблюдалось, по другим — обнаруживалась возможность персистенции и реселекции [39–41]. Учитывая большое число больных, получающих в настоящее время пероральную ПППД-терапию и смену, по данным клинических исследований, ограниченного числа хорошо известных генотипов и подтипов HCV разнообразие субтипов и штаммов даже при частоте устойчивого вирусологического ответа (УВО) 90–95 %, проблема персистенции, передачи и реселекции штаммов с ВСР может в недалеком будущем стать более важной [42].

Недавно были представлены результаты исследования повторного лечения после неудачи терапии схемой софосбувир + ледипасвир ± рибавирин. При 24-недельном повторном применении софосбувира и ледипасвира УВО через 8 нед. наблюдался у 80 % больных, но через 12 нед. — только у 46 %. При наличии к началу повторного курса поддающихся выявлению ВСР к ингибиторам NS5A частота УВО любой длительности составила только 60 %. Следовательно, от персистенции таких ВСР зависит выбор препаратов для повторной терапии [32].

Фенотипический анализ устойчивости

У ВСР HCV обычно изменены места связывания или взаимодействия белков-мишеней ПППД. ПППД, мишенями которых являются одни и те же белки HCV, имеют различное химическое строение и разные места взаимодействия с этими белками, поэтому уровень устойчивости к ним, вызванный ВСР, неодинаков. Уровень устойчивости для отдельных вариантов точечных мутаций обычно оценивают в клеточной культуре методами репликонного или ферментного анализа. Затем штаммы, содержащие эти ВСР, подвергают воздействию ПППД в возрастающих концентрациях и определяют, во сколько раз полумаксимальная и 90%-эффективная (ингибирующая) концентрация [EC_{50} /IC₅₀ и EC_{90} /IC₉₀], необходимая для подавления их репликации или ферментативной активности выше, чем у вируса дикого типа. В табл. 2 представлены кратности увеличения EC_{50} для различных ВСР и ПППД. Как и в исследованиях генотипической устойчивости, они определены преимущественно для HCV генотипов 1, 1a и основных вариантов генотипа 1b.

Оценке фенотипической чувствительности к определенным ПППД совокупности квазивидов индивидуальных штаммов больных посвящены единичные исследования. Пока неясно, необходима ли такая оценка для выбора

подходящего препарата в случае устойчивости ко многим ПППД [43, 44].

Неудачи ПППД-терапии не всегда непосредственно связаны с уровнем устойчивости определенного ВСР. Например, при общепринятой трехкомпонентной терапии симепревиrom, пэгинтерфероном- α и рибавирином вариант Q80K, вызывающий невысокую устойчивость к ингибиторам NS3-протеазы, оказывает значительное воздействие на вирусологический исход терапии, тогда как его влияние на исход комбинированной терапии симепревиrom + нуклеотидный ингибитор софосбувир, по-видимому, менее значимо [45–47]. Вирусологический ответ на комбинированную ПППД-терапию зависит не только от наличия ВСР, но и других прогностических факторов. Например, на эффективность комбинации софосбувир + ингибитор NS5A ледипасвир варианты с высокой устойчивостью к ингибиторам этого класса влияют, по-видимому, только в сочетании с другими факторами [25].

Противовирусная активность и барьер устойчивости вируса к отдельным ПППД

В настоящее время при ХГС одобрено к применению 5 ингибиторов NS3-протеазы (боцепревиrom, теллапревиrom, симепревиrom, асунапревиrom, паритапревиrom), 3 ингибитора NS5A (даклатасвир, ледипасвир, омбитасвир), 1 нуклеозидный (дасабувир) и 1 нуклеотидный (софосбувир) ингибиторы NS5B-полимеразы. Кроме того, клинические испытания II–III фазы проходят ингибиторы NS3-протеазы (ванипревиrom, гразопревиrom, совапревиrom, АВТ-493), NS5A (элбасвир, велпатасвир/GS-5816, одаласвир/АСН-3102, АВТ-530, МК-8408), нуклеозидные (беклабувир, GS-9669) и нуклеоз(т)идные ингибиторы NS5B (IDX-21437, АСН-3422) [48, 49]. Некоторые из них (гразопревиrom, АВТ-493, велпатасвир/GS-5816, элбасвир, АВТ-530, МК-8408) относят к ПППД второго поколения, лишенным ограниченный профиля устойчивости для данного класса препаратов и активным против более широкого круга генотипов и подтипов HCV.

Противовирусная активность ПППД, эффективных в качестве монотерапии при ХГС, вызванном вирусом генотипа 1, и барьер устойчивости к ним других генотипов и подтипов исследуются, но результаты неоднозначны и клинические данные часто недоступны. Однако ингибирующие концентрации для подавления репликации многих генотипов и подтипов HCV, определенные *in vitro*, могут помочь выбрать активные ПППД в случае неудачи предшествующей терапии несколькими препаратами этой группы.

Генетический барьер устойчивости

Уже при клинических испытаниях первых ПППД (боцепревира и теллапревира) стало очевидно, что несмотря на идентичность аминокислот в определенных позициях NS3-протеазы у HCV подтипов 1a и 1b, вероятность индуцированных терапией мутаций у этих подтипов весьма различна [50, 51], т. к. одни и те же аминокислоты кодируются разными нуклеотидными триплетами. Например, для об-

Таблица 2. Уровень устойчивости к ингибиторам NS3, NS5A и нуклеотидным и ненуклеозидным ингибиторам NS5B (варианты с повышением > 2 раз устойчивости к ингибиторам NS3-протеазы и ингибиторам NS5A и NS5B)^a

Вариант	Ген HCV	ПППД	EC ₅₀ (кратность повышения по сравнению с репликоном дикого типа)							Источник
			ГТ1a	ГТ1b	ГТ2	ГТ3a	ГТ4a	ГТ5a	ГТ6a	
V36A/C/G/M	NS3	BOC/TVR/PTV	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 121, 131, 132]
F43S	NS3	ASV/SMV	НД	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[65, 132]
F43I/V	NS3	SMV	НД	20-100	НД	НД	НД	НД	НД	[132]
F43L	NS3	PTV	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[63]
T54A/S	NS3	BOC/TVR	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[121, 131]
V55A	NS3	BOC/TVR	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[121, 131]
Y56H	NS3	PTV	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[36]
Q80K	NS3	ASV/PTV/SMV	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[21, 65, 130]
Q80R	NS3	ASV/SMV	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[21, 65]
S122R	NS3	ASV/SMV	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[16, 65]
R155K ^b	NS3	TVR/BOC/SMV/ASV/PTV	2-100	2-100	НД	НД	НД	НД	НД	[21, 63, 65, 89, 131, 132]
R155G/T	NS3	BOC/TVR/PTV	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 131]
R155I/M/S/W	NS3	TVR/PTV	2-20	2-100	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 131]
A156F/G/S	NS3	BOC/TVR/ASV	НД	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[65, 131, 132]
A156T/V	NS3	BOC/TVR/ASV/SMV/GZR	2-20	20-> 100 ^c	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 65, 132]
V158I	NS3	BOC	НУ	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[133]
D168A	NS3	ASV/PTV/SMV/GZR	20-100	20-100	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 65, 132]
D168C/E	NS3	ASV/PTV/SMV/GZR	2-100	2-100	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 65, 132]
D168G/N	NS3	ASV/PTV/SMV/GZR	2-20	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 65, 132]
D168H/T/K	NS3	ASV/PTV/SMV/GZR	20-100	20-> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 65, 132]
D168V/Y	NS3	ASV/PTV/SMV	20-> 100	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[63, 65, 132]
D168Y	NS3	GZR	НД	4	НД	НД	НД	НД	НД	[60, 67]
V170A	NS3	BOC/TVR	НП	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[131, 132]
M175L	NS3	BOC	НП	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[133]
K24G/N/R	NS5A	LDV	2-100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
Q24H	NS5A	DCV	НП	НД	НД	НД	НД	НД	20-100	[134]
T24A	NS5A	OMV	НП	НП	2-100	НД	НД	НД	НД	[71]
F28S ^d	NS5A	DCV/OMV	НП	НП	> 100	НД	НД	НД	НД	[71, 135]
L28F ^d	NS5A	OMV	НП	НД	> 100	НД	НД	НД	НД	[71]
L28I	NS5A	OMV	НП	НД	НД	НД	НД	20-100	НД	[71]
L28T	NS5A	DCV/OMV	НП	20-> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[54, 136]
L28V	NS5A	OMV	НП	НД	НД	НД	20-100	НД	НД	[71]
M28A/G	NS5A	DCV/LDV	> 100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[25, 73]
M28T	NS5A	DCV/LDV/OMV	20-> 100	НП	НД	> 100	НД	НД	НД	[25, 54, 71, 136, 137]
M28V	NS5A	OMV	20-100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[136]
A30K	NS5A	DCV	НП	НП	НД	20-100	НД	НД	НД	[127]
L30H	NS5A	DCV	НП	НП	НД	НД	> 100	НД	НД	[126]
R30H	NS5A	DCV	НП	2-20	НД	НД	НД	НД	НД	[138]
Q30E	NS5A	DCV/LDV/OMV	> 100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[25, 36, 73]
Q30H	NS5A	DCV/LDV/OMV	2-> 100 ^e	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[71, 73, 74]
Q30R	NS5A	DCV/LDV/OMV	> 100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[25, 73, 136]
Q30G/K	NS5A	LDV	> 100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
Q30L/T	NS5A	LDV	2-100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
L31I	NS5A	LDV	2-100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
L31F	NS5A	DCV/OMV	НД	2-20	НД	20-100	НД	> 100	НД	[54, 71, 134, 136]
L31M	NS5A	DCV/LDV	> 100	2-> 100	> 100	> 100	НД	НД	> 100	[25, 73, 74, 127, 134, 135]
L31V	NS5A	DCV/LDV/OMV	> 100	2-100	> 100	> 100	НД	> 100	20-100	[25, 71, 73, 127, 130, 134, 136]
P32L/S	NS5A	DCV/LDV	> 100	2-100	НД	НД	НД	НД	> 100	[25, 54, 134]
S38F	NS5A	LDV	2-100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
H58D	NS5A	DCV/LDV/OMV	> 100	НП	НД	НД	НД	НД	НД	[25, 73, 136]
P58D	NS5A	LDV	НП	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
T58A/N/S	NS5A	DCV/OMV	НП	НП	НД	НД	НД	НД	2-> 100	[71, 134]
A92K	NS5A	LDV	НД	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
A92T	NS5A	LDV	2-100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
C92R	NS5A	DCV	НП	НП	20-100	НД	НД	НД	НД	[135]

Таблица 2. Окончание

Вариант	Ген HCV	ПППД	EC ₅₀ (кратность повышения по сравнению с репликоном дикого типа)							Источник
			ГТ1a	ГТ1b	ГТ2	ГТ3a	ГТ4a	ГТ5a	ГТ6a	
Y93C	NS5A	DCV/LDV/OMV	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[73, 74, 136]
Y93F	NS5A	LDV	2–100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
Y93H	NS5A	DCV/LDV/OMV	> 100	20→100	> 100	> 100	> 100	НД	НД	[71, 73, 74, 126, 127, 135, 136]
Y93N	NS5A	DCV/LDV/OMV	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[25, 73, 136]
Y93R	NS5A	DCV	НД	НД	НД	НД	> 100	НД	НД	[126]
Y93S	NS5A	LDV	2–100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[25]
S282T	NS5B	SOF	2–20	2–20	2–20	НД	НД	НД	НД	[81, 129]
M289L	NS5B	SOF	НП	НП	2–20	НД	НД	НД	НД	[81]
C316H/γ ^f	NS5B	DSV	> 100	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[78, 130]
C316N ^f	NS5B	DSV	НД	2–20	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
L320F	NS5B	SOF	2–20	НУ	НД	НД	НД	НД	НД	[129]
S368T	NS5B	DSV	НД	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
N411S	NS5B	DSV	НД	2–20	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
M414T	NS5B	DSV	20–100	20–100	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
M414I	NS5B	DSV	НД	2–20	НД	НД	НД	НД	НД	[36]
E446K/Q	NS5B	DSV	2–100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[36]
Y448C	NS5B	DSV	> 100	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
Y448H	NS5B	DSV	> 100	20–100	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
A553T	NS5B	DSV	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[36]
A553V	NS5B	DSV	НД	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
G554S ^g	NS5B	DSV	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[36]
S556G	NS5B	DSV	2–20	2–20	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
S556N	NS5B	DSV	20–100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
S556R	NS5B	DSV	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[130]
G558R ^g	NS5B	DSV	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[36]
D559G	NS5B	DSV	> 100	> 100	НД	НД	НД	НД	НД	[139]
D559I/N/V ^g	NS5B	DSV	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[36]
Y561H	NS5B	DSV	20–100	НД	НД	НД	НД	НД	НД	[36]

ASV — асунапревир; BOC — боцепревир; GZR — гразопревир; DCV — дакладасвир; DSV — дасабувир; LDV — ледипасвир; OMV — омбитасвир; PTV — паритапревир; SMV — симепревир; SOF — софосбувир; TVR — телапревир; ГТ — генотип; НД — нет данных; НП — неприменимо из-за разницы аминокислотных последовательностей соответственно генотипам и подтипам HCV; НУ — неустойчив.

^aКратность повышения устойчивости предложена как условный показатель, зависящий от метода определения и использованного репликона HCV. Прямого сравнения данных разных исследований не проводилось.

^bR155K часто сочетается с повышающим репликативную способность вариантом V36.

^cA156T вызывает только 2–20-кратное повышение устойчивости к асунапревиру у HCV подтипа 1b.

^dF28 — преобладающая аминокислота при подтипе 2a, L28 — при подтипе 2b.

^eQ30H вызывает 2–20-кратное повышение устойчивости к OMV и > 100-кратное к LDV и DCV.

^fСвязь с неэффективностью SOF неясна.

^gСелекция этого варианта описана при неэффективности трехкомпонентной терапии PTV/OMV/DSV, относительно EC₅₀ данных нет.

разования мутации R155K у HCV подтипа 1b требуется замена двух нуклеотидов в позиции кодона 155, тогда как у HCV подтипа 1a достаточно одной замены. Вследствие этого варианты устойчивости после неэффективной противовирусной терапии по схемам на основе ингибиторов протеазы у подтипов 1a и 1b различны [52, 53].

Аналогичная разница наблюдается и при образовании ВСП вследствие мутаций других генов HCV [54, 55].

Помимо разницы в числе необходимых для замены аминокислоты замен нуклеотидов важным препятствием для образования устойчивых вариантов HCV, по-видимому, является тип замены. Среди точечных мутаций РНК HCV, кодирующей NS5B-полимеразу, транзиции преобладают над трансверсиями [56]. Вследствие этого, вероятно, некоторые ВСП вообще встречаются редко или возникают только после длительного воздействия ПППД (например, S282T в гене NS5B или L31M в гене NS5A) [32, 54].

Ингибиторы NS3-протеазы

Противовирусная активность боцепревира в одобренной к применению дозе (800 мг 3 раза в сутки) как монопрепарата никогда не подвергалась оценке в клинических исследованиях. Однако максимальное снижение концентрации РНК HCV в сыворотке у больных с HCV генотипа 1 при приеме половины указанной дозы было относительно небольшим (в среднем 2,1 log ME/мл) [57]. Все остальные ингибиторы NS3-протеазы при ХГС, вызванном вирусом генотипа 1, в клинических испытаниях I фазы показали высокую противовирусную активность (снижение концентрации РНК HCV на 3,1–4,6 log ME/мл) (табл. 3). Оценка противовирусной активности против других генотипов HCV *in vitro* дала неоднозначные результаты, а клинические ее исследования малочисленны (см. табл. 3). Связывание ингибиторов NS3-протеазы с активными

Таблица 3. Клиническая противовирусная активность одобренных к применению ПППД (средний или медианный максимум падения вирусной нагрузки HCV после 3–14-дневной монотерапии [\log_{10} МЕ/мл] без прямого сравнения)

Препарат	Мишень	Доза	ГТ1	ГТ2	ГТ3	ГТ4	ГТ5	ГТ6	Источник
BOC	NS3	400 мг 3 раза в сутки ^a	2,1	1,4	1,7	—	—	—	[61, 140, 141]
TVR	NS3	750 мг 3 раза в сутки	4,4	3,7	0,5	0,8	—	—	[66, 142, 143]
SMV	NS3	200 мг 1 раз в сутки ^b	3,9	2,7	0,04	3,5	2,2	4,4	[58, 62]
PTV/r	NS3	100/100 мг 1 раз в сутки ^c	4,0	—	—	—	—	—	[63]
ASV	NS3	100 мг 2 раза в сутки	3,1	—	—	—	—	—	[64]
GZR	NS3	100 мг 1 раз в сутки	4,6	—	2,5	—	—	—	[59]
DCV	NS5A	60 мг 1 раз в сутки	3,8	—	—	—	—	—	[72]
LDV	NS5A	90 мг 1 раз в сутки	3,1	—	—	—	—	—	[74]
OMV	NS5A	25 мг 1 раз в сутки	3,0	—	—	—	—	—	[71]
EBR	NS5A	50 мг 1 раз в сутки	4,6	—	3,1	—	—	—	[75]
DSV	NS5B	400 мг 2 раза в сутки ^d	1,08	—	—	—	—	—	[77]
SOF	NS5B	400 мг 1 раз в сутки	4,7	4,8 ^e	4,8 ^e	—	—	—	[79, 80]

ASV — асунапревир; BOC — боцепревир; GZR — grazопревир; DCV — даклатасвир; DSV — дасабувир; LDV — ледипасвир; OMV — омбитасвир; PTV — паритапревир; SMV — симепревир; SOF — софосбувир; TVR — телапревир; ГТ — генотип.

^a Одобренная к применению стандартная доза 800 мг 3 раза в сутки.

^b Одобренная к применению стандартная доза 150 мг 1 раз в сутки.

^c Одобренная к применению стандартная доза 150/100 мг 1 раз в сутки.

^d Одобренная к применению стандартная доза 250 мг 2 раза в сутки.

^e Данные для ГТ2 и ГТ3 представлены вместе.

участками фермента колеблется в широких пределах от генотипа к генотипу, т. к. родство к этим ингибиторам зависит от генетических особенностей вируса, поэтому создать ингибитор NS3-протеазы с пангенотипической активностью трудно. Паритапревир как монопрепарат подвергался клиническим исследованиям только при ХГС с HCV генотипа 1, но выполнено подробное исследование противовирусной активности и профиля связывания симепревира в отношении других генотипов и подтипов [16, 58]. Препарат продемонстрировал высокую противовирусную активность против HCV генотипов 1, 4 и 6, но при генотипах 2, 3 и 5 среднее максимальное снижение концентрации вирусной РНК в сыворотке при монотерапии симепревиrom невелико, в основном за счет естественного возникновения ВСР (см. табл. 3). Противовирусная активность grazопревира как монопрепарата в отношении HCV генотипа 3 изучена в 7-дневном исследовании [59]. При использовании общепринятой в настоящее время дозы 100 мг 1 раз в сутки препарат продемонстрировал умеренную противовирусную активность (см. табл. 3). Испытание высоких доз grazопревира прекращено из-за повышения активности печеночных ферментов у значительной доли больных.

Косвенно о противовирусной активности ингибиторов NS3-протеазы в отношении HCV разных генотипов и подтипов можно судить по результатам исследований *in vitro*. Сводные данные компаний-разработчиков и независимых исследовательских групп представлены в табл. 4. Все ингибиторы NS3-протеазы, одобренные к применению до настоящего времени, обладают наиболее высокой связывающей способностью в отношении HCV генотипа 1 и существенно меньшей — в отношении генотипа 3. Три ингибитора NS3-протеазы, разработанных в последнее время (симепревир, паритапревир и асунапревир), *in vitro* продемонстрировали высокую противовирусную активность также в отношении HCV генотипа 4. Активность *in vitro* против других генотипов и подтипов неоднородна (см. табл. 4). Ингибитор протеазы второго поколения graz-

опревир теоретически должен быть активен против HCV всех генотипов, но *in vitro* активность оценивалась только на штаммах генотипов 1, 2 и 3 [60].

Благоприятствует образованию устойчивости ко всем используемым в настоящее время ингибиторам NS3-протеазы и то, что она часто бывает перекрестной. Секвенирование штаммов, полученных на раннем этапе терапии, выявило быстрое селекционирование ВСР. В большинстве случаев после начального падения вирусной нагрузки наступали вирусологический прорыв или плато уровня вирусной нагрузки на протяжении 3–14 дней монотерапии [50, 57, 61–66]. Более высокий барьер развития устойчивости наблюдался у grazопревира благодаря более высокой противовирусной активности против типичных ВСР NS3, однако отмечались и случаи неудачи лечения у пациентов с ВСР в тех же позициях, что и придававших устойчивость к ингибиторам протеазы NS3 первого поколения (R155, A156, D168) [67].

Ингибиторы NS5A

Ингибиторы NS5A обычно активны против широкого круга генотипов HCV, т. к. структура мест взаимодействия этого белка более стабильна [6, 68]. К сожалению, клинические испытания I фазы всех трех одобренных к применению ингибиторов NS5A как монопрепаратов охватывали только случаи ХГС с генотипом вируса 1 (см. табл. 3). Однако исследования *in vitro* и клинические исследования комбинированной ПППД-терапии показали, что они активны и против других генотипов. Кроме того, косвенно судить о противовирусной активности тех или иных ПППД против определенных генотипов HCV можно по выявляемости ВСР после вирусологически неэффективного их применения в сочетании с другими противовирусными препаратами. По данным исследований репликации, даклатасвир (первый одобренный к применению ингибитор NS5A) обладает приблизительно одинаковой

Таблица 4. Противовирусная активность ПППД *in vitro* против штаммов HCV дикого типа разных генотипов (без прямого сравнения)

Препарат	Ген	EC ₅₀ для различных генотипов, нмоль							Источник
		ГТ1а	ГТ1b	ГТ2а	ГТ3а	ГТ4а	ГТ5а	ГТ6а	
BOC	NS3	368	356	385 (2a) 750 (2b)	803	НД	НД	НД	[141]
BOC	NS3		200						[144]
BOC	NS3	900	200–600						[145]
BOC	NS3	65–425	НД	399–503	1215–1417	1387	403–875	141–435	[146]
TVR	NS3		402						[147]
TVR	NS3	280	354						[148]
TVR	NS3	413	653	649 (2a) 1119 (2b)	3312 (3a)				[141]
TVR	NS3	149–456	НД	493–644	2000–2745	1949	539–695	124–412	[146]
TVR	NS3	995	266–427	108–229 (2a) 1236 (2b)	2731	1137	38 ^a	86 ^a	[149]
SMV	NS3	2,8 (без Q80K) 40 (с Q80K)	1,8	НД (2a) 187 (2b/i/k)	10 250	1,4 (4a) 0,8 (4d) 2,0 (4, 4c/f/h/k/o/q/r)	НД	НД	[16, 150, 151]
SMV	NS3	10–45	НД	77–91	2366–2476	5	109–127	56–78	[146]
PTV/r	NS3	1,0	0,2	5,3	19	0,09	НД	0,69	[63]
ASV	NS3	4,0	1,2–1,3	67–230 (2a) 480 (2b)	1162	1,8	1,7 ^a	0,9 ^a	[149]
ASV	NS3	31–64	НД	67–159	2143–3712	37	79–82	55–96	[146]
GZR	NS3	2,0	0,5	8,0	0,9 ^a	НД	НД	НД	[60]
DCV	NS5A	0,05	0,009	0,07–0,10	0,146	0,012	0,033	НД	[69]
DCV	NS5A	0,03–0,06	НД	0,09–0,10	0,54–0,91	0,02	0,03–0,04	0,03–0,07	[146]
LDV	NS5A	0,034	0,004	21–210 (2a) 16–530 (2b)	35	0,11 (4a) 0,60 (4d)	0,15	0,12 (6a) 264 (6e)	[70, 152]
OMV	NS5A	0,014	0,005	0,0008 (2a)	0,019	0,0017	0,0032	0,366	[71]
DSV	NS5B	7,7	1,8	НД	НД	НД	НД	НД	[78]
SOF	NS5B	44	48	37–47 (2a) 20 (2b)	16	40 (4a)	15	14	[81, 152]

ASV — асунапревир; BOC — боцепревир; GZR — grazопревир; DCV — даклатасвир; DSV — дасабувир; LDV — ледипасвир; OMV — омбитасвир; PTV — паритапревир; SMV — симепревир; SOF — софосбувир; TVR — телапревир; ГТ — генотип; НД — нет данных.

^a IC₅₀ для соответствующего фермента.

противовирусной активностью в отношении многих генотипов [69], но касательно генотипа 3 она приблизительно в 10 раз ниже, чем против других генотипов (см. табл. 4). Ледипасвир *in vitro* тоже активен против многих генотипов [70], но для подавления репликации HCV генотипов 2 и 3 требуется концентрация (EC₅₀) в 1000 раз больше, чем для других генотипов, следовательно, в отношении генотипов 2 и 3 она недостаточна (см. табл. 4). Омбитасвир обладает высокой активностью против HCV генотипов 1–5 [71]. Однако его активность против генотипа 6 в 10–100 раз ниже, к тому же он выпускается только в виде комбинированного препарата с фиксированным сочетанием доз с другим ингибитором протеазы, паритапревиром, активным только против генотипов 1 и 4 (см. табл. 4). Генотипы 2–6 обнаруживают в клинической практике множество подтипов, значительно отличающихся друг от друга последовательностью аминокислот. Об активности ингибиторов NS5A против разных подтипов известно мало, хотя она может колебаться в широких пределах. Так, *in vitro* активность ледипасвира против HCV подтипов 6a и 6e различается в 1000 раз (см. табл. 4).

Благоприятствует образованию устойчивости к ингибиторам NS5A и ее перекрестный характер по отношению к разным препаратам этой группы с быстрой, по данным исследований кратковременной монотерапии, селекцией

BCP, в основном с мутациями в позициях 28, 30, 31, 58 и 93 [71–74].

Ингибитор NS5A второго поколения элбасвир, по данным клинических исследований монотерапии, высокоактивен против HCV генотипов 1 и 3; *in vitro* барьер устойчивости к нему выше, чем к другим ингибиторам NS5A [75, 76].

Ненуклеозидные ингибиторы NS5B-полимеразы

К применению пока одобрен только один ненуклеозидный ингибитор NS5B-полимеразы дасабувир, связывающий домен «ладонь I». По данным его клинического исследования в разных дозах как монопрепарата, максимальное снижение концентрации РНК HCV в сыворотке составило в среднем 1,08 log ME/мл, что свидетельствует о противовирусной активности от низкой до умеренной [77]. *In vitro* исследована активность только в отношении подтипов 1a и 1b (см. табл. 4). Согласно биохимической оценке, дасабувир не подавляет NS5B-полимеразу HCV генотипов 2, 3 и 4 [78]. Барьер устойчивости к дасабувиру считают невысоким, хотя исследований методами секвенирования при его применении как монотерапии не опубликовано. Исследования реплика, так же как и на-

блюдения при неудачах комбинированной терапии сочетаниями дасабувира с другими ПППД, выявили селекцию ряда ВСР [36, 77, 78].

Нуклеоз(т)идные ингибиторы NS5B-полимеразы

Нуклеозидные и нуклеотидные ингибиторы взаимодействуют с активным участком NS5B-полимеразы, который у всех генотипов и подтипов отличается высокой стабильностью. Следовательно, эта группа ПППД, скорее всего, активна против всех генотипов и подтипов HCV. Опубликованы клинические исследования 2–12-недельной монотерапии нуклеотидным ингибитором полимеразы софосбувиром при ХГС, вызванном HCV генотипов 1, 2 и 3 (см. табл. 3) [79, 80]. Кроме того, исследования *in vitro* продемонстрировали почти равную активность софосбувира против генотипов 1–6 [81], а клинические исследования — высокий барьер устойчивости к нему (отсутствие вирусологических прорывов на фоне монотерапии или применения с другими ПППД) [79, 80, 82–84]. За исключением единичных случаев, основные ВСР не обнаружены даже при вирусологической неэффективности терапии [31].

Устойчивость вируса и одобренные схемы комбинированной терапии

Ингибитор протеазы + пэгинтерферон и рибавирин

Наличие первичной устойчивости к общепринятой трехкомпонентной терапии боцепревирином или теллапревирином в сочетании с пэгинтерфероном и рибавирином маловероятно и не влияет на ее эффективность у ранее не леченных больных (рис. 2) [35, 85–89], поэтому предварительное тестирование не рекомендуется. Однако в не поддающихся лечению интерфероном случаях ответ на терапию коррелирует с наличием первичных ВСР [88–92].

В то же время при трехкомпонентной терапии, включающей симепревири, предварительная проверка устойчивости, согласно международным рекомендациям, показана. ВСР с мутациями в позициях 43, 122, 155, 168 и вариант Q80R встречаются редко (только у 1,3 % больных) и влияния на вирусологический исход терапии, по-видимому, не оказывают; однако относительно широко распространен вариант Q80K, придающий умеренную устойчивость к симепревиру (8-кратное повышение EC_{50}) [15, 21]. Вариант Q80K обнаруживается почти исключительно в штаммах HCV подтипа 1a во всем мире с частотой около 30 %, по данным клинических исследований II–III фазы (см. выше) [21]. Частота УВО у не получавших терапии больных с HCV генотипа 1a при наличии Q80K составляет 58 %, без него — 84 % (см. рис. 2). Частота УВО при трехкомпонентной терапии на основе симепревира (58 %) у больных с Q80K статистически значимо не отличается от таковой при лечении пэгинтерфероном- α и рибавирином в отдельности (52 %) [45, 46]. Такие же результаты отмечены при трехкомпонентной терапии на основе симепревира у больных, ранее не ответивших или не давших полноценного ответа на лечение [93]. Следовательно, трехком-

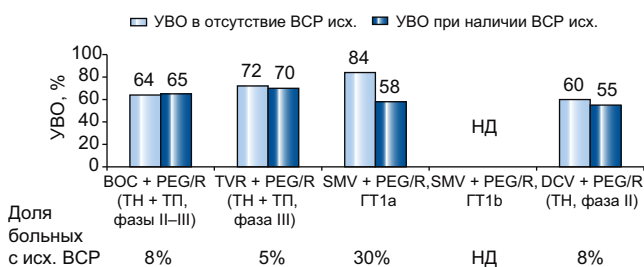


Рис. 2. Частота УВО на общепринятую трехкомпонентную терапию у пациентов с HCV генотипа 1 в зависимости от наличия ВСР до ее начала. Пэгинтерферон (PEG) + рибавирин (R) в сочетании с разными ПППД 24–48 нед. у ранее не получавших (TH) и/или получавших (TP) противовирусную терапию больных. Боцепревири (BOC) 800 мг 3 раза в сутки, исследования II–III фазы ($n = 2241$). Учитывались имевшиеся до начала терапии ВСР с мутациями в позициях 36, 54, 55, 107, 155, 158, 170, 175 NS3-протеазы [133]. Теллапревири (TVR) 750 мг 3 раза в сутки, исследования III фазы ($n = 1414$). Учитывались имевшиеся до начала терапии ВСР с мутациями в позициях 36, 54, 155 NS3-протеазы [153]. Симепревири (SMV) 150 мг 1 раз в сутки, исследование III фазы у не получавших лечения больных ($n = 521$). Данных относительно ВСР при HCV генотипа 1b не опубликовано. При генотипе 1a проанализирован только вариант NS3 Q80K [21]. Даклатасвири (DCV) 20 или 60 мг 1 раз в сутки, исследование II фазы ($n = 293$). Учитывались имевшиеся до начала терапии ВСР с мутациями в позициях 31 и 93 NS5A [94]. Прямых сравнительных исследований нет. GT — генотип; исх. — исходный (до начала терапии); НД — нет данных.

понентная терапия на основе симепревира не показана, если при предварительном тестировании обнаруживается вариант Q80K.

Ингибитор NS5A + пэгинтерферон- α и рибавирин

Трехкомпонентная терапия ингибитором NS5A даклатасвирином, пэгинтерфероном- α и рибавирином изучалась в клинических исследованиях с участием больных ХГС, вызванным HCV генотипов 1–4. В целом она приводила к УВО чаще, чем двухкомпонентная терапия (пэгинтерферон- α + рибавирин + плацебо). При ХГС с HCV генотипа 1 частота УВО при трехкомпонентной терапии, как правило, достигала 59–60 %, но со значительными колебаниями в зависимости от подтипа HCV (55–57 % при подтипе 1a и 76–77 % при подтипе 1b). У 22 (6 %) из 365 больных до начала терапии обнаружены ВСР к ингибиторам NS5A (L31M/V и/или Y93H/N/S). Частота УВО у больных с исходными ВСР при подтипе 1a составила 33 %, тогда как при подтипе 1b — 80 % [94]. Из-за небольшого числа случаев обнаружения ВСР и одинаковой частоты УВО у лиц с исходными ВСР и без них, исследование не продемонстрировало явного влияния ВСР на вирусологический исход терапии (см. рис. 2). Дать однозначное заключение относительно влияния исходных ВСР на успех терапии при генотипах 2, 3 и 4 по результатам клинических исследований невозможно из-за малочисленности групп с этими генотипами (по 6–12 больных) [94, 95]. Как правило, у них обнаруживались те же ВСР, что и при генотипе 1. Кроме того, наличие до начала терапии Y93H или

A30K повышает риск последующего рецидива при генотипе 3. Вирусологически неэффективной терапия оказалась у 50 % (4 из 8) больных, исходно имевших Y93N или A30K, и только у 16 % (8 из 43) не имевших их [95].

Софосбувир + пэгинтерферон-α + рибавирин

По данным большого клинического исследования III фазы, у ранее не получавших терапии больных с HCV генотипа 1 частота УВО составила 89 %, но со значительным разбросом между подтипами (92 % при 1a vs 82 % при 1b) [96]. Это стало неожиданностью, т. к. частота УВО при обычной трехкомпонентной терапии на основе ингибитора NS3-протеазы или ингибитора NS5A при подтипе 1a ниже, что объясняют меньшей противовирусной активностью препаратов этих групп против HCV подтипа 1a. Вариант S282T, имеющий мутацию, которая, по наблюдениям *in vitro*, делает его устойчивым к софосбувиру, не выявлен до начала терапии или при ее неэффективности ни разу [96]. Это связано с его низкой репликативной способностью. Другие варианты, явно снижающие чувствительность вируса к софосбувиру в клеточной культуре, неизвестны. Возможно, разница между подтипами 1a и 1b объясняется вариантом в позиции 316 NS5B-полимеразы, по которой штаммы подтипа 1a стабильны (С316), а штаммы подтипа 1b полиморфны (С316N/Н). Структурный анализ показывает, что С316N/Н нарушает способность софосбувира взаимодействовать с активным участком NS5B-полимеразы [33]. По-видимому, разница в частоте УВО на общепринятую трехкомпонентную терапию при подтипах 1a и 1b объясняется распространенностью естественного варианта С316N (10–30 % в зависимости от географического региона) при подтипе 1b HCV [33, 97]. Однако среди участников предшествующих лицензированию клинических исследований больных с HCV подтипа 1b было мало, поэтому для окончательного заключения необходимы дальнейшие исследования.

Софосбувир + рибавирин

В связи с ограниченной противовирусной активностью сочетания нуклеотидного ингибитора полимеразы софосбувира с рибавирином среди участников его клинических исследований мало больных с HCV генотипа 1 [79, 98]. При HCV генотипа 2, напротив, частота УВО при этой терапевтической схеме очень высока, вследствие чего мало больных, которым в связи с вирусологической неэффективностью показано выявление ВСП [79, 99]. Интересно, что некоторые случаи неэффективности терапии софосбувиrom и рибавирином при генотипе 2, по-видимому, объясняются генетическим химеризмом. Гены, кодирующие структурные белки HCV, принадлежали генотипу 2, а кодирующие неструктурные белки — исходили из генотипа 1, что могло снизить чувствительность к сочетанию софосбувира с рибавирином [100].

Однако при HCV генотипа 3 неудачи терапии имеют место чаще, что дало возможность оценить, какую роль в них играет устойчивость вируса. Исходя из уточненных критериев отбора вариантов, потенциально связанных с устойчивостью, для вирусологической неэффективности

терапии могут иметь значение варианты L159F, V321A S282R. Они не сопровождаются снижением чувствительности к софосбувиру в клеточной культуре, но исследования методами структурной биоинформатики указывают на нарушение взаимодействия с ними ингибиторов NS5B-полимеразы [33]. Весьма вероятно, что помимо исходных ВСП для вирусологического ответа на терапию важны такие индивидуальные факторы, как стадия фиброза печени, генотип IFNL4 и ответ на предшествующие терапевтические схемы на основе интерферона-α. Для выяснения роли генетической устойчивости вируса в неудачах стандартной для вызванного генотипами 2 и 3 ХГС терапии софосбувиrom и рибавирином необходимы крупные исследования.

Ингибитор NS3-протеазы + ингибитор NS5A

Асунапревир + даклатасвир

Сочетание ингибитора NS3-протеазы асунапревира с ингибитором NS5A даклатасвиром показало высокую эффективность против HCV генотипа 1b, тогда как при генотипе 1a, по данным первоначального исследования, часто отмечались вирусологические прорывы [101]. В силу этого эффективности схемы асунапревир + даклатасвир посвящены крупные исследования, а в Японии она сейчас принята как стандартная при ХГС, вызванном HCV генотипа 1b. Решающую роль в оценке этой схемы сыграло исследование, в котором частота УВО в результате 24-недельной терапии у 643 больных с HCV генотипа 1b составила 82–91 % [102]. Однако у больных (13 %), имевших исходные ВСП к асунапревиру или даклатасвиру (мутации в позиции D168 гена NS3 и в L31, Y93 гена NS5A), УВО наступил только в 39 % случаев, тогда как у остальных больных эрадикации вируса удалось достичь в 92 % случаев (рис. 3).

Симепревир + даклатасвир

Кроме того, опубликовано клиническое исследование 12–24-недельной комбинированной терапии ингибитором NS3-протеазы симепревиrom и даклатасвиром у сравнительно небольшой группы больных ($n = 147$) с HCV генотипа 1b. Частота УВО составила 65–95 % [159]. Отмечено влияние исходно имевшихся ВСП к ингибиторам NS5A на частоту УВО (см. рис. 3) [159]. Больных с генотипом вируса 1a среди участников этого исследования тоже мало. УВО достигнут у 67 % ранее не получавших терапии больных; у 7 из 9 участников, не ответивших на предшествующую терапию, произошел вирусологический прорыв. Очевидно, помимо низкой активности данного сочетания против HCV генотипа 1a вероятность УВО зависит также от исходного наличия ВСП.

Гразопревир + элбасвир

Недавно опубликованы результаты клинического исследования III фазы сочетания гразопревира с элбасвиром при продолжительности терапии 12 нед. Исходное наличие ВСП к ингибитору NS3-протеазы на частоту УВО не повлияло. ВСП, значимые для устойчивости к ингибитору NS5A, исходно имелись у 10 % больных с HCV генотипа 1a и у

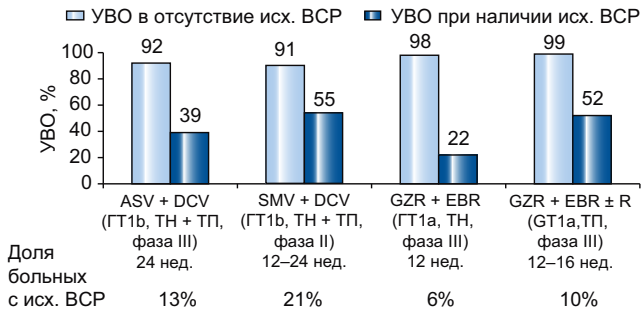


Рис. 3. Частота УВО на комбинированную терапию ингибитором NS3-протеазы и ингибитором NS5A у пациентов с HCV генотипа 1 в зависимости от наличия ВСП до ее начала. Асунапревир (ASV) 100 мг 2 раза в сутки + даклатасвир (DCV) 60 мг 1 раз в сутки в течение 24 нед., клиническое исследование III фазы ($n = 643$). Учитывалось наличие до начала терапии ВСП с мутациями в позиции 168 гена NS3-протеазы и 31, 93 гена NS5A. В связи с низким барьером резистентности больные с HCV генотипа 1a в исследование не включены [102]. Симепревир (SMV) 150 мг 1 раз в сутки + даклатасвир (DCV) 30 мг 1 раз в сутки 12–24 нед., клиническое исследование II фазы [159]. Гразопревир (GZR) 100 мг 1 раз в сутки + элбасвир (EBR) 50 мг 1 раз в сутки 12 или 16 нед., клиническое исследование III фазы ($n = 841$). Учитывалось наличие до начала терапии вариантов HCV подтипа 1a, повышающих устойчивость более чем в 5 раз (M/L28T/A, Q/R30E/H/RG/K/L/D, L31M/V/F, H58D, Y93C/H). Корреляции частоты УВО с их наличием до начала терапии при генотипе 1b не выявлено [104, 154]. Прямых сравнительных исследований не проводилось. ГТ — генотип; исх. — исходно (до начала терапии); ТН — ранее не получавшие терапии; ТП — ранее получавшие терапию.

13 % — с HCV генотипа 1b. У последних наличие ВСП на частоту УВО не повлияло, тогда как при генотипе 1a частота УВО у ранее не получавших терапии больных при наличии ВСП составила только 22 % против 98 % при их отсутствии [103]. Результаты у ранее получавших терапию больных аналогичны. Точно так же независимо от продолжительности терапии (12 или 16 нед.) и ее дополнения рибавирином у больных с HCV генотипа 1a частота УВО при исходном наличии ВСП составила 52 %, без него — 92 % [104]. Примечательно негативное влияние ВСП, повышающих устойчивость более чем в 5 раз, как у не лечившихся ранее, так и у получавших противовирусную терапию больных (см. рис. 3) [103, 104]. Провести статистический анализ роли ВСП при генотипах 4 и 6 не удалось из-за малой численности соответствующих групп больных.

В целом барьер устойчивости к ингибиторам протеазы первого поколения, таким как асунапревир или симепревир, в сочетаниях с ингибитором NS5A относительно низок, поэтому влияние исходных ВСП к NS3-протеазе и/или NS5A вполне очевидно. При ХГС, вызванном HCV генотипа 1a, применять указанную выше схему не следует. При ХГС с генотипом вируса 1b перед ее применением обязательно проверка устойчивости возбудителя. Барьер устойчивости к гразопревиру и элбасвиру выше. Их сочетание при ХГС с генотипом вируса 1b значительно эффективнее независимо от исходного наличия ВСП, но при генотипе 1a предварительное их тестирование представляется необходимым.

Интересно, что, по новейшим данным, основной ВСП к NS5A (Y93H) чаще выявляется у больных с благоприят-

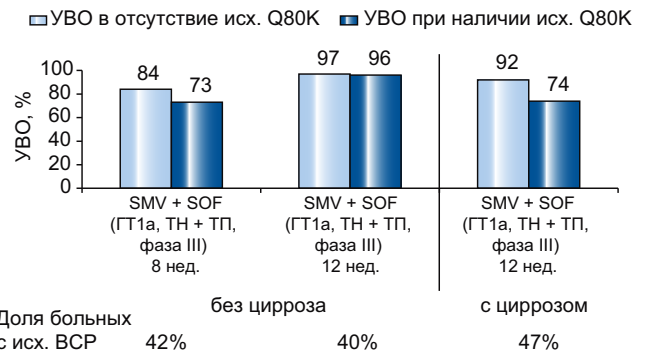


Рис. 4. Частота УВО на комбинированную терапию ингибитором NS3-протеазы и нуклеоз(т)идным ингибитором NS5B у больных с HCV генотипа 1 в зависимости от исходного наличия или отсутствия ВСП. Симепревир (SMV) 150 мг 1 раз в сутки + софосбувир 400 мг 1 раз в сутки ± рибавирин, 8- или 12-недельная терапия, клинические исследования III фазы ($n = 413$). Анализ соответственно исходному отсутствию или наличию Q80K при HCV генотипа 1a [108, 109]. Прямые сравнительные исследования не проводились. ГТ — генотип; исх. — исходно (до начала терапии); ТН — ранее не получавшие терапии; ТП — ранее получавшие терапию.

ными генотипами IFNL4 [105–107]. Если эти находки подтвердятся дальнейшими исследованиями, они могут объяснить неожиданную обратную корреляцию частоты УВО при двухкомпонентной терапии асунапревиром и даклатасвиром с частотой генотипа IFNL4-rs12979860, наблюдающаяся в клиническом исследовании III фазы: частота УВО при благоприятном генотипе CC составила 76–89 %, тогда как при генотипе TT — 86–96 % [102].

Ингибитор NS3-протеазы + нуклеоз(т)идный ингибитор NS5B

Комбинация симепревир + софосбувир ± рибавирин в течение 12 или 24 нед. первоначально изучена в небольшом проспективном исследовании II фазы [47]. Оно показало высокую (92 %) частоту УВО у ранее не получавших терапии и у не ответивших на предшествующую терапию больных как при ранних, так и при далеко зашедших стадиях фиброза и циррозе. При генотипе 1b исходные ВСП обнаруживаются крайне редко, тогда как при генотипе 1a естественно возникший вариант Q80K встречается в зависимости от географического региона с частотой 10–50 % (см. выше) [15, 21]. При генотипе 1b вирусологической неэффективности данной терапевтической схемы не отмечено. В то же время вирусологический рецидив у 4 из 6 больных с генотипом 1a и исходным вариантом Q80K указывает на роль последнего в неэффективности терапии. В последующих исследованиях III фазы изучено сочетание симепревира и софосбувира без рибавирина. Частота УВО у больных с HCV генотипа 1 без цирроза при 12-недельной терапии составила 97 %, при 8-недельной — 83 %. При 12-недельной терапии наличие исходного Q80K у больных с генотипом 1a на частоту УВО не повлияло (96 vs 97 %), при 8-недельной — снизило ее (73 vs 84 %) (рис. 4) [108]. Аналогичный результат наблюдался

и при 12-недельной терапии у больных с HCV генотипа 1a и циррозом (при исходном наличии Q80K частота УВО 74 %, без него — 92 %) (см. рис. 4) [109].

Ингибитор NS5A + нуклеоз(т)идный ингибитор

Даклатасвир + софосбувир

В исследованиях II фазы участвовало небольшое число больных ($n = 167$) ХГС с генотипом вируса 1, получавших даклатасвир + софосбувир ± рибавирин в течение 12 ($n = 82$) или 24 нед. ($n = 85$). Больные с циррозом были исключены. После исключения больных, у которых неэффективность терапии объяснялась невирусологическими причинами, частота УВО оказалась равной 100 % [110]. Участниками последующих исследований III фазы стали больные с HCV генотипов 1–6 с сопутствующей ВИЧ-инфекцией, с циррозом или перенесшие трансплантацию печени. В целом при генотипе 1 частота УВО была высокой (82–98 %). Вирусологическая неэффективность терапии наблюдалась в основном при HCV подтипа 1a в сочетании с кратковременностью лечения (8 нед.) и недостаточными дозами даклатасвира или с циррозом. К сожалению, пока недоступны полные данные о влиянии исходных ВСП на эффективность терапии при других генотипах и подтипах HCV. По-видимому, наличие исходных ВСП к NS5A оказывает негативное влияние только в сочетании с другими неблагоприятными факторами, в частности с циррозом (рис. 5).

Ледипасвир + софосбувир

В клинических исследованиях схемы софосбувир + ледипасвир ± рибавирин участвовало более 2100 больных [82–84, 111]. Секвенированию гена NS5A подвергли более 99 % штаммов, выделенных до начала терапии. Кроме того, в отличие от других исследований 89 % штаммов подвергли не только популяционному, но и глубокому секвенированию. У HCV генотипа 1 исходные ВСП к ингибиторам NS5A обнаружили в 17 % случаев, если за пороговую принимали их долю 1 % среди квазивидов HCV, и в 8 %, если за пороговую принимали их долю 20 %. Исходное наличие ВСП снизило частоту УВО ненамного (93 vs 97 %), но в большой выборке это снижение оказалось статистически значимым. При раздельном анализе УВО у больных с HCV генотипов 1a и 1b результаты те же [25]. Также проанализирована зависимость УВО от уровня устойчивости, который придают ВСП, и продолжительности терапии. ВСП, повышающие $EC_{50} < 100$ раз, не влияли на частоту УВО независимо от состояния больных до начала терапии и ее продолжительности (8, 12 или 24 нед.) (см. табл. 2). Однако ВСП, повышающие $EC_{50} > 100$ раз, значимо снижали частоту УВО при 8-недельной терапии. У больных, ранее не получавших лечения, при исходном наличии таких ВСП частота УВО составила 83 %, а при их отсутствии — 95 % (см. рис. 5). Объединенный анализ данных ранее леченных и не леченных больных выявил снижение частоты УВО при 12-недельной терапии (87 % у больных, исходно имевших ВСП, повышающие $EC_{50} > 100$ раз, против 97 % у не имевших ВСП; см. рис. 5). Частота УВО у пациентов с исходными мутациями устойчивости в позициях 24, 28, 30, 31 и 93 гена NS5A колебалась от 84 до

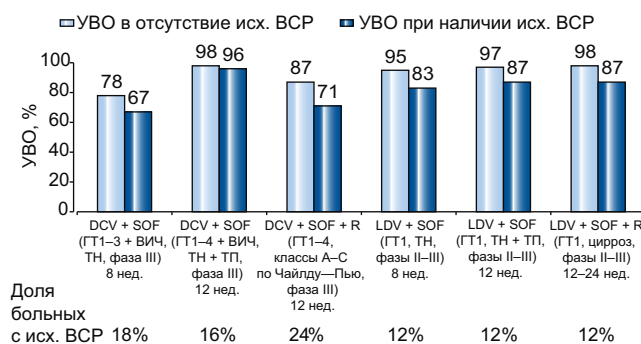


Рис. 5. Частота УВО на комбинацию ингибитор NS5A + нуклеоз(т)идный ингибитор NS5B при HCV генотипа 1 в зависимости от наличия ВСП исходно. Даклатасвир (DCV) 30–90 мг 1 раз в сутки + софосбувир (SOF) 400 мг 1 раз в сутки при 8- или 12-недельной терапии у больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией, исследования III фазы ($n = 203$). Число больных с иными, кроме 1, генотипами HCV в этом испытании невелико [155, 156]. Даклатасвир (DCV) 60 мг 1 раз в сутки + софосбувир (SOF) 400 мг 1 раз в сутки + рибавирин (R) 12 нед. При далеко зашедшем циррозе (классы А–С по Чайлду—Пью), исследование III фазы (59 больных, среди которых у меньшинства иные, кроме 1, генотипы). При анализе учитывались ВСП к ингибиторам NS5A с мутациями в позициях 28, 30, 31 и 93 [157]. Ледипасвир (LDV) 90 мг 1 раз в сутки + софосбувир (SOF) 400 мг 1 раз в сутки 8 или 12 нед., исследования II–III фазы ($n = 2137$). Ледипасвир (LDV) 90 мг 1 раз в сутки + софосбувир (SOF) 400 мг 1 раз в сутки ± рибавирин (R) 12 или 24 нед., исследования II–III фазы ($n = 510$). Учитывались ВСП к ингибиторам NS5A, повышающие устойчивость более чем в 100 раз (M28A/G, Q30E/H/G/K/R, L31I/M/V, P32L, H58D, A92K, Y93C/H/N/S). При тестировании штаммов, выделенных от большинства больных, использовали глубокое секвенирование [25, 112]. Прямые сравнительные исследования не проводились. ГТ — генотип; исх. — исходно (до начала терапии); ТН — ранее не получавшие терапии; ТП — ранее получавшие терапию.

97 % вне зависимости от доли ВСП среди квазивидов HCV. У больных с циррозом также отмечено снижение частоты УВО при исходном наличии ВСП (см. рис. 5) [112].

Основной, по данным других исследований, вариант S282T, придающий устойчивость к софосбувиру, до начала терапии ни в одном случае не выявлен. Не отмечено и корреляции между исходным наличием других ВСП к ингибиторам NS5B-полимеразы, в т. ч. N142T, L159F, S282G, C316N и L320F, и частотой УВО. В целом распространенность этих ВСП составила 2,5 %, а частота УВО — 100 %. Как и ожидалось, ВСП к ингибиторам NS3-протеазы в конечном счете не влияли на частоту УВО при применении комбинации софосбувир + ледипасвир [25].

У 76 % больных, не достигших УВО, имелись ВСП к ингибиторам NS5A [25]. По недавно опубликованным данным, длительное персистирование ВСП к ингибиторам NS5A после неэффективной терапии по разным схемам, включающим ледипасвир, отмечено при 96-недельном проспективном наблюдении у 86 % больных [27].

Исследования при ХГС с иными, чем 1, генотипами HCV
Опыт применения софосбувира в сочетании с ингибиторами NS5A, например даклатасвиром или ледипасвиром, при иных, чем 1, генотипах HCV очень ограничен. По опу-

бликованным до настоящего времени данным, частота УВО на эти сочетания высока и судить о значимости ВСП можно только по единичным случаям неэффективности терапии [110, 113]. Рецидив после терапии схемой софосбувир + даклатасвир в клиническом исследовании II фазы наблюдался у 1 больного с HCV генотипа 3. Исходно и во время рецидива у него обнаружен вызывающий устойчивость к NS5A полиморфизм (A30K) [110]. В клиническом исследовании III фазы Ally-3 (152 пациента) вирусологический рецидив после 12-недельной терапии софосбувиром и даклатасвиром отмечен у 16 больных с HCV генотипа 3 [113]. У 6 из них устойчивый вариант Y93H выявлен до начала лечения и при рецидиве, у остальных ВСП к ингибиторам NS5A (в основном Y93H и только в 1 случае — L31I) появились только при рецидиве. Исходная распространенность уже имевшегося Y93H среди участников этого исследования составила 9 % ($n = 13$). Частота УВО при наличии Y93H составила 54 %, а в группе в целом — 89 %. Однако важную роль в возникновении рецидивов у больных с Y93H сыграл, по-видимому, цирроз печени. У больных без цирроза УВО наступил в 67 % (6 из 9) случаев, тогда как при сочетании Y93H с циррозом — только в 25 % (1 из 4) (рис. 6). Варианты с мутациями в позициях L31, M28 и A30 при исходном тестировании не встречались или определялись редко и явного влияния на вирусологическую эффективность терапии, вероятно, не оказывали [113]. Анализа устойчивости к комбинации софосбувир + ледипасвир пока среди опубликованных исследований нет.

Ингибиторы NS3-протеазы, NS5A и нуклеозидный ингибитор NS5B

Паритапревир, усиленный ритонавиром + омбитасвир + дасабувир

Трехкомпонентная схема паритапревир, усиленный ритонавиром, + омбитасвир + дасабувир ± рибавирин одобрена к применению по результатам большой программы клинических исследований, охватившей более 2500 больных, но только приблизительно у 700 из них до начала терапии проводилось популяционное секвенирование вируса [36]. Распространенность ВСП к одному из ингибиторов у пациентов с HCV подтипа 1a составила 18 %, к двум — 0,4 %, а у пациентов с HCV подтипа 1b — 33 и 3 % соответственно. ВСП ко всем 3 ингибиторам не обнаружено ни в одном случае. Как и в других исследованиях, среди ВСП к ингибитору NS5A преобладали варианты M28 (8 % при HCV подтипа 1a) и Y93H (8 % при HCV подтипа 1b). Из ВСП к нуклеотидному ингибитору NS5A дасабувиру при подтипе 1b преобладали S316N и S556G (15–17 %), при подтипе 1a — S556G/N/R (3 %). ВСП к ингибиторам NS3-протеазы Q80K, вызывающий относительно низкую устойчивость к паритапревиру, и другие ВСП при исходном тестировании обнаружены менее чем в 1 % случаев. Частота УВО в зависимости от наличия или отсутствия ВСП исходно анализировалась только в исследовании II фазы (391 больной). В целом при исключении вариантов Q80K при генотипе 1 наличие ВСП не влияло на частоту УВО (91 vs 91 %). Однако среди тех, у кого терапия оказалась вирусологически неэффективной, преобладали

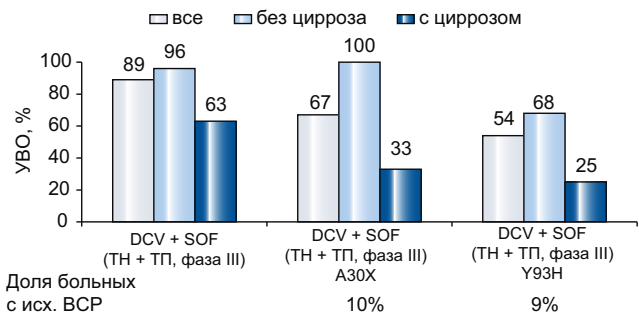


Рис. 6. Частота УВО на терапию софосбувиром и даклатасвиром при HCV генотипа 3 в зависимости от наличия исходных ВСП к ингибиторам NS5A. Даклатасвир (DCV) 60 мг 1 раз в сутки + софосбувир (SOF) 400 мг 1 раз в сутки 12 нед., исследование III фазы ($n = 152$). В анализе учтены обнаруженные при исходном тестировании ВСП к ингибиторам NS5A с мутацией в позиции M28V, полиморфизмом A30 (A30X) и Y93H [113]. ТН — ранее не получавшие терапии; ТП — ранее получавшие терапию.

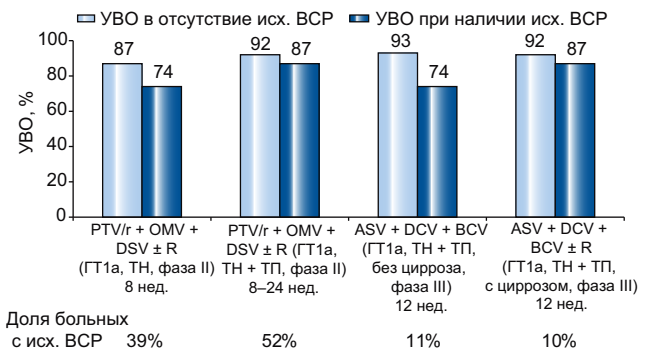


Рис. 7. Частота УВО на трехкомпонентную терапию ингибитором NS3-протеазы, ингибитором NS5A и нуклеозидным ингибитором NS5B при HCV генотипа 1 в зависимости от наличия или отсутствия исходных ВСП. Паритапревир, усиленный ритонавиром (PTV/г), 150/100 мг 1 раз в сутки + омбитасвир (OMV) 25 мг 1 раз в сутки + дасабувир (DSV) 250 мг 2 раза в сутки ± рибавирин (R), исследование II фазы ($n = 406$). Учитывались ВСП с мутациями в позициях 80 и 168 гена NS3, 28, 30, 31 и 93 гена NS5A и 556 и 316 гена NS5B [28]. Отдельный анализ (с учетом назначенной терапии) подгруппы из 49 больных, получивших 8-недельную терапию, касался только варианта Q80K, вызывающего устойчивость к ингибиторам NS3-протеазы [158]. Асунапревир (ASV) 200 мг 2 раза в сутки + даклатасвир (DCV) 30 мг 2 раза в сутки + беклабувир (BCV) 75 мг 2 раза в сутки ± рибавирин (R), исследование III фазы ($n = 415$). Учитывались имевшиеся исходно ВСП с мутациями в позициях 28, 30, 31 и 93 в гене NS5A. Прямых сравнительных исследований не проводилось. ГТ — генотип; исх. — исходно (до начала терапии); ТН — ранее не получавшие терапии; ТП — ранее получавшие терапию.

больные с HCV подтипа 1a (91 %), поэтому представлял интерес отдельный анализ этой подгруппы. Наличие ВСП генов NS3, NS5A и/или NS5B до начала лечения в целом слегка снизило частоту УВО (87 vs 92 %) (рис. 7) [28]. Кроме того, снижение частоты УВО после 8-недельной терапии при исходном наличии Q80K (74 % vs 87 %) свидетельствует о влиянии этого полиморфизма на эффективность трехкомпонентной схемы (см. рис. 7). Данных о

влиянии на частоту УВО при трехкомпонентной терапии исходных ВСП к двум препаратам и других факторов (12- или 24-недельной продолжительности терапии, наличия цирроза печени) пока не опубликовано [36].

У 85 % больных, не ответивших на трехкомпонентную терапию, имелись ВСП, вызывающие устойчивость по крайней мере к одному ее компоненту, у 58 % — ко всем трем. Недавно опубликованы результаты длительного проспективного наблюдения. В то время как ВСП к ингибиторам NS3-протеазы обнаруживались путем популяционного секвенирования после 1 года наблюдения только у 9 % больных, ВСП к ингибиторам NS5A и NS5B — у 96 и 57 % пациентов соответственно [22].

Асунапревир + даклатасвир + беклабувир

В клиническом исследовании III фазы изучена еще одна схема из 3 ПППД без нуклеоз(т)идного ингибитора: ингибитор протеазы асунапревир + ингибитор NS5A даклатасвир + нуклеозидный ингибитор домена «большого пальца 1» беклабувир. В течение 12 нед. ее получали больные без цирроза. Частота УВО у больных с HCV подтипа 1a и исходным ВСП к ингибиторам NS5A ($n = 34$) и без них ($n = 195$) составила 74 и 93 % соответственно (см. рис. 7) [114]. Интересно, что при изучении той же схемы 3 ПППД у больных с циррозом наличие исходных ВСП к ингибиторам NS5A отчетливого влияния на частоту УВО не оказало, возможно, в связи с добавлением к терапии рибавирина у половины исследуемых (см. рис. 7) [115]. Следовательно, относительно небольшое негативное влияние ВСП на частоту УВО и распространенность отдельных из них при ПППД-терапии, направленной на три разных белка HCV, поддается дальнейшему снижению путем добавления рибавирина. Однако, чтобы уяснить значение исходной устойчивости вируса, особенно при плохом поддающемся лечению ХГС с HCV подтипа 1a, необходимы дальнейшие исследования.

Терапия «спасения»

Проведены клинические исследования ПППД-терапии без ингибитора NS3-протеазы, предназначенной для больных, не ответивших на трехкомпонентную схему, включавшую боцепревир или теллапревир. В подобных случаях независимо от наличия ВСП к ингибиторам NS3-протеазы комбинация даклатасвир + софосбувир или ледипасвир + софосбувир обеспечивает УВО у большинства (94–100 %) больных [83, 110]. Влияние ВСП к ингибиторам NS3-протеазы на эффективность повторной терапии включающими их схемами пока изучено недостаточно.

Данные относительно больных, не отвечающих на разные схемы комбинированной ПППД-терапии, скудны. В 1 исследовании 12-недельная терапия софосбувиром и ледипасвиром привела к УВО у всех 14 больных с HCV генотипа 1, ранее не ответивших на 24-недельное лечение софосбувиром и рибавирином [116]. У 7 из этих 14 пациентов имелся далеко зашедший фиброз или цирроз печени. У 1 больного после завершения терапии софосбувиром и рибавирином непостоянно обнаруживался вариант S282T, у всех остальных нуклеотидная последовательность NS5B соответствовала дикому типу вируса

[116]. В другом исследовании больным, в основном с HCV генотипа 3, после неэффективного 12–24-недельного курса софосбувира с рибавирином провели 12-недельную терапию интерфероном, рибавирином и софосбувиром или 24-недельную — софосбувиром и рибавирином. Предварительный анализ результатов продемонстрировал высокую эффективность 12-недельной трехкомпонентной терапии (УВО в 92 % случаев) и недостаточную — повторного 24-недельного курса софосбувира с рибавирином (частота УВО только 63 %) [117].

У 1 больного с HCV генотипа 1, не ответившего на 8-недельную терапию софосбувиром и ледипасвиром, УВО удалось достичь после 24-недельного курса тех же препаратов, дополненного рибавирином, несмотря на наличие ВСП к ингибиторам NS5A и вызывающего высокую устойчивость к софосбувиру варианта S282T [118]. В 41 случае неэффективности 8–12-недельного курса софосбувир + ледипасвир ± рибавирин была проведена 24-недельная терапия софосбувиром и ледипасвиром. В целом частота УВО на нее составила 71 %, но из 11 больных, не ответивших на предшествующий 12-недельный курс, УВО наступил только у 5 (45 %). Исход терапии был связан с устойчивостью к ингибиторам NS5A [32].

Продолжаются исследования резервных схем терапии для больных, у которых ПППД неэффективны.

По-видимому, повторный, более длительный курс препаратами той же группы в некоторых случаях эффективен, хотя их противовирусная активность снижается. Скорее всего, при выборе наилучших терапевтических схем для ранее не ответивших на противовирусную терапию больных важно учитывать дополнительные факторы: стадию фиброза, состояние до лечения, продолжительность предшествующей терапии и т. п. Учитывая, что у не ответивших на ПППД-терапию больных часто имеются многочисленные ВСП, которые снижают, хотя и не резко, частоту УВО, и что неудача терапии, весьма вероятно, может быть связана с накоплением прогностически неблагоприятных факторов, предварительное выявление ВСП может помочь выбрать подходящие ПППД. Учитывая высокую стоимость этих препаратов, выбор наиболее эффективных из них для повторной терапии особенно важен. Согласно современным рекомендациям, следует подождать результатов клинических исследований, а при необходимости не откладывать повторную терапию, использовать, насколько возможно, ПППД другой группы, исходя из данных анализа устойчивости [119].

Перспективы

В клинических исследованиях сочетания ПППД для приема внутрь показали высокую эффективность при ХГС. В большинстве случаев частота УВО превышала 90 %. При сочетании ингибиторов NS3-протеазы первого поколения и ингибиторов NS5A, барьер устойчивости к которым невысок, наличие исходной устойчивости вируса оказывает большое влияние на частоту УВО, что делает необходимым предварительное тестирование устойчивости. При терапии одним препаратом или сочетанием высокоактивных ПППД разных групп с высоким генетическим барьером устойчивости вируса наличие исходно устойчивых вариантов мало влияет на

частоту УВО, но для ответа на терапию важны дополнительные прогностические факторы. Таким образом, невозможно дать единые рекомендации использовать предварительное тестирование устойчивости для оптимального выбора схемы ПППД-терапии при определенных генотипах или подтипах HCV, кратковременной терапии или наличии цирроза. Требуются дальнейшие исследования целесообразности применения дорогостоящих схем ПППД-терапии в регионах с ограниченными возможностями финансирования и предварительного тестирования устойчивости к первоначальным схемам комбинированной ПППД-терапии с целью избежать ее неэффективности и дополнительных затрат на повторное лечение.

Разрабатывается ряд ПППД второго поколения. Особенно необходимы препараты, эффективные при ХГС с HCV генотипа 3 с гарантированной активностью против всех остальных генотипов и подтипов. Достичь этой цели, значительно облегчающей лечение ХГС, непросто из-за обилия подтипов HCV: повышение активности против одних подтипов сопряжено с риском ее утраты против других.

Пока четко не определены терапевтические схемы, эффективные у больных, ранее не ответивших на применение ПППД всех групп. Хотя частота УВО на ПППД-терапию достигает 95 %, остается немало больных, у которых она оказалась неэффективной. Опубликованные исследования свидетельствуют о том, что более чем в 80 % случаев это связано с наличием в популяции вируса вариантов, вызывающих устойчивость к 1, 2 или 3 группам ПППД. Кроме того, неудачи ПППД-терапии, по-видимому, нередко обусловлены сочетанием нескольких неблагоприятных факторов. Один из путей достижения эффекта — более длительный повторный курс тех же препаратов, тем более что после первоначальной 24-недельной терапии рецидивы наблюдаются очень редко. Однако предварительные исследования в небольших группах больных указывают на снижение при этом эффективности лечения. Как альтернативу можно рассматривать смену классов ПППД. Поскольку селекция наиболее распространенных ВСП к нуклеотидным ингибиторам маловероятна, препараты этой группы можно применять повторно. Высокая вероятность селекции ВСП к ингибиторам NS5A и персистенция таких ВСП препятствует широкому использованию препаратов данной группы в схемах ПППД-терапии первой линии. Заслуживают клинических исследований все подходы к лечению больных, не ответивших на комбинированную ПППД-терапию: смена групп ПППД, увеличение продолжительности курсов, дополнение терапии рибавирином и, наконец, при устойчивости к нескольким группам ПППД — их сочетание с пэгинтерфероном-α.

Спонсоры

CS получил грант на исследование от «Deutsches Zentrum für Infektionsforschung (DZIF), TTU Hepatitis».

Конфликты интересов

Консультативные комитеты и наблюдательные группы компаний Abbvie, Abbott, Achillion, Boehringer Ingelheim,

BMS, Janssen, Merck/MSD и Gilead, Roche. Гранты и поддержка исследования от компаний Abbott, Roche, Merck/MSD, Gilead, Janssen, Siemens и Qiagen. Лекторская и преподавательская деятельность в компаниях Bristol-Myers Squibb, Gilead, Abbott, Abbvie, Roche, Merck/MSD, Janssen, Siemens и Boehringer Ingelheim.

Благодарности

Автор благодарит д-ра Julia Dietz за поиск литературы и сбор данных.

Литература

- [1] Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244:359–362.
- [2] Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;61:S45–S57.
- [3] Wiese M, Fischer J, Lobermann M, Gobel U, Grungreff K, Guthoff W, et al. Evaluation of liver disease progression in the German hepatitis C virus (1b)-contaminated anti-D cohort at 35 years after infection. *Hepatology* 2014;59:49–57.
- [4] Razavi H, Waked I, Sarrazin C, Myers RP, Dilman R, Calinas F, et al. The present and future disease burden of hepatitis C virus (HCV) infection with today's treatment paradigm. *J Viral Hepat* 2014;21:34–59.
- [5] Niederau C, Huppe D, Zehnter E, Moller B, Heyne R, Christensen S, et al. Chronic hepatitis C: treat or wait? Medical decision making in clinical practice. *World J Gastroenterol* 2012;18:1339–1347.
- [6] Bartenschlager R, Lohmann V, Penin F. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection. *Nat Rev Microbiol* 2013;11:482–496.
- [7] Deterding K, Gruner N, Buggisch P, Wiegand J, Galle PR, Spengler U, et al. Delayed versus immediate treatment for patients with acute hepatitis C: a randomised controlled non-inferiority trial. *Lancet Infect Dis* 2013;13:497–506.
- [8] Park SH, Rehermann B. Immune responses to HCV and other hepatitis viruses. *Immunity* 2014;40:13–24.
- [9] Heim MH. Innate immunity and HCV. *J Hepatol* 2013;58:564–574.
- [10] Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Yatsuji H, Arase Y, et al. Sustained virological response in a patient with chronic hepatitis C treated by monotherapy with the NS3–4A protease inhibitor telaprevir. *J Clin Virol* 2010;47:76–78.
- [11] Bronowicki JP, Hezode C, Bengtsson L, Pol S, Bourliere M, Serfaty L, et al. 100% Svr in I128b Cc patients treated with 12 weeks of telaprevir, peginterferon and ribavirin in the Prove2 trial. *J Hepatol* 2012;56:S430–S431.
- [12] Wyles DL, Rodriguez-Torres M, Lawitz E, Shiffman ML, Pol S, Herring RW, et al. All-oral combination of ledipasvir, vedroprevir, tegobuvir, and ribavirin in treatment-naive patients with genotype 1 HCV infection. *Hepatology* 2014;60:56–64.
- [13] Rong L, Dahari H, Ribeiro RM, Perelson AS. Rapid emergence of protease inhibitor resistance in hepatitis C virus. *Sci Transl Med* 2010;2:30ra32.
- [14] Dietz J, Schelhorn SE, Fitting D, Mihm U, Susser S, Welker MW, et al. Deep sequencing reveals mutagenic effects of ribavirin during monotherapy of hepatitis C virus genotype 1-infected patients. *J Virol* 2013;87:6172–6181.
- [15] Sarrazin C, Lathouwers E, Peeters M, Daems B, Buelens A, Witek J, et al. Prevalence of the hepatitis C virus NS3 polymorphism

- Q80K in genotype 1 patients in the European region. *Antiviral Res* 2015;116:10–16.
- [16] Lenz O, Vijgen L, Berke JM, Cummings MD, Fevery B, Peeters M, et al. Virologic response and characterisation of HCV genotype 2–6 in patients receiving TMC435 monotherapy (study TMC435-C202). *J Hepatol* 2013;58:445–451.
- [17] Vallet S, Viron F, Henquell C, Le Guillou-Guillemette H, Lagathu G, Abravanel F, et al. NS3 protease polymorphism and natural resistance to protease inhibitors in French patients infected with HCV genotypes 1–5. *Antivir Ther* 2011;16:1093–1102.
- [18] De Meyer S, Ghys A, Foster GR, Beumont M, Van Baelen B, Lin TI, et al. Analysis of genotype 2 and 3 hepatitis C virus variants in patients treated with telaprevir demonstrates a consistent resistance profile across genotypes. *J Viral Hepat* 2013;20:395–403.
- [19] Howe AY, Long JM, Thompson S, Barnard RJ, Alves K, Howe JA, et al. Analysis of the durability of response and persistence of resistance associated variants during long term follow up after boceprevir plus pegylated interferon/ribavirin therapy-3 year analysis. *Hepatology* 2013;58, 1095a-1095a.
- [20] Sullivan JC, De Meyer S, Bartels DJ, Dierynck I, Zhang EZ, Spanks J, et al. Evolution of treatment-emergent resistant variants in telaprevir phase 3 clinical trials. *Clin Infect Dis* 2013;57:221–229.
- [21] Lenz O, Verbinen T, Fevery B, Tambuyzer L, Vijgen L, Peeters M, et al. Virology analyses of HCV isolates from genotype 1-infected patients treated with simeprevir plus peginterferon/ribavirin in Phase IIb/III studies. *J Hepatol* 2015;62:1008–1014.
- [22] Krishnan P, Tripathi R, Schnell G, Reisch T, Beyer J, Dekhtyar T, et al. Long-term follow-up of treatment-emergent resistance-associated variants in NS3, NS5A and NS5B with paritaprevir/r, ombitasvir and dasabuvir-based regimens. *J Hepatol* 2015;62, S220-S220.
- [23] Susser S, Vermehren J, Forestier N, Welker MW, Grigorian N, Fuller C, et al. Analysis of long-term persistence of resistance mutations within the hepatitis C virus NS3 protease after treatment with telaprevir or boceprevir. *J Clin Virol* 2011.
- [24] Thomas XV, de Bruijne J, Kieffer TL, Sullivan JC, Rebers SP, deVries M, et al. Long-term follow-up of chronic hepatitis C infected patients treated with telaprevir: evaluation of persistence of resistant variants by ultra-deep sequencing. *J Hepatol* 2011;54:S490–S491.
- [25] Sarrazin C, Dvory-Sobol H, Svarovskaia ES, Doehle B, McCarville JF, Pang PS, et al. Baseline and post-baseline resistance analyses of phase 2/3 studies of ledipasvir/sofosbuvir +/- RBV. *Hepatology* 2014;60, 1128a-1128a.
- [26] McPhee F, Hernandez D, Yu F, Ueland J, Monikowski A, Carifa A, et al. Resistance analysis of hepatitis C virus genotype 1 prior treatment null responders receiving daclatasvir and asunaprevir. *Hepatology* 2013;58:902–911.
- [27] Dvory-Sobol H, Wyles D, Ouyang W, Chodavarapu K, McNally J, Cheng W, et al. Long-term persistence of HCV NS5A variants after treatment with NS5A inhibitor ledipasvir. *J Hepatol* 2015;62, S221-S221.
- [28] Krishnan P, Tripathi R, Schnell G, Reisch T, Beyer J, Irvin M, et al. Resistance analysis of baseline and treatment-emergent variants in hepatitis C virus genotype 1 in the AVIATOR study with paritaprevir-ritonavir, ombitasvir, and dasabuvir. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:5445–5454.
- [29] Di Maio VC, Cento V, Mirabelli C, Artese A, Costa G, Alcaro S, et al. Hepatitis C virus genetic variability and the presence of NS5B resistance-associated mutations as natural polymorphisms in selected genotypes could affect the response to NS5B inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2781–2797.
- [30] Hedskog C, Dvory-Sobol H, Gontcharova V, Martin R, Ouyang W, Han B, et al. Evolution of the HCV viral population from a patient with S282T detected at relapse after sofosbuvir monotherapy. *J Viral Hepat* 2015.
- [31] Svarovskaia ES, Dvory-Sobol H, Parkin N, Hebner C, Gontcharova V, Martin R, et al. Infrequent development of resistance in genotype 1–6 hepatitis C virus-infected subjects treated with sofosbuvir in phase 2 and 3 clinical trials. *Clin Infect Dis* 2014;59:1666–1674.
- [32] Lawitz E, Flamm S, Yang J, Pang PS, Zhu Y, Svarovskaia ES, et al. Retreatment of patients who failed 8 or 12 weeks of ledipasvir/sofosbuvir-based regimens with ledipasvir/sofosbuvir for 24 weeks. *J Hepatol* 2015;62, S192-S192.
- [33] Donaldson EF, Harrington PR, O'Rear JJ, Naeger LK. Clinical evidence and bioinformatics characterization of potential hepatitis C virus resistance pathways for sofosbuvir. *Hepatology* 2015;61:56–65.
- [34] Svarovskaia ES, Dvory-Sobol H, Doehle B, Gane EJ, Jacobson IM, Nelson DR, et al. L159F and V321A sofosbuvir treatment-emergent HCV NS5B substitutions. *Hepatology* 2014;60, 218a-218a.
- [35] Barnard RJ, Howe JA, Ogert RA, Zeuzem S, Poordad F, Gordon SC, et al. Analysis of boceprevir resistance associated amino acid variants (RAVs) in two phase 3 boceprevir clinical studies. *Virology* 2013;444:329–336.
- [36] Krishnan P, Tripathi R, Schnell G, Reisch T, Beyer J, Irvin M, et al. Pooled analysis of resistance in patients treated with ombitasvir/ABT-450/r and dasabuvir with or without ribavirin in Phase 2 and Phase 3 clinical trials. *Hepatology* 2014;60:1134a–1135a.
- [37] Tang MW, Shafer RW. HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. *Drugs* 2012;72:e1–e25.
- [38] Herrmann E, Sarrazin C. Hepatitis C-virus - virus kinetics and resistance mechanisms. *Z Gastroenterol* 2004;42:387–396.
- [39] Vermehren J, Susser S, Lange CM, Forestier N, Karey U, Hughes E, et al. Mutations selected in the hepatitis C virus NS3 protease domain during sequential treatment with boceprevir with and without pegylated interferon alfa-2b. *J Viral Hepat* 2011, epub.
- [40] Lenz O, de Bruijne J, Vijgen L, Verbinen T, Weegink C, Van Marck H, et al. Efficacy of re-treatment with TMC435 as combination therapy in hepatitis C virus-infected patients following TMC435 monotherapy. *Gastroenterology* 2012;143:e1171–e1176.
- [41] Susser S, Flinders M, Reesink HW, Zeuzem S, Lawyer G, Ghys A, et al. Evolution of hepatitis C virus quasispaces during repeated treatment with the NS3/4A protease inhibitor telaprevir. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:2746–2755.
- [42] Franco S, Tural C, Nevot M, Molto J, Rockstroh JK, Clotet B, et al. Detection of a sexually transmitted hepatitis C virus protease inhibitor-resistance variant in a human immunodeficiency virus-infected homosexual man. *Gastroenterology* 2014;147:e591.
- [43] Qi X, Bae A, Liu S, Yang H, Sun SC, Harris J, et al. Development of a replicon-based phenotypic assay for assessing the drug susceptibilities of HCV NS3 protease genes from clinical isolates. *Antiviral Res* 2009;81:166–173.
- [44] Rupp D, Dietz J, Sikorski AM, Sierra S, Brown R, Pietschmann T, et al. A phenotypic NS3-protease inhibitor resistance assay to characterize resistance-associated mutations in patients. *J Viral Hepat* 2015;22, 93–93.
- [45] Jacobson IM, Dore GJ, Foster GR, Fried MW, Radu M, Rafalsky VV, et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-1): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2014;384:403–413.
- [46] Manns M, Marcellin P, Poordad F, de Araujo ES, Buti M, Horsmans Y, et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2014;384:414–426.
- [47] Lawitz E, Sulkowski MS, Ghalib R, Rodriguez-Torres M, Younossi ZM, Corregidor A, et al. Simeprevir plus sofosbuvir, with or without ribavirin, to treat chronic infection with hepatitis C virus genotype 1 in non-responders to pegylated interferon and ribavirin and treatment-naïve patients: the COSMOS randomised study. *Lancet* 2014.
- [48] Pawlotsky JM. New hepatitis C virus (HCV) drugs and the hope for a cure: concepts in anti-HCV drug development. *Semin Liver Dis* 2014;34:22–29.

- [49] Sarrazin C, Hezode C, Zeuzem S, Pawlotsky JM. Antiviral strategies in hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2012;56:S88–S100.
- [50] Sarrazin C, Kieffer TL, Bartels D, Hanzelka B, Muh U, Welker M, et al. Dynamic hepatitis C virus genotypic and phenotypic changes in patients treated with the protease inhibitor telaprevir. *Gastroenterology* 2007;132:1767–1777.
- [51] Kieffer TL, Sarrazin C, Miller JS, Welker MW, Forestier N, Reesink HW, et al. Telaprevir and pegylated interferon-alpha-2a inhibit wild-type and resistant genotype 1 hepatitis C virus replication in patients. *Hepatology* 2007;46:631–639.
- [52] Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, Marcellin P, Vierling JM, Zeuzem S, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;364:1207–1217.
- [53] Poordad F, McCone Jr J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011;364:1195–1206.
- [54] Fridell RA, Qiu D, Wang C, Valera L, Gao M. Resistance analysis of the hepatitis C virus NS5A inhibitor BMS-790052 in an in vitro replicon system. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:3641–3650.
- [55] Gotte M. The distinct contributions of fitness and genetic barrier to the development of antiviral drug resistance. *Curr Opin Virol* 2012;2:644–650.
- [56] Powdrill MH, Tchesnokov EP, Kozak RA, Russell RS, Martin R, Svarovskaia ES, et al. Contribution of a mutational bias in hepatitis C virus replication to the genetic barrier in the development of drug resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:20509–20513.
- [57] Sarrazin C, Rouzier R, Wagner F, Forestier N, Larrey D, Gupta SK, et al. SCH 503034, a novel hepatitis C virus protease inhibitor, plus pegylated interferon alpha-2b for genotype 1 nonresponders. *Gastroenterology* 2007;132:1270–1278.
- [58] Moreno C, Berg T, Tanwandee T, Thongsawat S, Van Vlierberghe H, Zeuzem S, et al. Antiviral activity of TMC435 monotherapy in patients infected with HCV genotypes 2–6: TMC435-C202, a phase IIa, open-label study. *J Hepatol* 2012;56:1247–1253.
- [59] Petry AS, Fraser IP, O'Mara E, Van Dyck K, Nachbar RB, De Lepeleire IM, et al. Safety and antiviral activity of MK-5172, a next generation HCV NS3/4A protease inhibitor with a broad HCV genotypic activity spectrum and potent activity against known resistance mutants, in genotype 1 and 3 HCV-infected patients. *Hepatology* 2011;54:531a–531a.
- [60] Summa V, Ludmerer SW, McCauley JA, Fandozzi C, Burlein C, Claudio G, et al. MK-5172, a selective inhibitor of hepatitis C virus NS3/4a protease with broad activity across genotypes and resistant variants. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:4161–4167.
- [61] Susser S, Welsch C, Wang Y, Zettler M, Domingues FS, Karey U, et al. Characterization of resistance to the protease inhibitor boceprevir in hepatitis C virus-infected patients. *Hepatology* 2009;50:1709–1718.
- [62] Reesink HW, Fanning GC, Farha KA, Weegink C, Van VA, Van't KG, et al. Rapid HCV-RNA decline with once daily TMC435: a phase I study in healthy volunteers and hepatitis C patients. *Gastroenterology* 2010;138:913–921.
- [63] Pilot-Matias T, Tripathi R, Cohen D, Gaultier I, Dekhtyar T, Lu L, et al. In vitro and in vivo antiviral activity and resistance profile of the hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitor ABT-450. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:988–997.
- [64] Pasquinelli C, McPhee F, Eley T, Villegas C, Sandy K, Sheridan P, et al. Single- and multiple-ascending-dose studies of the NS3 protease inhibitor asunaprevir in subjects with or without chronic hepatitis C. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:1838–1844.
- [65] McPhee F, Friborg J, Levine S, Chen C, Falk P, Yu F, et al. Resistance analysis of the hepatitis C virus NS3 protease inhibitor asunaprevir. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:3670–3681.
- [66] Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ, Forestier N, van Vliet A, van de Wetering de R, et al. Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a phase Ib, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology* 2006;131:997–1002.
- [67] Howe AY, Black S, Curry S, Ludmerer SW, Liu R, Barnard RJ, et al. Virologic resistance analysis from a phase 2 study of MK-5172 combined with pegylated interferon/ribavirin in treatment-naive patients with hepatitis C virus genotype 1 infection. *Clin Infect Dis* 2014;59:1657–1665.
- [68] Berger C, Romero-Brey I, Radujkovic D, Terreux R, Zayas M, Paul D, et al. Daclatasvir-like inhibitors of NS5A block early biogenesis of hepatitis C virus-induced membranous replication factories, independent of RNA replication. *Gastroenterology* 2014;147:e1025.
- [69] Gao M, Nettles RE, Belema M, Snyder LB, Nguyen VN, Fridell RA, et al. Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature* 2010;465:96–100.
- [70] Cheng G, Peng B, Corsa A, Yu M, Nash M, Lee YJ, et al. Antiviral activity and resistance profile of the novel Hcv N5sa inhibitor Gs-5885. *J Hepatol* 2012;56:S464–S464.
- [71] Krishnan P, Beyer J, Mistry N, Koev G, Reisch T, DeGoey D, et al. In vitro and in vivo antiviral activity and resistance profile of ombitasvir, an inhibitor of hepatitis C virus NS5A. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:979–987.
- [72] Nettles RE, Gao M, Bifano M, Chung E, Persson A, Marbury TC, et al. Multiple ascending dose study of BMS-790052, a nonstructural protein 5A replication complex inhibitor, in patients infected with hepatitis C virus genotype 1. *Hepatology* 2011;54:1956–1965.
- [73] Fridell RA, Wang C, Sun JH, O'Boyle 2nd DR, Nower P, Valera L, et al. Genotypic and phenotypic analysis of variants resistant to hepatitis C virus nonstructural protein 5A replication complex inhibitor BMS-790052 in humans: in vitro and in vivo correlations. *Hepatology* 2011;54:1924–1935.
- [74] Lawitz EJ, Gruener D, Hill JM, Marbury T, Moorehead L, Mathias A, et al. A phase 1, randomized, placebo-controlled, 3-day, dose-ranging study of GS-5885, an NS5A inhibitor, in patients with genotype 1 hepatitis C. *J Hepatol* 2012;57:24–31.
- [75] Yeh WW, Lipardi C, Jumes P, De Lepeleire IM, Van den Bulk N, Caro L, et al. MK-8742, a HCV NS5A inhibitor with a broad spectrum of HCV genotypic activity, demonstrates potent antiviral activity in genotype-1 and -3 HCV-infected patients. *Hepatology* 2013;58:438a–439a.
- [76] Lahser F, Liu R, Bystol K, Xia E, Raubertas R, Asante-Appiah E, et al. A combination containing MK-5172 (HCV NS3 protease inhibitor) and MK-8742 (HCV NS5A inhibitor) demonstrates high barrier to resistance in HCV replicons. *Hepatology* 2012;56:236a–236a.
- [77] Gaultier I, Cohen DE, Dumas LM, Larsen L, Podsadecki T, Bernstein B. 8-week efficacy and safety of ABT-333 or ABT-972 with standard-of-care, following 3-day monotherapy in genotype 1 HCV-infected treatment-naive subjects. *Hepatology* 2011;53:1055–1062.
- [78] Kati W, Koev G, Irvin M, Beyer J, Liu Y, Krishnan P, et al. In vitro activity and resistance profile of dasabuvir, a nonnucleoside hepatitis C virus polymerase inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59:1505–1511.
- [79] Gane EJ, Stedman CA, Hyland RH, Ding X, Svarovskaia E, Symonds WT, et al. Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C. *N Engl J Med* 2013;368:34–44.
- [80] Lawitz EJ, Rodriguez-Torres M, Denning J, Mathias A, Mo H, Gao B, et al. Alloral therapy with nucleotide inhibitors sofosbuvir and GS-0938 for 14 days in treatment-naive genotype 1 hepatitis C (nuclear). *J Viral Hepat* 2013;20:699–707.
- [81] Lam AM, Espiritu C, Bansal S, Micolochick Steuer HM, Niu C, Zennou V, et al. Genotype and subtype profiling of PSI-7977 as a nucleotide inhibitor of hepatitis C virus. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:3359–3368.
- [82] Afdhal N, Zeuzem S, Kwo P, Chojkier M, Gitlin N, Puoti M, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014;370:1889–1898.

- [83] Afdhal N, Reddy KR, Nelson DR, Lawitz E, Gordon SC, Schiff E, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2014;370:1483–1493.
- [84] Kowdley KV, Gordon SC, Reddy KR, Rossaro L, Bernstein DE, Lawitz E, et al. Ledipasvir and sofosbuvir for 8 or 12 weeks for chronic HCV without cirrhosis. *N Engl J Med* 2014;370:1879–1888.
- [85] Kuntzen T, Timm J, Berical A, Lennon N, Berlin AM, Young SK, et al. Naturally occurring dominant resistance mutations to hepatitis C virus protease and polymerase inhibitors in treatment-naive patients. *Hepatology* 2008;48:1769–1778.
- [86] Gaudieri S, Rauch A, Pfafferoth K, Barnes E, Cheng W, McCaughan G, et al. Hepatitis C virus drug resistance and immune-driven adaptations: relevance to new antiviral therapy. *Hepatology* 2009;49:1069–1082.
- [87] Bartels DJ, Zhou Y, Zhang EZ, Marcial M, Byrn RA, Pfeiffer T, et al. Natural prevalence of hepatitis C virus variants with decreased sensitivity to NS3.4A protease inhibitors in treatment-naive subjects. *J Infect Dis* 2008;198:800–807.
- [88] Dierynck I, Thys K, Ghys A, Sullivan JC, Kieffer TL, Aerssens J, et al. Deep-sequencing analysis of the gene encoding the hepatitis C virus nonstructural 3–4A protease confirms a low prevalence of telaprevir-resistant variants at baseline and the end of the REALIZE study. *J Infect Dis* 2014;210:1871–1880.
- [89] Howe JA, Long JM, Black S, Chase R, McMonagle P, Curry S, et al. Pooled clinical trial analyses of detectable baseline HCV NS3/4A resistance associated variants on the efficacy of boceprevir plus pegylated interferon/ ribavirin therapy. *Hepatology* 2013;58, 1097a-1097a.
- [90] De Meyer S, Dierynck I, Ghys A, Beumont M, Daems B, Van Baelen B, et al. Characterization of telaprevir treatment outcomes and resistance in patients with prior treatment failure: results from the REALIZE trial. *Hepatology* 2012;56:2106–2115.
- [91] Trimoulet P, Pinson P, Papuchon J, Foucher J, Vergniol J, Chermak F, et al. Dynamic and rapid changes in viral quasispecies by UDPS in chronic hepatitis C patients receiving telaprevir-based therapy. *Antivir Ther* 2013;18:723–727.
- [92] Dietz J, Rupp D, Perner D, Berkowski C, Rader M, Susser S, et al. Analysis of NS3 protease resistance-associated variants and phenotypes for the prediction of treatment response to HCV triple therapy. *J Hepatol* 2015;62, S643-S643.
- [93] Reddy KR, Zeuzem S, Zoulim F, Weiland O, Horban A, Stanciu C, et al. Simeprevir versus telaprevir with peginterferon and ribavirin in previous null or partial responders with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (ATTAIN): a randomised, double-blind, non-inferiority phase 3 trial. *Lancet Infect Dis* 2015;15:27–35.
- [94] Hezode C, Hirschfield GM, Ghesquiere W, Sievert W, Rodriguez-Torres M, Shafran SD, et al. Daclatasvir plus peginterferon alfa and ribavirin for treatment-naive chronic hepatitis C genotype 1 or 4 infection: a randomised study. *Gut* 2014.
- [95] Dore GJ, Lawitz E, Hezode C, Shafran SD, Ramji A, Tatum HA, 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:e351.
- [96] Lawitz E, Mangia A, Wyles D, Rodriguez-Torres M, Hassanein T, Gordon SC, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med* 2013;368:1878–1887.
- [97] Dietz J, Susser S, Berkowski C, Perner D, Zeuzem S, Sarrazin C. Consideration of viral resistance for optimization of direct antiviral therapy of hepatitis C virus genotype 1-infected patients. *PLoS One* 2015, accepted for publication.
- [98] Lalezari JP, Nelson DR, Hyland RH, Lin M, Ross SJ, Symonds WT, et al. Once-daily sofosbuvir plus ribavirin given 12 or 24 weeks in treatment-naive patients with HCV infection: the Quantum study. *J Hepatol* 2013;58:845A.
- [99] Zeuzem S, Dusheiko GM, Salupere R, Mangia A, Flisiak R, Hyland RH, et al. Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. *N Engl J Med* 2014;370:1993–2001.
- [100] Hedskog C, Doehle B, Chodavarapu K, Gontcharova V, Crespo Garcia J, De Knecht R, et al. Characterization of hepatitis C virus intergenotypic recombinant strains and associated virological response to sofosbuvir/ribavirin. *Hepatology* 2015;61:471–480.
- [101] Lok AS, Gardiner DF, Lawitz E, Martorell C, Everson GT, Ghalib R, et al. Preliminary study of two antiviral agents for hepatitis C genotype 1. *N Engl J Med* 2012;366:216–224.
- [102] Manns M, Pol S, Jacobson IM, Marcellin P, Gordon SC, Peng CY, et al. All-oral daclatasvir plus asunaprevir for hepatitis C virus genotype 1b: a multinational, phase 3, multicohort study. *Lancet* 2014.
- [103] Zeuzem S, Ghalib R, Reddy KR, Pockros PJ, Ari ZB, Zhao Y, 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. *Ann Intern Med* 2015;163:1–13.
- [104] Kwo P, E. Gane E, Peng C-Y, Pearlman B, Vireling J, Serfaty L, et al. Efficacy and safety of grazoprevir/elbasvir +/- RBV for 12 weeks in patients with HCV G1 or G4 infection who previously failed peginterferon/RBV: C-EDGE treatment-experienced trial. *J Hepatol* 2015;62, S674-S674.
- [105] Miura M, Maekawa S, Sato M, Komatsu N, Tatsumi A, Takano S, et al. Deep sequencing analysis of variants resistant to the non-structural 5A inhibitor daclatasvir in patients with genotype 1b hepatitis C virus infection. *Hepatol Res* 2014;44:E360–E367.
- [106] Akamatsu S, Hayes CN, Ochi H, Uchida T, Kan H, Murakami E, et al. Association between variants in the interferon lambda 4 locus and substitutions in the hepatitis C virus non-structural protein 5A. *J Hepatol* 2015;63:554–563.
- [107] Peiffer K, Sommer L, Susser S, Dietz J, Perner D, Berkowski C, et al. Association between IFN-L3 (IL28B) and IFN-L4 genotypes and resistance-associated variants in HCV genotype 1 and 3 infected patients. *Hepatology* 2015, Epub ahead of print.
- [108] Kwo P, Gitlin N, Nahass R, Bernstein D, Rojter S, Schiff E, et al. A phase 3, randomised, open-label study to evaluate the efficacy and safety of 8 and 12 weeks of simeprevir (SMV) plus sofosbuvir (SOF) in treatment-naive and -experienced patients with chronic HCV genotype 1 infection without cirrhosis: Optimist-1. *J Hepatol* 2015;62, S270-S270.
- [109] Lawitz E, Matusow G, DeJesus E, Yoshida E, Felizarta F, Ghalib R, et al. A phase-3 open-label, single-arm study to evaluate the efficacy and safety of 12 weeks of simeprevir (SMV) plus sofosbuvir (SOF) in treatment-naive or -experienced patients with chronic HCV genotype 1 infection and cirrhosis: Optimist-2. *J Hepatol* 2015;62:S264–S265.
- [110] Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, Reddy KR, Hassanein T, Jacobson I, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2014;370:211–221.
- [111] Lawitz E, Poordad FF, Pang PS, Hyland RH, Ding X, Mo H, et al. Sofosbuvir and ledipasvir fixed-dose combination with and without ribavirin in treatment-naive and previously treated patients with genotype 1 hepatitis C virus infection (LONESTAR): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet* 2014;383:515–523.
- [112] Sarrazin C, Dvory-Sobol H, Svarovskaia ES, Doehle B, Martin R, Zeuzem S, et al. The prevalence and the effect of HCV NS5A resistance associated variants in subjects with compensated cirrhosis treated with ledipasvir/sofosbuvir +/- RBV. *J Hepatol* 2015;62, S620-S620.
- [113] Nelson DR, Cooper JN, Lalezari JP, Lawitz E, Pockros PJ, Gitlin N, et al. All-oral 12-week treatment with daclatasvir plus sofosbuvir in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection: ALLY-3 phase 3 study. *Hepatology* 2015.
- [114] Poordad F, Sievert W, Mollison L, Bennett M, Tse E, Brau N, et al. Fixed-dose combination therapy with daclatasvir, asunaprevir, and beclabuvir for noncirrhotic patients with HCV genotype 1 infection. *JAMA* 2015;313:1728–1735.

- [115] Muir AJ, Poordad F, Lalezari J, Everson G, Dore GJ, Herring R, et al. Daclatasvir in combination with asunaprevir and beclabuvir for hepatitis C virus genotype 1 infection with compensated cirrhosis. *JAMA* 2015;313:1736–1744.
- [116] Osinusi A, Kohli A, Marti MM, Nelson A, Zhang X, Meissner EG, et al. Retreatment of chronic hepatitis C virus genotype 1 infection after relapse: an open-label pilot study. *Ann Intern Med* 2014;161:634–638.
- [117] Esteban R, Nyberg L, Lalezari J, Ni L, Doehle B, Kanwar B, et al. Successful retreatment with sofosbuvir-containing regimens for HCV genotype 2 or 3 infected patients who failed prior sofosbuvir plus ribavirin therapy. *J Hepatol* 2014;60:S4–S5.
- [118] Lawitz E, Poordad F, Brainard D, Hyland RH, An D, Symonds WT, et al. Sofosbuvir in combination with PEG-IFN and ribavirin for 12 weeks provides high SVR rates in HCV infected genotype 2 or 3 treatment-experienced patients with and without compensated cirrhosis: results from the Lonestar-2 study. *Hepatology* 2013;58, 1380a-1380a.
- [119] EASL. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;60:392–420.
- [120] Bartels DJ, Sullivan JC, Zhang EZ, Tigges AM, Dorrian JL, De Meyer S, et al. Hepatitis C virus variants with decreased sensitivity to direct-acting antivirals (DAAs) were rarely observed in DAA-naïve patients prior to treatment. *J Virol* 2013;87:1544–1553.
- [121] Howe JA, Long J, Black S, Chase R, McMonagle P, Curry S, et al. Clinical Implications of detectable baseline hepatitis C virus-genotype 1 NS3/4A-protease variants on the efficacy of boceprevir combined with peginterferon/ribavirin. *Open Forum Infect Dis* 2014;1:1–7.
- [122] Palanisamy N, Danielsson A, Kokkula C, Yin H, Bondeson K, Wesslen L, et al. Implications of baseline polymorphisms for potential resistance to NS3 protease inhibitors in Hepatitis C virus genotypes 1a, 2b and 3a. *Antiviral Res* 2013;99:12–17.
- [123] Kitrinos KM, Wyles D, Dvory-Sobol H, Worth A, Han B, Brainard D, et al. Evaluation of the resistance profile of ledipasvir, a non-structural protein 5A inhibitor, in genotype 1 chronically infected HCV subjects treated with ledipasvir-containing regimens without sofosbuvir. *Hepatology* 2014;60:1143a–1144a.
- [124] Plaza Z, Soriano V, Vispo E, del Mar Gonzalez M, Barreiro P, Seclen E, et al. Prevalence of natural polymorphisms at the HCV NS5A gene associated with resistance to daclatasvir, an NS5A inhibitor. *Antivir Ther* 2012;17:921–926.
- [125] Nakamoto S, Kanda T, Wu S, Shirasawa H, Yokosuka O. Hepatitis C virus NS5A inhibitors and drug resistance mutations. *World J Gastroenterol* 2014;20:2902–2912.
- [126] Wang C, Jia L, Huang H, Qiu D, Valera L, Huang X, et al. In vitro activity of BMS-790052 on hepatitis C virus genotype 4 NS5A. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:1588–1590.
- [127] Hernandez D, Zhou N, Ueland J, Monikowski A, McPhee F. Natural prevalence of NS5A polymorphisms in subjects infected with hepatitis C virus genotype 3 and their effects on the antiviral activity of NS5A inhibitors. *J Clin Virol* 2013;57:13–18.
- [128] Charlton M, Gane E, Manns MP, Brown RS, Curry MP, Kwo PY, et al. Sofosbuvir and ribavirin for treatment of compensated recurrent hepatitis C Virus infection after liver transplantation. *Gastroenterology* 2015;148:108–117.
- [129] Tong X, Le Pogam S, Li L, Haines K, Pisco K, Baronas V, et al. In vivo emergence of a novel mutant L159F/L320F in the NS5B polymerase confers low-level resistance to the HCV polymerase inhibitors mericitabine and sofosbuvir. *J Infect Dis* 2014;209:668–675.
- [130] Krishnan P, Tripathi R, Irvin M, Beyer J, Reisch T, Schnell G, et al. Lack of impact of baseline resistance-associated variants (RAVs) on treatment outcome in the aviator study with ABT-450/r, ABT-333 and ABT-267, +/- ribavirin. *J Hepatol* 2014;60:S498.
- [131] Jiang M, Mani N, Lin C, Ardzinski A, Nelson M, Reagan D, et al. In vitro phenotypic characterization of hepatitis C virus NS3 protease variants observed in clinical studies of telaprevir. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:6236–6245.
- [132] Lenz O, Verbinnen T, Lin TI, Vijgen L, Cummings MD, Lindberg J, et al. In vitro resistance profile of the hepatitis C virus NS3/4A protease inhibitor TMC435. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:1878–1887.
- [133] Howe JA, Long J, Black S, Chase R, McMonagle P, Curry S, et al. Pooled clinical trial analyses of the effects of detectable baseline HCV NS3/4a resistance-associated variants on the efficacy of boceprevir + pegylated interferon/ribavirin therapy. *Hepatology* 2013;58, 1097a-1097a.
- [134] Wang C, Jia L, O'Boyle 2nd DR, Sun JH, Rigat K, Valera L, et al. Comparison of daclatasvir resistance barriers on NS5A from hepatitis C virus genotypes 1 to 6: implications for cross-genotype activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:5155–5163.
- [135] Fridell RA, Qiu D, Valera L, Wang C, Rose RE, Gao M. Distinct functions of NS5A in hepatitis C virus RNA replication uncovered by studies with the NS5A inhibitor BMS-790052. *J Virol* 2011;85:7312–7320.
- [136] DeGoey DA, Randolph JT, Liu D, Pratt J, Hutchins C, Donner P, et al. Discovery of ABT-267, a pan-genotypic inhibitor of HCV NS5A. *J Med Chem* 2014;57:2047–2057.
- [137] Wong KA, Worth A, Martin R, Svarovskaia E, Brainard DM, Lawitz E, et al. Characterization of Hepatitis C virus resistance from a multiple-dose clinical trial of the novel NS5A inhibitor GS-5885. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:6333–6340.
- [138] Pelosi LA, Voss S, Liu M, Gao M, Lemm JA. Effect on hepatitis C virus replication of combinations of direct-acting antivirals, including NS5A inhibitor daclatasvir. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:5230–5239.
- [139] Middleton T, He Y, Beyer J, Menon R, Klein C, Cohen D, et al. Resistance profile of Abt-333 and relationship to viral load decrease in patients treated in combination with peginterferon and ribavirin for 28 days. *J Hepatol* 2010;52:S296–S297.
- [140] Sarrazin C, Zeuzem S. Resistance to direct antiviral agents in patients with hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2010;138:447–462.
- [141] Silva MO, Treitel M, Graham DJ, Curry S, Frontera MJ, McMonagle P, et al. Antiviral activity of boceprevir monotherapy in treatment-naïve subjects with chronic hepatitis C genotype 2/3. *J Hepatol* 2013;59:31–37.
- [142] Benhamou Y, Moussalli J, Ratziv V, Lebray P, De Backer K, De Meyer S, et al. Telaprevir activity in treatment-naïve patients infected hepatitis C virus genotype 4: a randomized trial. *J Infect Dis* 2013;208:1000–1007.
- [143] Foster GR, Hezode C, Brownwicki JP, Carosi G, Weiland O, Verlinden L, et al. Telaprevir alone or with peginterferon and ribavirin reduces HCV RNA in patients with chronic genotype 2 but not genotype 3 infections. *Gastroenterology* 2011.
- [144] Tong X, Bogen S, Chase R, Girijavallabhan V, Guo Z, Njoroge FG, et al. Characterization of resistance mutations against HCV ketoamide protease inhibitors. *Antiviral Res* 2008;77:177–185.
- [145] Victrelis. Prescribing information. MSD; 2011.
- [146] Li YP, Ramirez S, Humes D, Jensen SB, Gottwein JM, Bukh J. Differential sensitivity of 5'UTR-NS5A recombinants of hepatitis C virus genotypes 1–6 to protease and NS5A inhibitors. *Gastroenterology* 2014;146:e814.
- [147] Lin C, Lin K, Luong YP, Rao BG, Wei YY, Brennan DL, et al. In vitro resistance studies of hepatitis C virus serine protease inhibitors, VX-950 and BILN 2061: structural analysis indicates different resistance mechanisms. *J Biol Chem* 2004;279:17508–17514.
- [148] Incivo. Prescribing information. Janssen; 2011.
- [149] McPhee F, Sheaffer AK, Friborg J, Hernandez D, Falk P, Zhai G, et al. Preclinical profile and characterization of the hepatitis C virus NS3 protease inhibitor asunaprevir (BMS-650032). *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:5387–5396.

- [150] Fevery B, Verbinnen T, Peeters M, Zucchetto M, Witek J, Jessner W, et al. Virology analyses of HCV isolates from genotype 4 patients treated with simeprevir in combination with peginterferon/ribavirin in the Phase III RESTORE study. *Hepatology* 2014;60, 1060a-1060a.
- [151] Verbinnen T, Fevery B, Vijgen L, Picchio G, De Meyer S, Lenz O. Phenotypic characterization of genotype 1 hepatitis C NS3 protease variants from clinical studies with simeprevir. *Antivir Ther* 2014;19:A108.
- [152] Harvoni. Prescribing information. Gilead; 2014.
- [153] Kieffer TL, De Meyer S, Bartels DJ, Sullivan JC, Zhang EZ, Tigges A, et al. Hepatitis C viral evolution in genotype 1 treatment-naive and treatment-experienced patients receiving telaprevir-based therapy in clinical trials. *PLoS One* 2012;7:e34372.
- [154] Zeuzem S, Ghalib R, Reddy KR, Pockros PJ, Ari ZB, Zhao Y, et al. The phase 3 C-EDGE treatment-naive (TN) study of a 12-week oral regimen of grazoprevir (GZR, MK-5172)/elbasvir (EBR, MK-8742) in patients with chronic HCV genotype (GT) 1, 4 or 6 infection. *J Hepatol* 2015;62, S213-S213.
- [155] Wyles DL, Ruane PJ, Sulkowski MS, Dieterich D, Luetkemeyer A, Morgan TR, et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for HCV in patients coinfecting with HIV-1. *N Engl J Med* 2015, Epub ahead of print.
- [156] Wyles D, Ruane P, Sulkowski M, Dieterich D, Luetkemeyer A, Morgan T, et al. Daclatasvir in combination with sofosbuvir for HIV/HCV coinfection: ALLY-2 study. *Top Antivir Med* 2015;23, 62-62.
- [157] Poordad F, Schiff ER, Vierling JM, Landis C, Fontana RJ, Yang R, et al. Daclatasvir, sofosbuvir, and ribavirin combination for HCV patients with advanced cirrhosis or posttransplant recurrence: phase 3 Ally-1 study. *J Hepatol* 2015;62, S261-S261.
- [158] European Medicines Agency. Assessment report Viekirax; 2015.
- [159] Zeuzem S, Hezode C, Bronowicki JP, Loustaud-Ratti V, Gea F, Buti M, et al. Daclatasvir plus simeprevir with or without ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C virus genotype 1 infection. *J Hepatol* 2016;64:292-300.