

Diplomarbeit

**Outcome nach Anti-HCV Therapie mit
Direct-Acting Antivirals (DAAs)**

eingereicht von

Andreas Straßmayr

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr med univ)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin
Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie**

unter der Anleitung von

Univ Prof Dr Rudolf Stauber

Graz, 26.03.2018

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 26.03.2018

Straßmayr Andreas eh

Danksagungen

Herzlichen Dank möchte ich meinem Betreuer Univ Prof Dr Rudolf Stauber aussprechen, der mir im Rahmen der Diplomarbeit die Möglichkeit gab an diesem Thema zu arbeiten und mir mit Rat und Tat zur Seite stand.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern, die mir das Studium an der Medizinischen Universität Graz ermöglicht haben.

Zusammenfassung

Hintergrund: Im Jahr 2014 verbesserte die Einführung der Direct Acting antivirals (DAAs) die Heilungsraten der Hepatitis-C-Therapie grundlegend. Manche Arbeiten kamen allerdings zu dem Schluss, die DAA-Therapie erhöhe das Risiko eines hepatocellulären Karzinoms (HCC). Aus diesem Grund verglichen wir die HCC-Inzidenzen nach DAA-Therapie mit jenen nach Peginterferon-basierter (Peg-Inf) Therapie am Universitätsklinikum Graz.

Zusätzlich haben frühere Arbeiten gezeigt, dass eine erfolgreiche Peginterferon-basierte Therapie eine Regression der Fibrose zufolge hat. Daher bestand ein weiteres Ziel dieser Arbeit darin, anhand der Messwerte des Fibroscans und anhand indirekter Fibroseparameter zu untersuchen, ob und wie sehr sich der Leberschaden nach erfolgreicher DAA-Therapie verringert.

Methoden: Die HCC-Inzidenz wurde bei 78 Patienten und Patientinnen mit DAA-Therapie und einer Leberfibrose METAVIR >F2 analysiert und mit den HCC-Inzidenzen von 31 Patienten und Patientinnen nach Peginterferon-basierter Therapie und METAVIR >F2 verglichen.

Die Regression des Leberschadens analysierten wir ein Jahr ($n = 112$) und drei Jahre ($n = 14$) nach erfolgreicher DAA-Therapie mit Hilfe der indirekten Fibroseparameter Fib4-Score (Fibrosis4-Score) und APRI (AST/Thrombozyten-Ratio-Index).

Anhand des Fibroscans beurteilten wir die Veränderung des Leberschadens ein Jahr ($n = 32$) und zwei Jahre ($n = 7$) nach erfolgreicher DAA-Therapie.

Ergebnisse: Bei 3/78 DAA-Patienten und -Patientinnen und bei 3/31 Peg-Inf-Patienten und -Patientinnen traten HCCs auf. Dem zweiseitigen Fishers exakter Test ($p = 0,349$) zufolge ergibt sich ein nicht signifikanter Zusammenhang zwischen dem Therapieregime und der HCC-Inzidenz.

Anhand der indirekten Fibroseparameter zeigt die Fibrose ein (Fib4-Score p -Wert $< 0,001$, APRI p -Wert $< 0,001$) und drei Jahre (Fib4-Score p -Wert = $0,03$; APRI p -Wert $0,006$) nach Therapieende eine signifikante Reduktion bei erreichter SVR12.

Die Fibroscanmesswerte zeigen im ersten Jahr eine signifikante Reduktion der Fibrose (p -Wert $< 0,001$) und nach dem zweiten Jahr eine borderline Signifikanz ($p^* = 0,066$).

Diskussion: Die HCC-Inzidenz bei Patienten und Patientinnen nach DAA-Therapie verglichen mit jenen nach Peginterferon-basierter Therapie zeigt keinen statistischen signifikanten Unterschied. Die Differenzen der HCC-Raten sind möglicherweise durch die Tatsache begründet, dass die DAA-Therapie auch bei Patienten und Patientinnen mit schwererem Leberschaden eingesetzt werden kann.

Die Regression der Fibrose und Zirrhose nach erfolgreicher DAA-Therapie zeigt sich vor allem im ersten Jahr. Im weiteren Verlauf reduziert sich der Effekt. Arbeiten anderer Autoren zeigen ähnliche Ergebnisse.

Als mögliche Erklärung für die Reduktion der Fibroscanwerte wird in verschiedenen Arbeiten der Rückgang der Entzündung nach erreichtem sustained virologic response nach 12 Wochen (SVR12, anhaltendes virologisches Ansprechen) angegeben. Bezüglich Fib4-Score und APRI bleibt festzuhalten, dass diese Parameter auf Alanin-Aminotransferase (ALT) und Aspartat-Aminotransferase (AST) basieren, also auf Laborwerten, die einen direkten Leberzellschaden abbilden.

Abstract

Background: Since the introduction of DAAs in 2014 the therapy of Hepatitis C changed dramatically. Due to the new therapy patients reached SVR12 in over 90%. Reaching SVR was always associated with a reduction of the incidence of HCCs. But some authors reported a higher incidence of HCCs after DAA therapy compared with the previous peginterferon based therapy. Our goal was to find out whether this was reproducible or not.

In a second step we wanted to quantify the regression of fibrosis and cirrhosis by means of Fibroscan and indirect parameters such as Fib4-Score and APRI.

Methods: We compared the HCC incidence of 78 DAA treated patients with a fibrosis of METAVIR >F2 with 31 peginterferon treated patients with a fibrosis of METAVIR >F2.

The regression of fibrosis was analyzed in 14 patients over three years and 112 patients over one year. The Fibroscan data was analyzed in 32 cases for one year follow-up and 7 cases for 2 years follow-up. All analyzed patients reached SVR12.

Results: 3/78 DAA-patients developed a HCC and 3/31 Peginterferon patients did so. According to the fishers exact test ($p = 0,349$) there is no statistically significant relation between the therapy and the HCC rate.

The major effect of the regression of fibrosis was achieved during the first year after the therapy in patients reaching SVR12. Fib4-Score, APRI and Fibroscan showed similar trends (Fib4-Score $p < 0,001$; APRI $p < 0,001$, Fibroscan $p < 0,001$). In the following years there wasn't a similar effect.

Discussion: We could not show any difference in HCC rates between DAA based therapy and Peginterferon based therapy.

Most of the regression of fibrosis happened in the first year after therapy. In the following years we could not show any significant effect in the reduction of liver fibrosis.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	vi
Glossar und Abkürzungsverzeichnis	viii
Abbildungsverzeichnis	xi
Box Plot Verzeichnis.....	xi
Tabellenverzeichnis	xii
1. Einleitung	1
1.1. Allgemeines	1
1.1.1. Überblick über Hepatitis C - Epidemiologie.....	1
1.1.2. Das Hepatitis C Virus	1
1.1.3. Diagnosestellung	3
1.2. Fibrose und Zirrhose.....	4
1.2.1. Fibrogenese	4
1.2.2. Folgen	6
1.2.3. Regression	8
1.2.4. Fibrosemessung.....	9
1.3. Therapie der Hepatitis C.....	16
1.3.1. Die Zeit vor den DAAs.....	16
1.3.2. Neue Möglichkeiten mit der Entwicklung der DAAs	18
1.3.3. Resistenzen.....	25
2. Material und Methoden	28
2.1. Studiendesign	28
2.2. Auswahl der Patienten und Patientinnen	28
2.2.1. Einschlusskriterien.....	28
2.2.2. Ausschlusskriterien.....	28
2.3. Literatursuche und Primärliteratur	29
2.4. Zielgrößen.....	29
2.4.1. Hauptzielgrößen	29
2.5. Erhobene Daten und Datenerfassung	29
2.6. Statistik	32
2.7. Ethikvotum	32
3. Ergebnisse	33
3.1. Patientenkollektiv: Peginterferon-HCC-Kohorte.....	33
3.2. Patientenkollektiv: DAA-HCC-Kohorte	34
3.2.1. Fisher's exact Test der HCC-Inzidenzen in den Kohorten.....	37

3.3.	Patientenkollektiv: DAA-Fibrose-Regression.....	37
3.3.1.	Indirekte Fibroseparameter im Verlauf.....	37
3.3.2.	Fibroscan	46
4.	Diskussion.....	50
4.1.	HCC-Rate nach DAA-Therapie und Peg-Inf-Therapie	50
4.2.	Fibroseregression nach DAA-Therapie	52
4.2.1.	Indirekte Fibroseparameter: APRI, Fib4-Score	52
4.2.2.	Fibroscan	53
4.3.	Limitationen	55
5.	Literatur.....	57

Glossar und Abkürzungsverzeichnis

+(ss)-RNA-Strand	positive Einzelstrang-RNA
AAR	Aspartat-Amino-Transferase/Alanin-Amino-Transferase-Ratio
AFP	Alpha-Feto-Protein
ALT	Alanin-Amino-Transferase
APRI	Aspartat-Amino-Transferase to platelet ratio index (engl.)
ASH	alcoholic steatosis hepatitis (engl.)
AST	Aspartat-Amino-Transferase
BL	Baseline (engl.)
BOC	Boceprevir
CAP	Controlled Attenuation Parameter (engl.)
CD8+	Cluster of Differentiation positive Zellen
C-Protein	Core-Protein (engl.)
DAA	direct acting antivirals (engl.)
DCV	Daclatasvir
DSV	Dasabuvir
E1	Envelop Protein 1 (engl.)
E2	Envelop Protein 2 (engl.)
EASL	European Association for the Study of the Liver (engl.)
EBR	Elbasvir
ECM	Extrazellulärmatrix
ELF	Enhanced liver Fibrosis (engl.)
EOT	end of treatment (engl.)
E-Protein	Envelop-Proteine
Fib-4	Fibrose-4 – Test
FS	Fibroscan (engl.)
FU1	Follow-up 1 Jahr (engl.)
FU12	Follow-up 12 Wochen nach Therapieende
FU2	Follow-up 2 Jahre (engl.)
FU24	Follow-up 24 Wochen nach Therapieende

FU3	Follow-up 3 Jahre (engl.)
GI-Trakt	Gastrointestinaltrakt
GT	Genotyp
GZR	Grazoprevir
HCC	hepatozelluläres Carzinom
HCV	Hepatitis C Virus
HIV	Humane Immundefizienz-Virus
HS	Hyaluronsäure
ID	Identifikator
IL12	Interleukin 12
IL6	Interleukin 6
INF	Interferon
INF- α	Interferon-alpha
INR	International Normalized Ratio (engl.)
JNK	c-Jun N-terminale Kinase
kPa	Kilopascal
KS-Test	Kolmogorov-Smirnov-Test
KW	Kennwert
LDV	Ledipasvir
LTX	Lebertransplantation
MFB	Myofibroblasten, aktivierte Sternzellen
MHC	Major Histocompatibility Complex
miR	mirco RNA (engl.)
MMP	Matrixmetalloproteinasen
MRI	magnet resonance imaging (engl.)
mRNA	messenger RNA (engl.)
MW	Mittelwert
NASH	non-alcoholic steatosis hepatitis (engl.)
NS	nicht-Struktur-Protein
NS3/4A-PI	NS 3/4A-Protease Inhibitor
NS5B-nNPI	NS5B-non-Nukleosid-Polymerase Inhibitor

NS5B-NPI	NS5B-Nukleosid-Polymerase Inhibitor
NS-Protein	Nicht-Struktur-Protein
NTX	Nierentransplantation
OBV	Ombitasvir
ÖGGH	Österreichische Gesellschaft für Gastroenterologie und Hepatologie
Peg-InF	Peginterferon
P-III-NP	Prokollagen Typ III N-terminales Peptid
PTV	Paritaprevir
PZ	Prothrombinzeit
RAV	resistance associated variants (engl.)
RBV	Ribavirin
RNA	ribonukleic acid (engl.)
RNAse	RNA schneidendes Enzym
ROS	Reactive Oxygen Species (engl.)
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SMV	Simeprevir
SOF	Sofosbuvir
SVR	sustained viral response (engl.)
SVR-	sustained viral response nicht erreicht (engl.)
SVR+	sustained viral response erreicht (engl.)
SVR12	sustained virologic response nach 12 Wochen (engl.)
SVR24	sustained virologic response nach 24 Wochen (engl.)
TGF- β	Transforming Growth Factor β (engl.)
TIMP	tissue inhibitors of metalloproteinases (engl.)
TVR	Telaprevir
TZ	Thrombozytenzahl
ULN	upper limit of normal (engl.)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (engl.)
VEL	Velpatasvir
VL	Viruslast
VOX	Voxilaprevir

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Schema eines Hepatitis C Virus (65)	2
Abbildung 2: Diagnoseweg bei Hepatitis C (2)	3
Abbildung 3: Entwicklung und Regression der Zirrhose (13)	7
Abbildung 4: Steifigkeitsgrenzwerte (28)	13
Abbildung 5: Schrittweise Entstehung eines HCCs (33)	15
Abbildung 6: Meilensteine der HCV-Therapie (39)	18
Abbildung 7: Ansatzpunkte der DAAs; modifiziert nach (38)	20
Abbildung 8: Antivirale Medikamente zur Behandlung der Hepatitis C (40)	21
Abbildung 9: Zugelassene Therapieregime bei Hepatitis C (40)	22
Abbildung 10: Auswahl der Patienten und Patientinnen der DAA-HCC-Kohorte	35
Abbildung 11: Veränderung der FS-Messwerte (kPa) über 2 Jahre bei SVR12+	49

Box Plot Verzeichnis

Box Plot 1: Fib4-Score und APRI über 3 Jahre (n = 19)	38
Box Plot 2: Thrombozyten über 3 Jahre (n = 19)	38
Box Plot 3: Fib4-Score und APRI über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)	41
Box Plot 4: Thrombozyten über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)	41
Box Plot 5: Fib4-Score und APRI über 1 Jahre (n = 133)	44
Box Plot 6: Thrombozyten über 1 Jahr (n = 133)	44
Box Plot 7: Fib4-Score und APRI über 1 Jahr bei SVR12+ (n = 112)	45
Box Plot 8: Thrombozytenanzahl über 1 Jahr bei SVR12+ (n = 112)	45
Box Plot 9: FS-Werte in kPa über 2 Jahre mit SVR12+ (n = 7)	47
Box Plot 10: FS-Werte in kPa bei SVR12+ (n = 32)	48

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ishak- und MEATVIR-Score mit histologischer Beschreibung	10
Tabelle 2: Kennwerte der Peginterferon-HCC-Kohorte (n=31)	34
Tabelle 3: Kennwerte DAA-HCC-Kohorte (n=78)	36
Tabelle 4: Indirekte Fibroseparameter über 3 Jahre (n = 19)	38
Tabelle 5: p*- Werte der Fib4-Scores über 3 Jahre (n = 19).....	39
Tabelle 6: p*-Werte des APRIs über 3 Jahre (n = 19)	39
Tabelle 7: p*-Werte der Thrombozyten über 3 Jahre (n = 19)	40
Tabelle 8: Kennwerte 3 Jahre, SVR12+	40
Tabelle 9: Indirekte Fibroseparameter über 3 Jahre bei erreichter SVR12+ (n = 14) 41	
Tabelle 10: p*- Werte der Fib4-Scores über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14).....	42
Tabelle 11: p*- Werte der APRIs über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14).....	42
Tabelle 12: p*-Werte der Thrombozytenanzahl über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)..	43
Tabelle 13: Indirekte Fibrosemarker über 1 Jahr (n = 133).....	43
Tabelle 14: Kennwerte 1 Jahr, SVR12+ (n=112)	45
Tabelle 15: Fibroseparameter und TZ über 1 Jahr bei SVR12+ (n = 112).....	45
Tabelle 16: Kennwerte Fibroscan 2 Jahre mit SVR12+ (n=7).....	46
Tabelle 17: Fibroscan-Messwerte im 2-Jahresverlauf mit SVR12+ (n = 7).....	46
Tabelle 18: p*-Werte der Fibroscans mit SVR12+ (n = 7).....	47
Tabelle 20: Kennwerte Fibroscan 1 Jahr mit SVR12+ (n=32).....	48
Tabelle 21: Fibroscan-Messwerte im Einjahresverlauf mit SVR12+ (n = 32).....	48

1. Einleitung

1.1. Allgemeines

1.1.1. Überblick über Hepatitis C - Epidemiologie

Ein Großteil der Infektionen mit dem Hepatitis-C Virus (HCV) erfolgt parenteral. Vor allem der Gebrauch verunreinigter Spritzen bei intravenösem Drogenkonsum (needle sharing) ist hier zu nennen. Untergeordnete Rollen spielen der Kontakt mit anderen Körperflüssigkeiten (Tränen, Speichel, Sperma), vertikale und sexuelle Übertragung (1).

Die Österreichische Gesellschaft für Gastroenterologie und Hepatologie (ÖGGH) empfiehlt in ihrer S3-Leitlinie zur Diagnostik von Hepatitis C unter anderem Transplantatempfängern, Patienten mit erhöhten Transaminasewerten und/oder Zeichen einer akuten oder chronischen Lebererkrankung, sowie Menschen mit ehemaligem oder aktuellem intravenösem Drogenkonsum einer HCV-Diagnostik zuzuführen (2).

Die Symptome einer HCV-Infektion sind bei zirka dreiviertel der Erkrankten grippeähnlich und daher unspezifisch. In etwa 25% fällt die Leberentzündung durch erhöhte Transaminasewerte auf. Bis zu 85% der Verläufe sind chronisch (> 6 Monate) mit rezidivierenden Oberbauchbeschwerden, Übelkeit, Juckreiz und anderen uncharakteristischen Symptomen (1).

Die chronische Hepatitis C zählt in den westlichen Ländern zu den wichtigsten Ursachen für die Entwicklung einer Fibrose (1,3). In 2 – 35% der Fälle entwickelt sich im Laufe von 20-25 Jahren das Stadium einer Leberzirrhose. Die zirrhotische Veränderung der Leber bringt ein jährliches Risiko von 2-5% für die Entstehung eines hepatozellulären Carzinoms (HCCs) mit sich. Mit anderen Worten, nach 10 Jahren besteht ein 20%iges Risiko an einem HCC zu erkranken (1).

1.1.2. Das Hepatitis C Virus

Bereits 1975 wurde bei Transfusionsempfängern eine Leberentzündung beschrieben, die nicht durch die bereits bekannten Typ A bzw Typ B Hepatitis-Viren ausgelöst wurde (4). Laut einem Kommentar von Farci (5) bezeichnete eine Gruppe um Choo et al den früher unter dem Namen Non-A-Non-B-Hepatitis-Virus bekannten Erregern, 1989 erstmals als „Hepatitis C Virus“.

Im Jahr 2014 wurden schätzungsweise 80 (64 – 103) Millionen Infizierte weltweit angegeben. 80% der Infektionen entfallen auf 31 Länder und alleine China, Pakistan, Nigeria, Ägypten, Indien, und Russland sind für 30% der Fälle verantwortlich. Weltweit kommt der HCV-Genotyp 1 (GT1) mit 46% am häufigsten vor, gefolgt von GT3 (22%), GT2 (13%), GT4 (13%), GT6 (2%) und GT5 (1%). Mit 22% aller Fälle ist der Subtyp G1b der weltweit häufigste und alleine in Europa für 50% der Fälle verantwortlich (6).

Das HCV zählt zur Familie der Flaviviridae. Die Außenhülle bildet eine Lipiddoppelschicht, in der Envelope-Proteine (E1 und E2) eingebaut sind. Diese Außenschicht umhüllt das Nukleokapsid, das aus Core-Proteinen (C-Proteine) aufgebaut ist und wiederum das Genom umhüllt. Das Genom liegt in Form eines (+)ss-RNA-Stranges (positive-single-strand-ribonucleic acid) vor. Dieser Strang kodiert unter anderem für Envelope-Proteine (E-Proteine), C-Proteine und Nicht-Struktur-Proteine (NS-Proteine) (7).

Nach dem Kontakt mit beispielsweise einer kontaminierten Nadel zirkulieren die Viren im Blutkreislauf. In der Leber heftet sich das Virus mit Hilfe von E1 und E2 an Oberflächenmoleküle der Zellmembran der Hepatozyten. Die Aufnahme in die Leberzelle findet durch rezeptorvermittelte Endozytose statt (8). Nach dem Eintritt in die menschliche Zelle dient der freigesetzte (+)RNA-Strang als Vorlage für die Bildung eines Polyproteinvorläufers. Durch weitere Prozessierung entstehen die funktionsfähigen Virusproteine. Daraufhin bilden die eben entstandenen NS3-, NS4A-, NS4B-, NS5A-, NS5B-Proteine den viralen Replikationskomplex. Dieser Komplex bildet eine negative Matrize für die Synthetisierung vieler Plusstränge, der späteren Virusgenome. Schließlich lagern sich diese mit den Core-Proteinen zu Kapsiden zusammen. Die Kapside werden von mit E-Proteinen besetzten Lipidhüllen umschlossen und anschließend durch Exozytose freigesetzt (7,9).

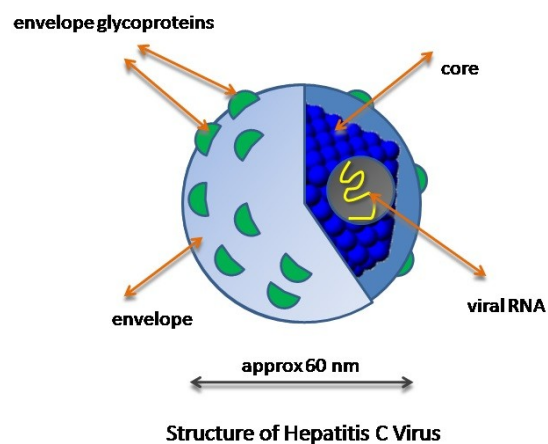


Abbildung 1 Schema eines Hepatitis C Virus (65)

1.1.3. Diagnosestellung

Liefern Anamnese, klinische Untersuchungen oder Blutbefunde einen begründeten Anfangsverdacht, so ist der nächste diagnostische Schritt, 7-8 Wochen nach der Infektion, ein Nachweis von Virusproteinen mittels Immunoassay. Positive Ergebnisse sollen mit Nukleinsäureamplifikation oder Immunoblot überprüft werden. Bei Verdacht auf eine akute HCV-Infektion ist der Immunoassay nicht aussagekräftig, da sich zu Beginn der Infektion noch keine Antikörper im Körper gebildet haben (serodiagnostisches Fenster). Daher ist in diesem Fall die Empfehlung sofort eine HCV-RNA-Bestimmung durchzuführen (Abbildung 2: Diagnoseweg bei Hepatitis C (2)). Besondere Vorsicht ist bei HIV-Infizierten oder Immunsupprimierten geboten, da bei diesen Erkrankungen die Anti-HCV-Antikörper fehlen können (2).

Andere Infektionen, wie Hepatitis A oder B oder eine Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV) müssen ausgeschlossen werden. Das Alpha-Feto-Protein (AFP) ist bei erhöhtem HCC-Risiko und/oder bei einem verdächtigen Leberherd zu bestimmen (1,2).

Zur Beurteilung der Entzündungsaktivität und des Fibrosegrades ist eine Leberbiopsie angezeigt. Der fibrotische Umbau kann allerdings, wie weiter unten beschrieben, auch durch nicht-invasive Verfahren beurteilt werden (1).

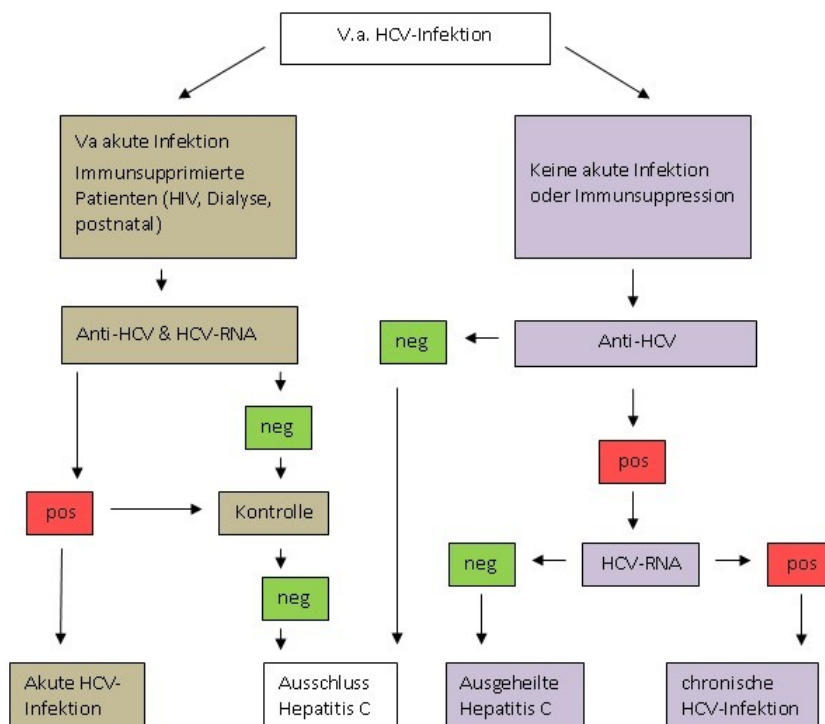


Abbildung 2: Diagnoseweg bei Hepatitis C (2)

1.2. Fibrose und Zirrhose

Die Schädigung der Leber verläuft trotz einer Vielzahl verschiedener Ätiologien wie Alkohol (ASH), metabolischem Syndrom und Adipositas (NASH), Medikamenten oder Infektionen beispielsweise mit dem Hepatitis C - Virus ähnlich. Die Leber kann sich von einem schweren Schaden gut regenerieren (10), allerdings steht der entstandene Schaden in Beziehung zu Schwere und Dauer des schädlichen Einflusses (11).

1.2.1. Fibrogenese

In der Leber werden Zellen und Gewebe kontinuierlich auf-, ab- und umgebaut. Verschiedene Faktoren und Prozesse steuern dieses dynamische Gleichgewicht. Ist das Gleichgewicht gestört, sammelt sich kollagenreiche Extrazellulärmatrix (ECM) im Disse-Raum an. Die Vermehrung des kollagen- und faserreichen Materials ist mit einer Zerstörung der Mikrovilli und der Fenster in den Leberkapillaren und somit mit einer Funktionseinschränkung der Leber vergesellschaftet. Es kommt zu einem fibrotischen oder zirrhotischen Umbau des Leberparenchyms.

Der ständige Umbau bedeutet aber gleichzeitig, dass die Bindegewebsvermehrung und somit Funktionseinschränkung der Leber zumindest teilweise reversibel sind.

Nach der Infektion mit dem HCV entsteht eine Entzündung der Leber, die für ein Absterben der Leberzellen verantwortlich ist. Durch den Zellerfall werden Mediatorstoffe freigesetzt. Diese locken zum einen Zellen (beispielsweise Fibrozyten, Lymphozyten, Makrophagen uvm) in das zerstörte Areal, zum anderen kommt es zu einer entzündungsbedingten Aktivierung der ruhenden Sternzellen. Diese differenzieren sich daraufhin zu Myofibroblasten (MFB oder auch aktivierte Sternzellen) und beginnen Bestandteile der Extrazellulärmatrix, aber auch Botenstoffe wie Chemokine, Zytokine und Wachstumsfaktoren, zu bilden. Diese Botenstoffe wirken sowohl autokrin (auf die produzierende Zelle selbst) als auch parakrin (auf die Zellen in der Umgebung). Die wichtigsten Effekte dieser freigesetzten Mediatorstoffe sind proangiogenetisch (zB Vascular endothelial growth factor, VEGF), proinflammatorisch (zB Interleukin-6, IL-6) und profibrogenetisch (zB transforming growth factor β , TGF- β).

Durch die unkoordinierte Angiogenese bilden sich viele kleine Sinusoide und Shunts. Viele der neuen Gefäße enden blind und münden nicht in die vorgesehenen Abflusswege. Diese Störungen im Blutfluss und die Tatsache, dass die Leberkapillaren

von bindegewebeproduzierenden MFBs umgeben werden, steigern die Steifigkeit der Leber. Beides führt zu erhöhtem portalem Druck und Senkung der Durchblutung der Leber und somit der Sauerstoffversorgung im Gewebe. Diese Hypoxie fördert schlussendlich wieder die Angiogenese und die Fibrogenese – ein circulus vitiosus entsteht.

Durch Zytokine angelockten Zellen, wie eingewanderte Fibrozyten, portale Fibroblasten und Mesenchymzellen, die sich durch epithelial-mesenchymale Transition aus Epithelzellen gebildet haben, steigern den profibrogenetischen Effekt.

Begünstigt werden diese Prozesse durch die Freisetzung zahlreicher Mediatoren von Endothelzellen, Lymphozyten und Makrophagen. Beispielsweise wird durch den Mediator TGF- β die Entstehung von MFBs aus Sternzellen gefördert, die Matrixexpression stark gesteigert und der Abbau der Matrix durch die Matrixmetalloproteinasen (MMP) gehemmt. Diese MMPs und ihre Inhibitoren (TIMPs) können für die direkten Fibrosetests verwendet werden (siehe unten).

Schlussendlich führen viele der Vorgänge zu einer Aktivierung ruhender Sternzellen und zur generellen Steigerung der Bildung von kollagener Matrix. Dieser gemeinsame Endweg ist einer der wichtigsten Ursachen für die Schädigung und Funktionseinschränkung der Leber.

Zusammenfassend kommt es durch die Entzündung der Leber zu einer Aktivierung der ruhenden Sternzellen und Zellmigration in die Leber. Folglich kommt es dadurch zu einer Vermehrung von Gefäßen und kollagenreicher Extrazellulärmatrix, und damit zu einer Aufhebung der regelrechten Architektur und zur Bildung von portaler Fibrose bis hin zu einer Bildung von Septen. Diese veränderte Struktur des Organs und die entzündungsbedingt verminderte Anzahl an funktionsfähigen Hepatozyten stören die physiologischen Aufgaben der Leber (Syntheseprozesse, Ab- und Umbau von Giftstoffen und Regulierung verschiedener Stoffwechselfvorgänge, uvm). Eine Leberfibrose zeichnet sich also durch eine Vermehrung des kollagenen Bindegewebes aus, die die Läppchenstruktur zwar stört aber nicht zerstört.

Wird dieser Umbau nicht kompensiert bzw gestoppt, kommt es in weiterer Folge zu einer Organverhärtung und einer narbigen Schrumpfung der Leber. Es bilden sich Regeneratknoten, die als typische, höckerige Oberfläche der zirrhotischen Leber am Präparat sichtbar werden. Dieser Endzustand der Leberfibrose wird als Leberzirrhose bezeichnet und gilt als Präkanzerose (10,12,13).

1.2.2. Folgen

Die Folgen eines Leberschadens lassen sich vereinfacht in drei Bereiche einteilen:

- a. Portaler Hypertonus bzw Störung des Blutflusses und der Blutverteilung
- b. Störung der Syntheseleistung
- c. Störung der Abbauleistungen

Ad a)

Der portale Hypertonus entsteht durch den erhöhten Widerstand, den die fibrosierte Leber dem aus dem Gastrointestinal (GI)-Trakt abfließenden Blut entgegensetzt. Dadurch staut sich das Blut in der Pfortader. Es kommt zum sogenannten Pooling der Thrombozyten in der Milz und zur Zerstörung von Blutplättchen. In der Folge vergrößert sich das Organ (Splenomegalie). Die verminderte Anzahl an funktionsfähigen Thrombozyten beeinträchtigt die primäre Hämostase.

Zusätzlich begünstigt die Stase des Blutflusses die Bildung einer Pfortaderthrombose (Abscheidungsthromben).

Aufgrund des gestörten Abflusses bahnt sich das Blut Umgehungswege um die Leber. Diese führen vorwiegend durch die Vv. oesophageae oder seltener durch die Vv. paraumbilicales (14). Diese Alternativen sind für die anfallende Blutmenge nicht ausgelegt und dilatieren durch die dauernde Mehrbelastung. Die Folge sind Oesophagusvarizen mit der Gefahr einer Ruptur bzw Bildung eines sogenannten Caput medusae.

Zusätzlich führt der erhöhte Druck in der Pfortader (portaler Hypertonus) zum Abpressen von Flüssigkeit in den Peritonealraum. Es bildet sich Ascites.

Ad b)

Durch die eingeschränkte Syntheseleistung der Leber wird die Produktion von Galle gestört. In der Folge ist die Aufnahme von Fetten und gleichzeitig auch die Aufnahme von fettlöslichen Vitaminen (A, D, E, K) gestört. Diese fehlen dann für wichtige Syntheseleistungen, beispielsweise für die Synthese der Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren II, VII, IX und X (vergleiche Wirkung von Coumarinen).

Weiters ist auch die Synthese von Albumin gestört und der onkotische Druck im Blut sinkt. Zusammen mit dem portalen Hypertonus führt das zur Bildung von Ascites. Dieser kann zu Gewichtszunahme, Atemproblemen oder zu einer spontan bakteriellen Peritonitis führen.

Ad c)

Die verminderte Fähigkeit Abfallstoffe zu entsorgen zeigt sich am eindrucklichsten am Beispiel Bilirubin. Durch die Leberfunktionsstörung (biochemische Störung und Architekturstörung) können sowohl konjugiertes, als auch unkonjugiertes Bilirubin ansteigen und zu einem Ikterus führen.

Auch Abfallstoffe wie Ammoniak, Mercaptane, Fettsäuren oder Phenolderivate werden zum einen von der geschädigten Leber nicht mehr adäquat verarbeitet, andererseits gelangen diese Stoffe durch natürliche (Vv. oesophageae, Vv. paraumbilicales) oder artifizielle Shunts (TIPS) an der Leber vorbei in den Blutkreislauf. Diese Stoffe schädigen dann das Gehirn und führen zu einer Leistungsminderung des Patienten, eine hepatische Encephalopathie ist entstanden (11).

Diese Beschreibung soll nur einen Überblick über die vielfältigen Einflüsse geben, die eine weit fortgeschrittene Leberschädigung mit sich bringt. Es wäre falsch anzunehmen, dass eine Leberzirrhose nur die Leber betrifft, vielmehr handelt es sich um eine schwere systemische Erkrankung.

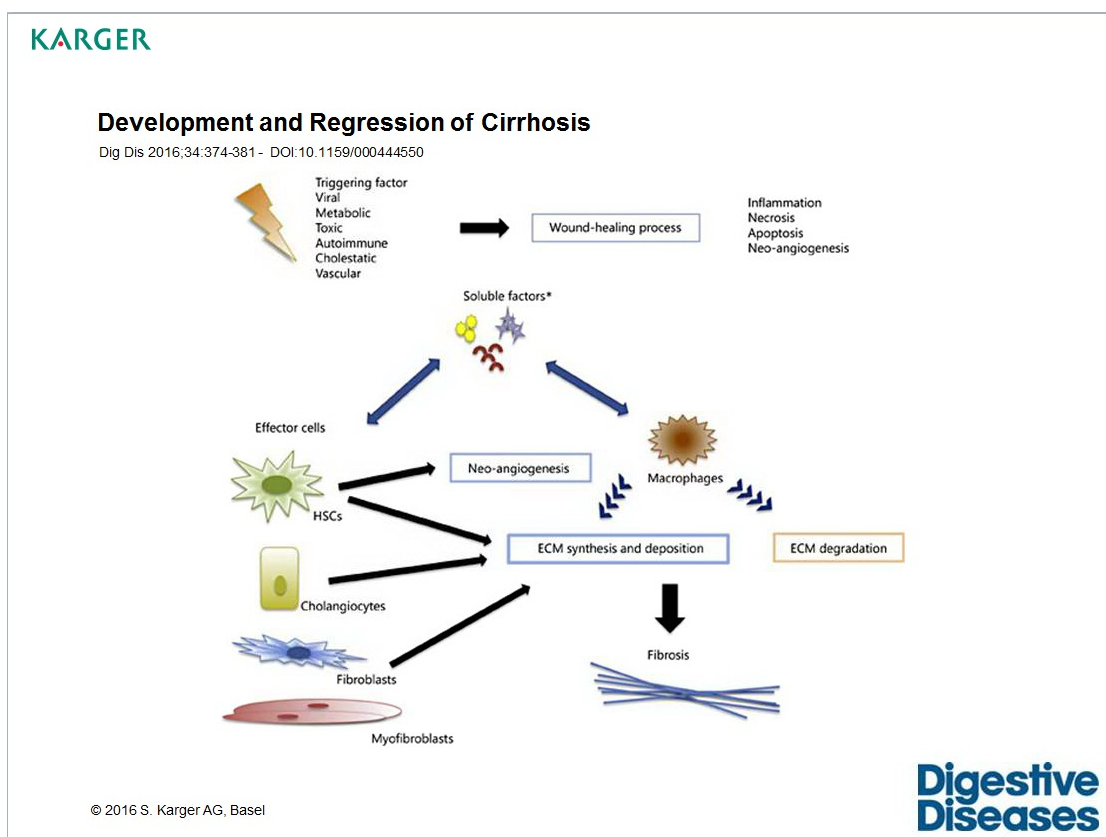


Abbildung 3: Entwicklung und Regression der Zirrhose (13)

1.2.3. Regression

Ausschlaggebend für die Veränderung (Steigerung oder Regression) der Leberfibrose sind vor allem die Aktivität der Sternzellen und das Gleichgewicht zwischen Matrix-Metalloproteinasen und den Matrix-Metalloproteinasen-Tissue-Inhibitoren. Wie oben beschrieben steigert eine Entzündung durch verschiedene Faktoren die TIMP-Expression. Dadurch werden die MMPs gehemmt und die Fibrose kann fortschreiten. In-vivo- und in-vitro-Modelle haben gezeigt, dass die Zahl aktivierter Sternzellen nach Abheilung einer Entzündung sowohl durch Apoptose, als auch durch Inaktivierung sinkt. Aktivierte Sternzellen steigern ihre MMP-Produktion während ihrer Apoptose. Zudem konnten Leberfibrose-Modelle zeigen, dass eine sinkende Anzahl von aktivierten Sternzellen mit einer dramatischen Reduktion der TIMP-Konzentration und einer Steigerung der MMP-Aktivität einhergeht.

Insgesamt wird durch die Reduktion der Entzündung die TIMP-Aktivität gesenkt und dadurch die MMP-Aktivität gesteigert und gleichzeitig weniger Sternzellen in aktivierte MBFs umgewandelt werden. Es wird also die Produktion von kollagenen Fasern gebremst und gleichzeitig deren Abbau gesteigert. Diese Umstände führen zu einer Abnahme der kollagenhaltigen ECM und somit zu einer Reduktion der Fibrose (10,12,13).

Die Möglichkeit Bindegewebe in der Leber wieder abzubauen hängt wesentlich von der Art des Bindegewebes ab. Nach erreichter SVR kann frisches Narbengewebe gut abgebaut werden, während die Möglichkeit der Rückbildung manifesten zirrhotischen Gewebes, bezweifelt wird.

Frisches Narbengewebe mit diffusem Entzündungsinfiltrat und Reticulinfasern kann völlig abgebaut werden.

Lange bestehendes zirrhotisches Bindegewebe mit Querverbindung zwischen den Kollagenfasern, Elastin und verminderter MMP-Aktivität hingegen kann schwer bis gar nicht abgebaut werden. Vielmehr hat sich gezeigt, dass die MBFs nach lange bestehender Zirrhose ihre Fähigkeit zur Apoptose verlieren und eine kritische Masse an profibrogenetischen Zellen bleibt (13).

Durch die aktuelle DAA-Therapie erreichen nahezu 100% der HCV-Patienten und -Patientinnen SVR. Diese Tatsache schützt die Patienten allerdings nicht vor der Gefahr ein HCC zu entwickeln oder vor einer Dekompensation der Lebererkrankung.

Das Risiko solcher Komplikationen scheint nur bei Patienten ohne klinische Zeichen eines portalen Hypertonus zu sinken. Nach SVR sinkt zwar der Fibrosegrad der Leber, allerdings bleiben andere Prozesse, wie die duktale Proliferation, Architekturstörungen oder unkontrolliert gewachsene Kapillaren möglicherweise weiter bestehen. Ab einem gewissen Punkt ist der Leberschaden also nicht mehr voll reversibel, unabhängig davon, ob die Ursache (zB aktive Entzündung) noch vorhanden ist. Rein medizinisch ist es also außerordentlich wichtig die Entzündung so bald wie möglich zu behandeln und möglichst bald eine SVR zu erreichen. Selbstredend beeinflussen auch vorbestehende Leberschäden durch Alkohol, Medikamente oder metabolische Faktoren die Regenerationsmöglichkeit der Leber negativ (13).

1.2.4. Fibrosemessung

Um das Ausmaß des Leberschadens richtig einschätzen zu können, ist die Beurteilung des Fibrosegrades von außerordentlicher Wichtigkeit.

Bei einer HCV-Infektion kann die Veränderung der Fibrose Auskunft über Prognose und Therapieerfolg geben.

1.2.4.1. *Perkutane Leberbiopsie*

Aktuell ist die perkutane Leberbiopsie mit histologischer Befundung die Referenzmethode zur Beurteilung einer Fibrose bzw Zirrhose. Das gewonnene Material wird nach der Entnahme von einem Facharzt oder einer Fachärztin für Pathologie anhand eines Scoring-Systems beurteilt. Zurzeit gibt es noch kein Übereinkommen der Beurteilenden über die Verwendung eines einheitlichen Einteilungssystems. So kann die Probe entweder in einem 5-stufigen Schema, wie METAVIR-Score, oder in 7 Stufen, wie dem Ishak-Fibrosis-Score, eingeteilt werden. Nichtsdestotrotz zeigen die beiden genannten Scores eine gute Vergleichbarkeit (15).

Beschreibung	Ishak Score	METAVIR Score
Keine Fibrose	0	F0
Fibrose in einigen Portalfeldern ± kurze fibröse Septen	1	F1
Fibrose in vielen Portalfeldern ± fibröse Septen	2	
Fibrose in vielen Portalfeldern mit gelegentlicher portal-portaler Brückenbildung (P – P)	3	F2
Fibrose in vielen Portalfeldern mit deutlicher Brückenbildung (P – P und portal – central [P – C])	4	F3
Deutliche Brückenbildung (P – P und/oder P – C) mit gelegentlicher Knotenbildung (inkomplette Zirrhose)	5	F4
Zirrhose	6	

Tabelle 1: Ishak- und METAVIR-Score mit histologischer Beschreibung

bearbeitet durch Andreas Straßmayr unter Mithilfe von Prof R Stauber; Vorlage: (15)

Zusätzlich kommt bei einer histologischen Beurteilung die unterschiedlichen Erfahrungsstände der Ärzte und Ärztinnen zum Tragen (Interobserver Variation) (3).

Auch die Gewinnung der Proben kann Probleme verursachen. Die Leber ist ein großes Organ und die Fibrose, respektive die Zirrhose, muss nicht in jedem Bereich gleich stark ausgeprägt sein. Basierend auf den Arbeiten von Bedossa et al (16) und Colloredo et al (17) wurden Minimalanforderungen ($\geq 20\text{mm} \times 1,4\text{mm}$; bzw mindestens 11 Portalfelder) an die Materialmenge einer Biopsie bei Hepatitis C definiert.

Um den genannten Anforderungen aber auch möglichen Komplikationen wie Schmerzen, Blutungen, Peritonitis oder Pneumothorax Rechnung zu tragen, gibt es zahlreiche Bestrebungen den Grad der Fibrose nicht-invasiv, also mittels indirekter, direkter oder physikalischer Fibrosetests zu bestimmen.

1.2.4.2. Indirekte Fibrosetests

Bei Indirekten Fibrosetests werden durch Kombination standardmäßig erhobener Parameter, wie Aspartat-Amino-Transferase (AST), Alanin-Amino-Transferase (ALT), Thrombozytenzahl (TZ) und Alter der Patienten, verschiedene Werte berechnet und interpretiert. Im Gegensatz zu direkten Fibrosetests werden hier Parameter hergenommen, die den Zellzerfall bzw die Syntheseleistung der Leber widerspiegeln. Diese Tests haben den großen Vorteil, dass keine zusätzlichen Untersuchungen

oder invasive Eingriffe (etwa Biopsien) notwendig sind. Dadurch werden Kosten und Risiken gesenkt.

Beispielsweise wird der von Wai et al (18) 2003 entwickelte „**AST zu Thrombozyten-Ratio-Index**“ (AST to platelet ratio index, APRI) wie folgt ermittelt:

$$\text{APRI} = \frac{\frac{\text{AST in U/l}}{\text{AST ULN}}}{\frac{\text{TZ in G/l}}{\text{TZ ULN}}} \times 100.$$
 Als upper limit of normal (ULN) wird der jeweilige Maximalwert

des testenden Labors angegeben. Aufgrund der Division durch den Maximalwert (LKH Graz: ♂ 35 U/L; ♀ 30 U/L) werden unterschiedliche Absolutwerte in ein Vielfaches der Maximalwerte umgewandelt und somit vergleichbar gemacht. Als Grenzwert für den Ausschluss einer signifikanten Fibrose (entspricht METAVIR F2) wurde von den Entwicklern ein APRI $\leq 0,50$ und für die Bestätigung einer signifikanten Fibrose ein Wert $\geq 1,50$ definiert. Bezüglich Zirrhose wurden die Grenzwerte $\leq 1,00$ bzw. $> 2,00$ ausgewählt (18). In den Arbeiten von Lackner et al (19) und Cales et al (20) wurde der Zusammenhang zwischen APRI und Fibrose bzw. Zirrhose bestätigt.

Neben dem eben beschriebenen Verfahren kann auch mit dem **Fibrose-4**-Index eine Fibrose oder Zirrhose anhand einfach zu erhebender Laborwerte berechnet werden; berechnet wird er nach folgender Formel:
$$\text{Fib-4} = \frac{\text{Alter in Jahren} \times \text{AST in U/l}}{\text{TZ in G/l} \times \sqrt{\text{ALT in U/l}}}.$$

Mit einem Wert $< 1,45$ kann mit einem negative predictive value von 90% eine fortgeschrittene Fibrose (entspricht METAVIR F3) ausgeschlossen werden (Sensitivität 70%). Ergebnisse von $> 3,25$ bestätigen mit einem positive predictive value von 65% eine Fibrose (Sensitivität 97%) (21).

Somit stehen mit dem Fib-4-Score und dem APRI zwei verlässliche und einfach berechenbare Parameter für eine nichtinvasive Beurteilung einer Fibrose oder Zirrhose zur Verfügung.

Neben diesen beiden Werten sind noch zahlreiche andere indirekte Fibrosetests in Verwendung, mit denen aus einfach zu erhebenden Labor- und Messwerten der Grad der Fibrose bzw. Zirrhose bestimmt werden kann, beispielsweise die Aspartat-Amino-Transferase/Alanin-Amino-Transferase-Ratio (AAR), der Forns-Index oder der Fibrosure-Test. Eine ausführliche Beschreibung dieser Verfahren würde den Rahmen dieser Arbeit übersteigen.

1.2.4.3. *Direkte Fibrosetests*

Im Gegensatz zu den indirekten Fibrosetests werden bei den direkten Fibrosetests Bestandteile der Extrazellulärmatrix als Marker für die Balance zwischen Fibrogenese und Fibrolyse beurteilt. Verwendung finden neben Hyaluronsäure (HS), die bei Patienten mit Leberfibrose im Serum erhöht ist, auch Prokollagen Typ III N-terminales Peptid (P-III-NP), eine Vorstufe des Kollagens. Weiters werden Matrixmetalloproteinasen, Enzyme, die Bestandteile der ECM abbauen, ihre Inhibitoren und YKL-40, ein Protein, das vermutlich ebenfalls eine Rolle im Abbau der ECM spielt, als Indikatoren für die Fibrosierung der Leber verwendet.

Die Verwendbarkeit dieser direkten Fibrosetests wird allerdings durch Störeinflüsse, wie Niereninsuffizienz oder systemische Entzündungen, beeinträchtigt, da die Indikatoren nicht 100%ig spezifisch sind, also auch durch andere Erkrankungen erhöht sein können (3). Folglich variiert die Verlässlichkeit dieser Parameter. Während die Aussagekraft des HS-Wertes in einer Arbeit von McHutchison et al (22) bestätigt werden konnte, ist die Datenlage für P-III-NP, MMPs, TIMPs und YKL-40 nicht so eindeutig (23-25).

Die genannten Biomarker werden auch in verschiedenen Fibrosepanels mit indirekten Fibrosetests kombiniert, namentlich Fibrospect II, Enhanced liver fibrosis (ELF), Hepascore und Fibrometer (3).

1.2.4.4. *Physikalische Methoden und Bildgebung*

Neben den Methoden der Fibroseerkennung, die auf Laborparametern basieren, gibt es die Möglichkeit die Veränderungen der Lebersteifigkeit mittels physikalischer und bildgebender Systeme zu objektivieren.

Mit dem **Fibroscan™** (FS) kann die Steifigkeit des Lebergewebes transcutan gemessen werden. Diese Technik verwendet niedrigfrequente Vibrationen, die Scherwellen im Gewebe verursachen. Die Kraft der entstehenden Wellen wird mittels Ultraschall gemessen und in Kilopascal (kPa) angegeben (3).

Vorteile dieser Methode sind:

- gute Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen aus histologischen Untersuchungen und der Einstufung mittels METAVIR-Score (26)
- das mit 4 cm³ im Vergleich zu einer Biopsie größere untersuchte Volumen des Lebergewebes
- einfache Anwendbarkeit und leichtere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse
- kurze Untersuchungsdauer von ca 5 Minuten

Dem gegenüber stehen limitierende Faktoren wie Übergewicht, Aszites oder kleine interkostale Abstände (3). 2007 konnten Ketthaneh et al (27) in einer Studie mit 935 Teilnehmern zeigen, dass die Messung in 97% der Fälle erfolgreich war. Der meist limitierende Faktor war die Adipositas der Patienten.

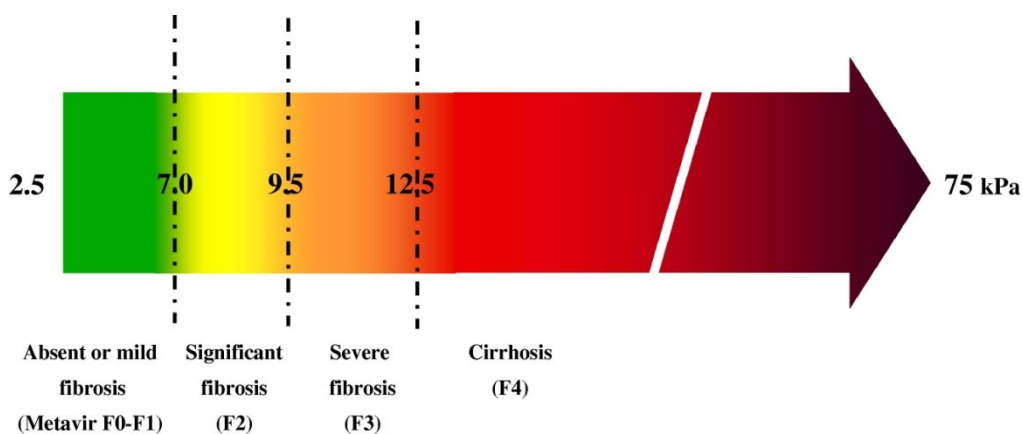


Abbildung 4: Steifigkeitsgrenzwerte (28)

Ein großes Problem bei dieser Technik ist allerdings, dass nach Erreichen von SVR die Lebersteifigkeit unterschätzt wird, also die Regression überschätzt wird. D'Ambrosio et al verglichen in einer Arbeit 2013 die Befunde der percutanen Leberbiopsie und des Fibroscans vor dem Start der interferon-basierten HCV-Therapie mit den Ergebnissen 61 Monate nach SVR bei Patienten mit Child-Pugh-A-Zirrhose. Der post-SVR-Fibroscan und die Leberbiopsie wurden am selben Tag durchgeführt. In 38% der F4-Patienten ergab der FS einen Wert < 12 kPa und somit fälschlicherweise keine Zirrhose. Die Autoren geben die Sensitivität für die FS nach erfolgreicher Therapie mit 61% an. Für die virämische Phase, also die chronische Entzündung, wird die Sensitivität mit 95% angegeben (28). Auch Pockros et al (29) haben 2017 herausgefunden, dass der Fibroscan die Regression der Fibrose überschätzt.

Die Fibrose kann auch mit herkömmlichen Ultraschallgeräten gemessen werden, wenn diese mit speziellen Elastographie-Modulen ausgestattet werden. Somit ist die Messung während einer routinemäßigen Ultraschallkontrolle möglich (30).

Auch die Messung mit bildgebenden Verfahren wurde untersucht. Damit konnte bei speziellen Magnetic Resonance Imaging (MRI)-Untersuchungen mit einer Spezifität und Sensitivität von >90% eine fortgeschrittene Fibrose detektiert werden (31).

In Kombination können die besprochenen Methoden und Techniken der indirekten, direkten und physikalischen Fibrosemessung noch bessere Ergebnisse liefern als einzeln für sich (3).

1.2.4.5. Kanzerogenese

Es wird angenommen, dass das HCV als RNA-Virus, das sein Genom nicht in das Wirtsgenom integriert, über einen indirekten Weg, also die chronische Entzündung, die Kanzerogenese vorantreibt. Bis zur Entstehung eines HCCs dauert es viele Jahre. Viele kleine Schritte, von der persistierenden Entzündung über Fibrogenese und Entstehung von neoplastischen Klonen, bis hin zur Ausbildung kanzerösen Gewebes, sind notwendig, damit die Zellen unkontrolliert wachsen und sich vermehren können. So ist zwar die HCV-Infektion eine Ursache der HCC-Entstehung, doch selbst die Eradikation des Virus, also die Entfernung der eigentlichen Ursache, ist keine Garantie für das Ausbleiben eines HCCs. Wenn der Leberschaden zu groß ist, kann, selbst wenn keine chronische Entzündung mehr nachweisbar ist, ein HCC entstehen (32).

Diesen Vorgang genau zu studieren wird durch die Tatsache erschwert, dass HCV-Infektionen nur bei Menschen und Schimpansen vorkommen. Aus diesem Grund müssen spezielle Mäuse gezüchtet werden um diese Vorgänge zu untersuchen. Trotz großer Bemühungen hat noch kein Mausmodell die menschliche Lebererkrankung inklusive HCC-Entstehung zufriedenstellend dargestellt (32).

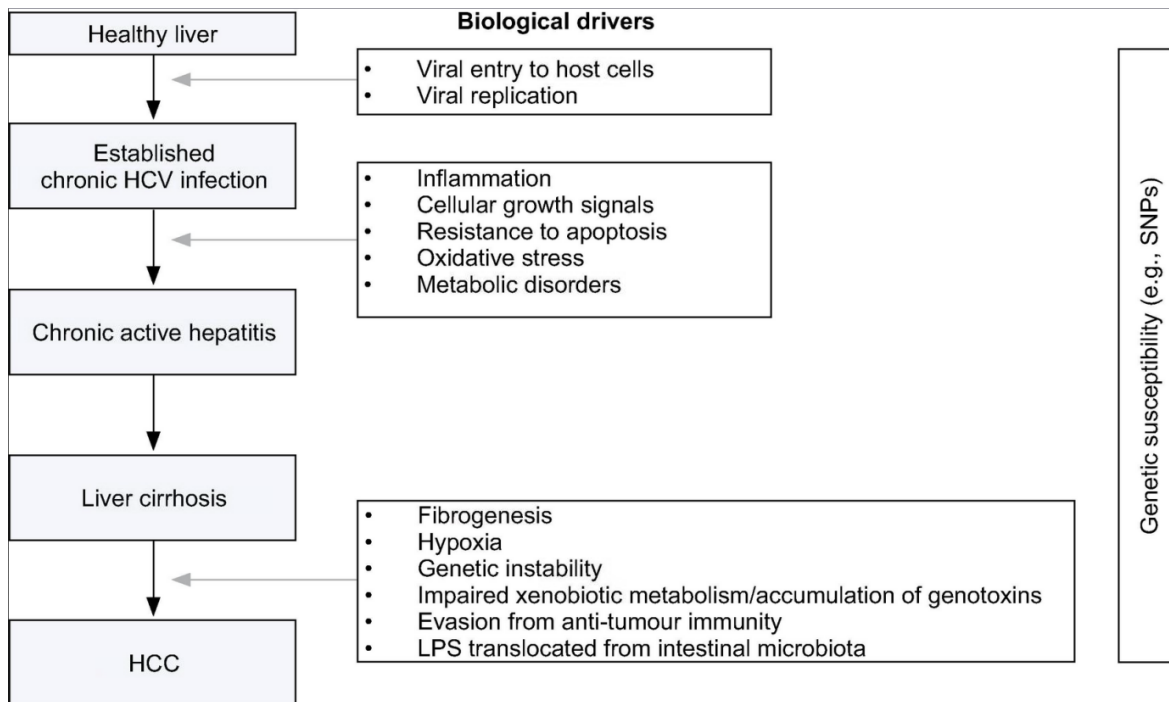


Abbildung 5: Schrittweise Entstehung eines HCCs (33)

In Mäusen führt eine künstliche Überexpression von HCV-Proteinen zur Zellproliferation und Tumorentstehung:

- Core-Proteine inhibieren verschiedene Tumorsuppressorgene durch physikalische Interaktion, Veränderung des Regulationsnetzwerkes oder posttranslationalen Modifikationen.
- Die Proteine NS3 und NS5A inhibieren p53, ein Protein, das bei beschädigter DNA Reparaturprozesse startet und den Zellzyklus stoppt um so die Vermehrung von Zellen mit fehlerhafter DNA zu unterbinden.
- NS5B inhibiert das RB1, das ebenfalls bei beschädigter DNA den Zellzyklus stoppt.
- Zusätzlich werden durch verschiedene HCV-Proteine (zB Core-Protein) ROS (reactive oxygen species) gebildet, die in weiterer Folge mitochondriale und chromosomale DNA schädigen.

Viele weitere Mechanismen zum Schutz gegen maligne Entartung, bzw für geregeltes Wachstum gesunder Zellen werden durch HCV-Proteine gestört (32).

Immunologische Antwort:

Der Einfluss auf das Immunsystem und den körpereigenen Schutz vor entarteten Zellen ist ähnlich vielschichtig wie jener auf die DNA-Kontrollpunkte.

NS3 hemmt die Typ-I-Interferoninduktion. Diese Zytokine haben wichtige Eigenschaften in der körpereigenen Tumorabwehr (33).

ROS aktivieren den c-Jun-N-terminal-Kinase(JNK)-Signalweg. Dieser Weg erzeugt ein entzündliches Mikroumfeld und erleichtert die HCC-Entstehung.

Das Protein E2 hemmt die natürlichen Killerzellen (32).

Fibrogenetischer Weg:

Wie im Kapitel „Fibrogenese“ beschrieben, ist die Fibrosierung der Leber ein wichtiger Risikofaktor für die Entstehung eines HCCs. Fibrose- oder Zirrhosefelder schaffen ein Milieu, das die Entstehung von neoplastischen Klonen fördert, dabei werden genetische Veränderungen erleichtert. Dieser Prozess wird als “field cancerization” oder “field effect” bezeichnet (32).

1.3. Therapie der Hepatitis C

1.3.1. Die Zeit vor den DAAs

Zu Beginn der 1990er Jahre galt Interferon-alpha (Inf- α) als Therapie der Wahl bei Hepatitis C-Infektionen. Interferone sind Zytokine und damit Teil des menschlichen Immunsystems. Sie versetzen den Körper in einen Alarmzustand und sind Teil der körpereigenen Abwehr vor Infektionen durch Viren und Bakterien.

Bei einer Infektion mit einem Virus wird die Interferonproduktion gesteigert. Zum einen dient dies dem Schutz dieser Zelle, zum anderen werden Interferone aber auch als Botenstoffe verwendet. Dazu docken sie an den Interferon-Rezeptoren von Nachbarzellen an und induzieren die Bildung einer ganzen Reihe von virostatistischen Enzymen, unter anderem wird die Aktivität RNA-schneidender Enzyme (RNAsen) gesteigert. Diese RNAsen zerschneiden einzelsträngige RNA, also virale RNA aber auch humane mRNA. Zusätzlich zu dieser virostatistischen Wirkung werden über MHC-Klasse-I-Moleküle (Major Histocompatibility Complex) CD8⁺-zytotoxische-T-Lymphozyten (cluster of differentiation 8 positiv, Oberflächenprotein) und über Interleukin 12 (IL-12) natürliche Killerzellen aktiviert (34).

Eine Ursache für die schweren Nebenwirkungen der Interferontherapie ist die Tatsache, dass Interferone Teil der unspezifischen Immunantwort sind. Es wird also nicht gerichtet gegen einen speziellen Stressor gearbeitet, wie beispielsweise Immunglobuline es tun, sondern der Körper wird in eine Art Alarmzustand versetzt um sich diffus gegen mögliche schädliche Einflüsse verteidigen zu können. Diese Immunantwort ist zwar schnell verfügbar und aktivierbar aber sie verursacht erhebliche Nebenwirkungen. Die häufigsten Reaktionen sind Fieber, grippeähnliche Symptome, Suppression der Hämatopoese, gastrointestinale Störungen, Leberzellschädigung, Nierenfunktionsstörungen, uvm (35). Diese Therapie erreicht zudem nur in ca 25% der Fälle eine dauerhafte Viruselimination (SVR). Hauptgründe für die geringe Wirksamkeit sind die Entstehung von Resistenzen und die Tatsache, dass Interferone zu einer sehr frühen Form der Abwehr zählen und dadurch wenig spezifisch gegen bestimmte Erreger wirken (34). Später eingesetzte Therapieregime übertreffen diese Zahlen bei Weitem (siehe unten).

Ende der 1990er wurde Inf- α mit Ribavirin kombiniert. Der Mechanismus hinter der antiviralen Wirkung von Ribavirin ist nicht vollständig geklärt.

Es konnte gezeigt werden, dass nach einer 48-wöchigen Behandlung mit dieser Therapie in 40-50% der Fälle 24 Wochen nach Ende der Behandlung noch immer eine SVR (sustained virological response) bestand. Das grundlegende Problem der interferonbasierten Therapie, die schweren Nebenwirkungen, wie Anämie, Störungen des Magen-Darm-Traktes, neurologische Symptome, Hautveränderungen, uvm, blieb allerdings bestehen (34).

Interferone werden sehr schnell aus dem Kreislauf eliminiert (Inf- α in der Niere, andere Interferone vor allem in der Leber). Einige Jahre nach dem Start der Kombinationstherapie mit Inf- α und Ribavirin (RBV) konnte zu Beginn des neuen Jahrtausends das Inf- α durch Peginterferon (Peg-Inf) ersetzt werden. Durch kovalente Bindung wird Interferon mit Polyethylenglykol verbunden. Das neue Peg-Inf wird deutlich langsamer abgebaut. Dadurch ergibt sich eine wesentlich längere Halbwertszeit im Plasma (34). Die Heilungsraten stiegen deutlich, für Genotyp 1 wurde sie mit 50% angegeben, für Genotyp 2 mit 90% und für Genotyp 3 mit 80%. Die Nebenwirkungen blieben aber weiter schwer und vielfältig (35).

Mit der Einführung der ersten Direct Acting Antivirals Boceprevir (BOC) und Telaprevir (TVR) 2011 konnten die SVR-Raten für den, vor allem in Europa weit verbreiteten Genotyp 1, ein weiteres Mal deutlich angehoben werden. Mit der Kombination von Peg-Inf, RBV und Telaprevir/Boceprevir konnten für den Genotyp 1 die SVR-Raten von 50% auf 70% gehoben werden. Als Monotherapie wurde Boceprevir aufgrund der hohen Resistenzentwicklung nicht zugelassen (36). Telaprevir war ebenfalls nicht zur Monotherapie zugelassen (37). Der Nachteil der Nebenwirkungen von Interferon-basierten Therapien blieb allerdings bestehen und wurde durch die Gabe zusätzlicher Präparate sogar verstärkt. Oft mussten parallel die unerwünschten Wirkungen behandelt werden oder die Nebenwirkungen zwangen gar zu einem Therapieabbruch (35). Abbildung 6 zeigt die Veränderung der SVR-Raten, den die einzelnen Wirkstoffe und Wirkstoffklassen erreichten.

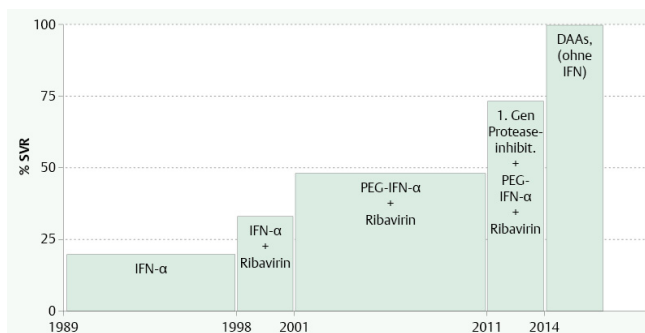


Abbildung 6: Meilensteine der HCV-Therapie (39)

1.3.2. Neue Möglichkeiten mit der Entwicklung der DAAs

Mit der Entwicklung der Direct Acting Antivirals ist es gelungen gezielt einzelne wichtige Enzyme für den Lebenszyklus des HCV zu blockieren. Die neue Therapie brachte zwei wesentliche Vorteile. Zum einen konnten durch das klare Ziel (Enzyme im HCV) die Nebenwirkungen deutlich verringert werden. Andererseits konnte durch die neuen Präparate die Effektivität gesteigert werden und die Therapiedauer von mehreren Monaten bis Jahren (38) auf einige Wochen reduziert werden. Gleichzeitig erhöhte sich die SVR-Rate von ca. 75% auf deutlich >90%. Durch den Erfolg dieser Therapieregime kann auf den Einsatz von Interferon und damit auf die schweren Nebenwirkungen verzichtet werden. Seit 2014 sind die DAAs Mittel der Wahl für die Behandlung von HCV-Infektionen.

Aktuell können die DAAs nach vier Wirkprinzipien eingeteilt werden:

1. NS 3/4A-Proteaseinhibitor (NS3/4A-PI)
2. NS5A-Inhibitor (NS5A-I)
3. NS5B-Nukleosid-Polymerase Inhibitor (NS5B-NPIs)
4. NS5B-non-Nukleosid-Polymerase Inhibitor (NS5B-nNPIs)

1.3.2.1. Ad 1) NS3/4A-Proteaseinhibitoren

NS3 und sein Co-Faktor NS4A lagern sich zu NS3/4A zusammen und erfüllen wichtige Aufgaben im Posttranslationsprozess und in der Replikation von Hepatitis-C-Viren. Gleichzeitig blockiert NS3/4A Signalwege für die Induktion von Interferonen, der körpereigenen Antwort auf Virusinfektionen.

Die ersten DAAs (zB TVR, BOC) zählen zu den NS3/4A-PIs. Sie wurden aufgrund hoher Resistenzentwicklung ausschließlich in Kombination mit Peginterferon und Ribavirin zur Behandlung einer HCV (Genotyp 1) Infektion eingesetzt (9,36,37).

Mittlerweile ist die zweite Generation dieser Medikamente (Grazoprevir [GRZ], Paritaprevir [PTV] und Simeprevir [SMV]) in Österreich zugelassen (39). Diese zeichnen sich im Vergleich zur ersten Generation durch weniger Nebenwirkungen, weniger Medikamenten-Interaktionen, bessere Dosierbarkeit und nicht zuletzt durch bessere Wirksamkeit aus. Zu den Nachteilen zählen die hohe Resistenzbildung und die geringe Wirksamkeit gegen andere Genotypen.

1.3.2.2. Ad 2) NS5A-Inhibitoren

Das Enzym NS5A übernimmt wichtige Aufgaben in der Replikation der RNA und im Zusammenbau des Virus. Im Gegensatz zu NS3/4A-PIs können die NS5A-Inhibitoren effektiv gegen alle Genotypen eingesetzt werden, allerdings kommt es auch hier zu Resistenzbildungen (9). Vor allem in Kombination mit anderen DAAs konnte eine sehr starke Reduktion von viraler RNA im Blut und ein Anstieg des SVR ohne Verwendung von Interferon beobachtet werden. Vertreter dieser Wirkstoffklasse sind Ledipasvir (LDV), Ombitasvir (OBV), Velpatasvir (VEL) und Elbasvir (ELB) (39).

1.3.2.3. Ad 3) NS5B-Nukleosid-Polymerase Inhibitor

Diese NPIs binden sich an das aktive Zentrum der NS5B-Nukleosid-Polymerase und bewirken so einen Strangabbruch bei der Replikation (9). In Österreich ist Sofosbuvir (SOF) als Vertreter dieser Wirkstoffklasse zugelassen (39).

1.3.2.4. Ad 4) NS5B-non-Nukleosid-Polymerase Inhibitor

Im Gegensatz zu den oben erwähnten NS5B-NPIs interagieren diese Wirkstoffe mit den allosterischen Zentren des NS5B. Dadurch ändert sich die Konformation des Enzyms und dieses kann seine Aufgaben nicht mehr erfüllen (9). In Österreich ist Dasabuvir (DSV) zugelassen (39).

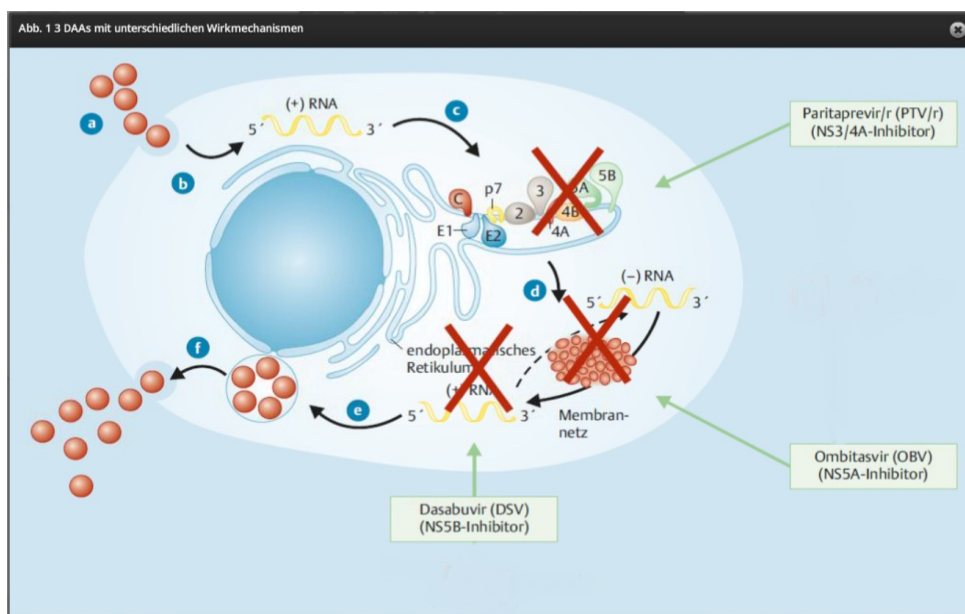


Abbildung 7: Ansatzpunkte der DAAs; modifiziert nach (38)

a: Bindung an Zellmembran und Endozytose;
b: Fusion und Freisetzung der RNA;
c: Translation und Polyproteinverarbeitung;
d: RNA-Replikation;
e: Viruszusammensetzung;
f: Transport und Freisetzung

Meist werden einzelne Vertreter dieser Wirkstoffklassen untereinander oder mit Ribavirin und selten mit Peginterferon kombiniert, um die HCV-Replikation an mehreren Punkten zu hemmen. Beispielsweise wird unter dem Handelsnamen Harvoni eine fixe Kombination des NS5A-Inhibitors Ledipasvir und des NS5B-Nukleosid-Polymerase Inhibitors Sofosbuvir angeboten (9).

Die Abbildungen 8 und 9 geben einen Überblick über die aktuell zugelassenen Medikamente und Therapieregime abhängig vom Genotyp des HCVs.

Antivirale Medikamente zur Behandlung der Hepatitis C (HCV)

Substanzklasse	Medikament	Dosierung (pro Tag)	HCV-Genotypen-Aktivität (in vitro und per Zulassung)
nukleotidischer Polymeraseinhibitor	Sofosbuvir	400 mg	1a, b; 2a, b; 3a; 4a; 5a; 6a Zulassung: 1 bis 6
nichtnukleosidischer Polymeraseinhibitor	Dasabuvir	2 × 250 mg	1a, b Zulassung: 1
NS3/4A-Proteaseinhibitoren	Simeprevir	150 mg	1a, b; 2; 4; 5; 6 Zulassung: 1, 4
	Paritaprevir (Ritonavir-geboostert)* ¹	2 × 75 mg (2 × 50 mg Ritonavir)	1a, b; 2a; 4a; 6a Zulassung: 1, 4
	Grazoprevir* ²	100 mg	1a, b; 4 Zulassung: 1, 4
NS5A-Inhibitoren	Daclatasvir	60 mg* ⁵	1a, b; (2a); 3a, 4a, 5a, 6a Zulassung: 1, 3, 4
	Ledipasvir* ³	90 mg	1a, b; 2a,b; 3a, 4a,d; 5a; 6a, e Zulassung: 1, 4
	Ombitasvir* ¹	2 × 12,5 mg	1, (2a), 2b, (3a), 4a, 5a Zulassung: 1, 4
	Velpatasvir* ⁴	100 mg	1a, b; 2a, b; 3a; 4a, d, r; 5a; 6a, e Zulassung: 1 bis 6
	Elbasvir* ²	50 mg	1a, b; 4 Zulassung: 1, 4

*¹ Koformulierung pro Tablette: 75 mg Paritaprevir, 50 mg Ritonavir (zur pharmakokinetischen Boostering), 12,5 mg Ombitasvir

*² Koformulierung pro Tablette: 100 mg Grazoprevir, 50 mg Elbasvir

*³ Koformulierung pro Tablette: 400 mg Sofosbuvir, 90 mg Ledipasvir

*⁴ Koformulierung pro Tablette: 400 mg Sofosbuvir, 100 mg Velpatasvir

*⁵ Dosierung beträgt 30 mg bei gleichzeitiger Einnahme eines starken Inhibitors von CYP3A4 beziehungsweise 90 mg bei gleichzeitiger Einnahme eines moderaten Induktors von CYP3A4.

Abbildung 8: Antivirale Medikamente zur Behandlung der Hepatitis C (40)

Zugelassene antivirale Therapieregime*				
	Patienten ohne Leberzirrhose		Patienten mit Leberzirrhose	
	nichtvorbehandelt	vorbehandelt	nichtvorbehandelt	vorbehandelt
feste Medikamentenkombinationen				
Sofosbuvir/Ledipasvir	HCV-1: 8–12 Wochen* ¹ HCV-4: 12 Wochen	HCV-1: 12 Wochen HCV-4: 12 Wochen	HCV-1: 12 Wochen ± RBV* ² HCV-4: 12 Wochen ± RBV* ²	HCV-1: 12 Wochen + RBV* ³ HCV-4: 12 Wochen + RBV* ³
Sofosbuvir + Velpatasvir	HCV-1, -2, -3, -4, -5, -6: 12 Wochen		HCV-1, -2, -3, -4, -5, -6: 12 Wochen* ⁴	
Paritaprevir/r, Ombitasvir, Dasabuvir	HCV-1a: 12 Wochen + RBV HCV-1b: 8–12 Wochen* ⁵		HCV-1a: 24 Wochen + RBV HCV-1b: 12 Wochen ± RBV* ⁶	
Paritaprevir/r, Ombitasvir	HCV-4: 12 Wochen + RBV		HCV-4: 12 Wochen + RBV	
Grazoprevir + Elbasvir	HCV-1a: 12 Wochen (16 Wochen + RBV bei Patienten mit NS5A-RAVs an Position 28, 30, 31, 58 oder 93) HCV-1b: 12 Wochen HCV-4: 12 Wochen (16 Wochen + RBV bei Patienten mit einer Viruslast > 800 000 IU/mL)			
individuelle Kombinationen				
Sofosbuvir + Ribavirin	HCV-2: 12 Wochen HCV-3: 24 Wochen		HCV-2: 12 Wochen HCV-3: 24 Wochen	HCV-2: 12–16 Wochen
Sofosbuvir + Simeprevir	HCV-1: 12 Wochen HCV-4: 12 Wochen		HCV-1: 24 Wochen ± RBV HCV-4: 12–24 Wochen ± RBV	HCV-1: 24 Wochen ± RBV HCV-4: 12–24 Wochen ± RBV
Sofosbuvir + Daclatasvir	HCV-1: 12 Wochen HCV-3: 12 Wochen HCV-4: 12 Wochen		HCV-1: 24 Wochen ± RBV HCV-3: 24 Wochen ± RBV HCV-4: 24 Wochen ± RBV	HCV-1: 24 Wochen ± RBV HCV-3: 24 Wochen + RBV HCV-4: 24 Wochen ± RBV

* Die Angaben entsprechen den europäischen Zulassungstexten der jeweiligen Medikamente. Für detailliertere Empfehlungen wird auf die S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) verwiesen, bezüglich einer wirtschaftlichen Verschreibung sind die Vorgaben des Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA) zu berücksichtigen.

¹ Acht Wochen sind bei Patienten mit einer Viruslast < 6 Millionen IE/mL ausreichend (18).

² Die deutsche Leitlinie empfiehlt die Kombination mit Ribavirin (RBV) bei negativen Prädiktoren.

³ Bei Patienten mit Kontraindikationen für die Gabe von Ribavirin sollte die Therapiedauer auf 24 Wochen verlängert werden.

⁴ Die Kombination mit Ribavirin kann bei Patienten mit HCV-Genotyp-3-Infektion und kompensierter Zirrhose erwogen werden. Alle Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose sollten RBV erhalten.

⁵ Acht Wochen sind bei therapie-naiven HCV-Genotyp-1b-infizierten Patienten ausreichend (e20).

⁶ In der Studie von Feld et al. (e35) erzielten 60/60 Patienten mit HCV-Genotyp-1b-assoziiierter Leberzirrhose eine dauerhafte Viruseradikation ohne die Kombination mit Ribavirin.

HCV, Hepatitis-C-Virus; RBV, Ribavirin

Abbildung 9: Zugelassene Therapieregime bei Hepatitis C (40)

Die Kombination aus Grazoprevir (NS3/4A-PI) und Elbasvir (NS5A-I) konnte in einer randomisierten, verblindeten, placebo-kontrollierten Studie an 421 zirrhotischen und nicht-zirrhotischen behandlungsnaiven HCV-Patienten von Zeuzem S et al vor allem bei den Genotypen 1, 4 und 6 sehr hohe SVR12-Raten (sustained virological response 12 Wochen nach Therapieende) (Genotyp 1a: 92%, Genotyp 1b: 99%, Genotyp 4: 100%, Genotyp 6: 80%, insgesamt: 95%) erreichen (41).

Die SAPPHIRE I-Studie zeigte, dass mit der 3D-Kombination [Paritaprevir (NS3/4A-PI) mit Ritonavir (RTV), Ombitasvir (NS5A-I) und Dasabuvir (NS5B-nNBI)] mit Ribavirin bei nicht-zirrhotischen GT1-Patienten ohne Vorbehandlung die Rate des SVR bei 96,2% liegt (42).

In der SAPPHIRE II-Studie konnte gezeigt werden, dass mit der oben genannten 3D-Kombination bei 286/297 (96,3%) GT1-Patienten ohne Leberzirrhose und mit Relaps, teilweisem Response oder keinem Response auf Peginterferon und Ribavirin eine SVR12 erzielt werden konnte (43).

Laut der OPTIMIST II-Studie führt eine Behandlung über 12 Wochen mit Simeprevir (NS3/4A-PI) und Sofosbuvir (NS5B-NPIs) bei behandlungsnaiven oder vorbehandelten GT1-Patienten mit Zirrhose in 88% bzw in 79% der Fälle zu einem SVR12 (44).

Die ION I und II Studien untersuchten die Wirksamkeit der Kombination von Ledipasvir (NS5A-I) und Sofosbuvir mit und ohne Ribavirin bei GT1-Patienten mit und ohne Zirrhose bei einer Behandlungsdauer von 24 oder 12 Wochen. In der ION I-Studie wurden behandlungsnaive Patienten untersucht. In der ION II-Studie wurden Patienten mit interferonbasierter Vortherapie untersucht.

In ersterer konnte eine SVR-Rate von 99% nach 12 Wochen Therapie mit LDV/SOF, 97% nach 12 Wochen Therapie mit LDV/SOF + RBV, 98% nach 24 Wochen Therapie mit LDV/SOF und 99% nach 24 Wochen Therapie mit LDV/SOF + RBV gezeigt werden.

Letztere zeigte eine SVR-Rate von 94% nach 12 Wochen Therapie mit LDV/SOF, 96% nach 12 Wochen Therapie mit LDV/SOF + RBV, 99% nach 24 Wochen Therapie mit LDV/SOF und 99% nach 24 Wochen Therapie mit LDV/SOF + RBV (45).

In der ASTRAL I-Studie wurden 740 Patienten untersucht. 116 Patienten erhielten ein Placebo und 624 erhielten eine Kombination aus SOF (NS5B-NPI) und VEL (NS5A-I). Die Patienten hatten eine HCV-Infektion mit den Genotypen 1a, 1b, 2, 4, 5 und 6. Insgesamt konnte nach 12 Wochen in 99% (1a: 98%, 1b: 99%, 2: 100%, 4: 100%, 5: 85%, 6: 100%) der Fälle ein SVR erreicht werden. Im Vergleich dazu, konnte kein Patient oder keine Patientin aus der Placebo-Gruppe (n = 116) eine SVR erreichen (46).

Zusätzlich konnte in der ASTRAL III-Studie anhand von 558 randomisierten GT3-Patienten gezeigt werden, dass bei einer SOF-VEL-Therapie nach 12 Wochen in 95% ein SVR erreicht werden konnte (47).

Die POLARIS I Studie (48) zeigt, dass die Kombination von SOF/VEL/VOX im Falle einer Vortherapie mit NS5A als Rettungstherapie bei GT 1-6 gute Ergebnisse liefert. 41% der Patienten hatten eine Leberzirrhose. Das Regime wurde 12 Wochen lang verabreicht und 96% erreichten SVR12, bei Zirrhosepatienten lag die SVR12-Rate bei 93%.

1.3.2.5. (Kontra-)Indikationen

Laut den Guidelines der EASL (European Association for the Study of the Liver) ist eine Anti-HCV-Therapie mit DAAs bei folgenden Patientengruppen indiziert:

- Behandlungs-naive und bereits vorbehandelte Patienten mit kompensierter oder dekomensierter chronischer Lebererkrankung aufgrund einer HCV-Infektion
- Eine Therapie ist unverzüglich einzuleiten bei Patienten mit signifikanter Fibrose oder Zirrhose (METAVIR >F2), mit dekomensierter Zirrhose (Child-Pugh B, C), mit extrahepatischen Manifestationen (Vaskulitis, Nephropathie, non-Hodgkin B-Zell-Lymphom), bei Wiederauftreten einer Infektion nach Lebertransplantation und bei Patienten, die ein erhöhtes Risiko aufweisen andere Menschen zu infizieren (zB iv-Drogenabusus, Männer, die Sex mit Männern haben, Frauen im gebärfähigen Alter mit Kinderwunsch, Hämodialysepatienten).
- Patienten mit dekomensierter Zirrhose und einer Indikation für eine Lebertransplantation (MELD \geq 18-20) sollten erst nach erfolgreicher Transplantation therapiert werden. Wenn die Wartezeit auf eine Transplantation länger als 6 Monate beträgt, können sie vor der Operation therapiert werden.
- Für Patienten mit begrenzter Lebenserwartung, aufgrund einer nicht die Leber betreffenden Erkrankung, wird eine Therapie mit DAAs nicht empfohlen.

Nach aktuellem Stand der Wissenschaft sind keine absoluten Kontraindikationen für in der EU zugelassene DAAs bekannt.

Sofosbuvir sollte mit Vorsicht bei Patienten und Patientinnen mit bekannter Nierenfunktionsstörung (eGFR $<30\text{ml/min}/1,73\text{m}^2$) eingesetzt werden. Bei Patienten mit Amiodarontherapie ist Sofosbuvir kontraindiziert, solange Amiodaron nicht abgesetzt werden kann.

Therapieregime mit NS3/4A-Komponenten sollten nicht bei Patienten oder Patientinnen mit dekomensierter Zirrhose (Child Pugh B/C) oder bei Patienten oder Patientinnen mit Episoden dekomensierter Zirrhosen bei kompensierter Zirrhose verwendet werden (49).

1.3.3. Resistenzen

Nach einer Therapie mit DAAs kann in >90% der Fälle eine SVR erreicht, die HCV-Infektion also geheilt werden. In den übrigen Fällen spielen Resistenzen gegenüber den DAAs eine wesentliche Rolle.

Das HCV hat eine sehr hohe Turn-over-Rate, die Viren werden also schnell zerstört (Halbwertszeit: 2-5 Std) aber auch sehr schnell wieder nachproduziert. Pro Tag werden 10^{10} bis 10^{12} Viren ab- und aufgebaut. Es gilt demnach Quantität vor Qualität und letztere leidet unter dieser Geschwindigkeit. Die HCV-RNA-abhängige-RNA-Polymerase (NS5B) besitzt Schwächen in der Korrekturlesefähigkeit. Diesem Umstand ist es geschuldet, dass eine hohe Zahl an Varianten des Virus produziert wird. Pro Nukleotid pro genomischer Replikation wird eine Fehlerrate von 10^{-3} bis 10^{-4} angenommen. Der Großteil dieser Mutationen wird entweder vom menschlichen Immunsystem attackiert und abgebaut oder kann sich aufgrund von Funktionsverlusten nicht replizieren. Ein kleinerer Teil kann sich aber etablieren und bewirkt so eine Heterogenität von eng verwandten Genomen. Die Gesamtheit aus den wild-typ-Strängen und vielen mutierten Strängen nennt man Quasispezies. Diese genetische Vielfalt des Virus verschafft ihm einen evolutionären Vorteil.

Während Mutationen in einem Patienten ohne Therapie nur in geringer Zahl vorkommen, da in einer therapiefreien Umwelt der Wildtyp einen genetischen Vorteil hat, sorgt beispielweise eine DAA-Therapie für eine Selektion. Alle Viren, die ein Wirkstoff eliminiert, verschwinden. Weiter vermehren kann sich nur jene Mutation, die keinen Angriffspunkt für die jeweilige DAA-Klasse bietet. Klinisch tritt dies als Therapieresistenz, bzw. als treatment failure, in Erscheinung (50).

Auf ähnliche Weise kann ein Relapse nach zu Beginn schon wirksamer Therapie erklärt werden. Der Wildtyp wird therapiert und die Viruslast vermindert sich. Bis zum Ende der Therapie bleibt eine Mutation unter der Nachweisgrenze, der Organismus wird also nie völlig virenfrei. Sequenziert man die Viren am Ende der Therapie, kann eine andere Quasispezies selektioniert worden oder der Wildtyp wieder vorhanden sein, da nach dem Ende der Therapie der Selektionsdruck wegfällt und sich das ursprüngliche Virus wieder durchsetzen kann.

Bei einem Breakthrough kommt es während der Therapie zu einem erneuten Auftreten der Viren im Blut, nachdem diese zwischenzeitlich nicht mehr nachweisbar waren. Der Mechanismus ist ähnlich wie oben beschrieben. Während der Therapie vermehren sich resistente Varianten weiter, bis sie in einer messbaren Konzentration

vorhanden sind. Nach Ende der Therapie setzt sich in der Regel die dem therapiefreien Umfeld besser angepasste Variante, also der Wildtyp, wieder durch (50).

1.3.3.1. NS3/4A

Die erste Generation der DAAs, die dieses Enzym als Angriffsziel hatten, waren Boceprevir und Teleprevir. Das HCV hat eine niedrige genetische Barriere gegen Resistenzentwicklung gegen diese beiden Wirkstoffe, es sind also nur wenig Mutationen notwendig um eine Resistenz entstehen zu lassen.

Resistance associated variants (RAVs), also genetische Variationen, die mit Resistenzen assoziiert sind, finden sich in ca 8,6% der behandlungsnaiven GT1a-Patienten und in 1,4% der behandlungsnaiven GT1b-Patienten. Allerdings ist ein Vorhandensein von RAVs nicht automatisch mit einer Resistenz gleichzusetzen. Diese RAVs verhindern ein SVR nicht immer, trotzdem haben viele Patienten, die eine SVR nicht erreicht haben, messbare RAV-Levels zum Zeitpunkt des Scheiterns der Behandlung.

Die zweite Generation der NS3/4A-Protease-Inhibitoren (Grazoprevir, Paritaprevir und Simeprevir) waren zwar in ihrer Potenz verbessert, allerdings bleibt die geringe Barriere gegen Resistenzentwicklung des Proteins weiter bestehen.

Eine Schlüsselrolle wird dem Q80K-Polymorphismus zugeschrieben. In-vitro-Studien haben gezeigt, dass dieser Polymorphismus die Wirksamkeit von Simeprevir um den Faktor 10 senkt. Somit erreichen Patienten mit dieser Mutation eine SVR seltener im Vergleich zu Patienten ohne diese Mutation (58% vs 84%) (50).

1.3.3.2. NS5A

Dieses Protein ist wichtig für die Replikation, den Zusammenbau und das Ausschleusen des Virus. NS5A-Inhibitoren können zwar gegen viele Genotypen eingesetzt werden, aber sie haben wie die NS3/4A-Inhibitoren nur eine niedrige Barriere gegen Resistenzen. Daclatasvir wirkt gut gegen GT1b, da dieser Genotyp eine starke Barriere gegen Resistenzentwicklung aufweist. In GT1a hingegen reicht schon eine einzige Mutation aus um eine Resistenz zu erzeugen.

DAA-Kombinationen, die verschiedene Ziele angreifen, sind eine Strategie um NS5A-Resistenzen zu behandeln. (50)

1.3.3.3. NS5B

Das Enzym ist eine RNA-abhängige-RNA-Polymerase und für die Bildung der (-)RNA verantwortlich, anhand welcher die neuen Virusgenome gebildet werden.

NS5B-NPI:

Die katalytische Seite des Enzyms ist sehr sensibel auf Veränderungen in der Aminosäureihenfolge. Wenn also eine Mutation eine Resistenz verursachen würde, funktioniert das Enzym nicht mehr.

NS5B-nNPI:

Diese Wirkstoffe binden an der allosterischen Seite des Enzyms und stören so die Funktion. Sie haben die niedrigste Barriere gegen Resistenzentwicklung sämtlicher DAA-Klassen.

Um Resistenzen vorzubeugen und die Infektion schnell und effektiv zu behandeln, ist die Verwendung von Kombinationen verschiedener DAA-Klassen sinnvoll um die Schwächen möglichst vieler viraler Enzyme auszunutzen (50).

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Diese Arbeit basiert auf der retrospektiven Auswertung von Patientendaten u Patientinnendaten, die im Rahmen der routinemäßigen Kontrollen bei interferonfreier (DAA-basierten) und interferonbasierter Therapie von HCV-Infektionen an der Klinischen Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie des Landeskrankhauses Graz erhoben wurden. Es wurden nur bereits vorhandene Daten aus dem MEDOCS (Dokumentationssystem der steiermärkische Krankenanstaltengesellschaft KAGES) verwendet und ausgewertet. Die Patienten und Patientinnen mussten sich keiner weiteren Untersuchung oder keinem zusätzlichen Eingriff unterziehen.

2.2. Auswahl der Patienten und Patientinnen

2.2.1 Einschlusskriterien

- Volljährigkeit
- Männer und Frauen
- Hepatitis C Infektion
- DAA-Therapie mit Therapiestart ab 08.03.2014 und eine Leberfibrose >F2 mit einem Follow-up-Zeitraum von >1 Jahr
- Peg-Interferon-Therapie ab 27.02.2004 und eine Leberfibrose >F2 mit einem Follow-up-Zeitraum >1 Jahr

2.2.2. Ausschlusskriterien

- HCC bei Therapiebeginn
- Bei Peg-Interferon-Therapie Fibrose <F3
- LTX vor Therapiebeginn

2.3. Literatursuche und Primärliteratur

Die Literatursuche fand überwiegend unter Zuhilfenahme des Internets statt. Weiters wurden Referenzen von der Gastroenterologischen Abteilung und Prof Dr Rudolf Stauber zur Verfügung gestellt, aber auch Fachbücher und Fachzeitschriften wurden verwendet.

Die Unterlagensuche im Internet wurde mit Hilfe von PubMed, Uptodate, Google Scholar und mit Hilfe des Internetauftritts des Robert-Koch-Instituts und der Bibliothek der Medizinischen Universität Graz durchgeführt. Die verwendeten Suchbegriffe waren unter anderem: Hepatitis C, hepatozelluläres Karzinom, direct acting antivirals, (Peg-)Interferon, Fibrose(-entstehung und -regression), Zirrhose, Kanzerogenese, Fibrosebestimmung, uvm.

2.4. Zielgrößen

2.4.1 Hauptzielgrößen

Als Hauptzielgrößen sind SVR, HCC-Vorkommen und Fibrose-Status definiert.

2.5. Erhobene Daten und Datenerfassung

Für diese Arbeit wurden Daten von insgesamt 384 Patienten und Patientinnen ausgewertet. In Zusammenarbeit mit der Klinischen Abteilung für Gastroenterologie und Hepatologie der Universität Graz wurden die Daten anonymisiert in zwei Excel-Mappen (Version 2010, Microsoft, Washington, United States of America) gesammelt. Die erste Mappe umfasste 243 Hepatitis-C-Patienten und Patientinnen, bei denen zwischen 08.03.2014 und 22.12.2016 eine DAA-Therapie gestartet wurde. Die zweite Mappe umfasste 141 Hepatitis-C-Patienten und Patientinnen, die sich zwischen 14.01.2004 und 30.01.2013 einer Peg-Interferon-basierten Therapie unterzogen haben.

In der Datenbank der DAA-Kohorte waren einige Daten zur Person bereits vorhanden, ebenso wie die Daten zu Genotyp des HCV, Therapiebeginn, Therapieregime, Therapiedauer und einige Ergebnisse der virologischen Untersuchungen.

Die Daten zu Transplantation, HCC, die Follow-up-Daten der virologischen Untersuchungen sowie zu den Fibroscans und Labordaten waren noch zu erheben bzw zu vervollständigen.

Die Daten zu den Fibroscans wurden zum einen aus dem Gerät selbst und aus beiliegenden Aufzeichnungen zu den Untersuchungen ausgelesen, zum anderen wurden die nicht am Gerät gespeicherten Daten aus den Befundberichten der Untersuchungen aus dem MEDOCS herausgesucht und eingetragen.

Die Parameter der DAA-Kohorte können in fünf Gruppen eingeteilt werden:

- Patienten- und Patientinnendaten: wie Patienten- und Patientinnen-ID, Geburtsdatum, Alter zu Therapiestart, gegebenenfalls Sterbedatum, Geschlecht, HCC-Follow-up > 1 Jahr (nominal skaliert, ja/nein);
- Krankheitsspezifische Daten: Genotyp, vorbestehender Fibrose- bzw Zirrhosegrad, Lebertransplantation, HCC-Vorkommen, Therapieregime, Dauer der Therapie, Therapiebeginn und –ende usw.
- Virologische Daten: Viruslast (VL) zu Therapiebeginn, nach 4, 8, 12 Wochen und zu Therapieende; Viruslast im Follow-up nach 4, 12 und 24 Wochen usw.
- Daten zum Fibroscan: Datum des FS zu Therapiebeginn und nach ein bzw zwei Jahren; Abstand zum Therapiebeginn bzw zum Stichtag nach ein und zwei Jahren in Tagen; Controlled Attenuation Parameter (CAP), CAP %, kPa und kPa% zum Therapiebeginn, sowie ein und zwei Jahre nach Therapiebeginn; nominal skaliert die Vollständigkeit des jährlichen Follow-ups (ja/nein);
- Laborparameter: Datum der Laboruntersuchung, Alter zum Zeitpunkt der Laboruntersuchung, ALT, AST, Thrombozyten, daraus berechneter Fib4-Score und APRI. Diese Parameter wurden ebenfalls zum Zeitpunkt des Therapiebeginns und ein bzw zwei Jahre danach erhoben. Auch die Vollständigkeit des Follow-up-Zeitraumes wurde hier nominal skaliert erhoben.

Ebenso wie bei der DAA-Kohorte war auch die Excel-Mappe für die Peg-Inf-Kohorte bereits angelegt. Einige Parameter mussten noch erhoben bzw hinzugefügt werden.

Die erhobenen Daten können in vier Gruppen eingeteilt werden:

- Daten zur Person: Patienten- und Patientinnen-ID, Geburtsdatum, Alter, Geschlecht, gegebenenfalls Sterbedatum, Follow-up in Jahren;
- Daten zur Erkrankung: Transplantation, Biopsiedatum und Alter zum Zeitpunkt der Biopsie, Virusgenotyp, Fibrosegrad im METAVIR-System, Therapieregime, Therapiedauer in Wochen, Therapiebeginn- und ende;

- Virologische Daten: Viruslast zu Therapiebeginn, Viruslast zum Zeitpunkt FU24 inklusive Datum, nominal skalierte Angaben ob eine Virämie zu letzterem Zeitpunkt nachweisbar war.
- Labordaten: Datum der Laboruntersuchung, Alter zum Zeitpunkt der Laboruntersuchung, AST, AST/ULN, ALT, ALT/ULN, AST/ALT, APRI, Prothrombinzeit, International Normalized Ratio, Thrombozyten, Fib4-Score.

In beiden Excel-Mappen wurden einige Parameter wie Alter, Stichtage, Therapiedauer, APRI, Fib4-Score durch das Tabellenkalkulationsprogramm mittels logischer Funktion berechnet.

Um die Auswertung zu erleichtern wurden Daten nominal skaliert, beispielsweise Therapieregime, Auftreten bestimmter Situationen, wie Vorliegen einer Virämie zu bestimmten Zeitpunkten (zB.: FU12) oder ob ein bestimmter Follow-up-Zeitraum gegeben ist.

Messwerte wie Fibroscan-Ergebnisse, Laborwerte, virologische Daten wurden als stetige Merkmale dokumentiert um den Informationsgehalt hoch zu halten.

Stichtag der Datenerhebung für Laborwerte und Fibroscanwerte war der Tag des Therapiebeginnes (BL, baseline) bzw ± 92 Tage (= 3 Monate). Die Stichtage der Follow-up-Befunde waren der Tag des Therapiebeginnes + 365 Tage (FU1, Follow-up nach einem Jahr) bzw + 730 Tage (FU2, Follow-up nach 2 Jahren) bzw + 1095 Tage (FU3, Follow-up nach 3 Jahren), mit dem oben genannten Toleranzzeitraum von ± 92 Tagen.

2.6. Statistik

Die Datenauswertung und statistische Aufarbeitung erfolgte mit Werkzeugen der deskriptiven Statistik mit Hilfe von IBM SPSS Statistics (Version 23, IBM Corporation, New York, United States of America). Mit dem Kolmogorov-Smirnov-Tests (KS-Test) wurden die gemessenen Werte auf Normalverteilung getestet. Bei einem p-Wert von $p < 0,05$ wurde eine statistische Signifikanz angenommen und die H_0 -Hypothese („Die Daten unterliegen einer Normalverteilung“) verworfen, es wurden also Median und Minimum und Maximum anstatt Mittelwert (MW) \pm Standardabweichung (SD, Standard deviation) als Lage- und Streuungsmaß angegeben.

Bei Normalverteilung wurde mit Hilfe des t-Tests der p-Wert berechnet. Falls eine nicht parametrische Verteilung vorlag wurde der p-Wert mit dem nichtparametrischen Wilcoxon-Test berechnet.

Da im Fall der Kreuztabelle (Therapieregime / HCC-Rate) einzelne Inzidenzen < 5 waren, wurde der Fisher's exacter-Test verwendet (siehe Kapitel 3.2.1.)

Im Falle von Follow-up-Befunden mit mindestens drei Erhebungszeitpunkten (BL, FU1 und FU2), genauer „Fibroscan kPa“, „Thrombozyten“, „APRI“ und „Fib4“, wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse mit mehreren Messpunkten durchgeführt. Im Falle einer Normalverteilung wurde die Varianzanalyse mittels einer ANOVA durchgeführt. Wenn keine Normalverteilung gegeben war, wurde ein Friedmantest durchgeführt.

2.7. Ethikvotum

Ein positives Ethikvotum für die Durchführung dieser Arbeit liegt vor (Ethikvotum 20-023 ex 08/09).

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkollektiv: Peginterferon-HCC-Kohorte

Insgesamt umfasste die Datenbank 141 Patientinnen und Patienten (n = 141). Gemäß den Ein-/Ausschlusskriterien (siehe Seite 30) wurden die Daten von 31 Patienten und Patientinnen ausgewertet. Die folgenden Kennwerte beziehen sich auf diese 31 Patienten und Patientinnen.

Insgesamt sind 9 Patientinnen und 22 Patienten eingeschlossen worden (n = 31). Das Alter betrug $52 \pm 9,6$ Jahre. Die Leberfibrose wurde bei 18 Patienten und Patientinnen als METAVIR F3 und bei 13 als METAVIR F4 eingestuft. 24 Wochen nach Therapieende konnte bei 7 Patienten und Patientinnen keine Virämie (SVR24 - entspricht einer „Heilung“) mehr nachgewiesen werden, bei 15 Patienten und Patientinnen waren noch Viren im Blut nachweisbar. Bei 9 Patienten und Patientinnen konnten keine Daten über den Therapieerfolg gefunden werden. Der Follow-up-Zeitraum betrug $6,3 \pm 3,5$ Jahre, insgesamt also 195 Patientenjahre. Während dieses Zeitraumes wurde bei 3/31 Patienten und Patientinnen die Diagnose HCC gestellt, das entspricht einer HCC-Rate von 0,015 HCCs pro Patientenjahr.

Die weiteren Daten zu dieser Kohorte finden sich in der nachfolgenden Tabelle 2:

Variable	Kennwerte (KW) Peginterferon-HCC
Gesamtanzahl (n)	31
Geschlecht: Männlich Weiblich	22 (71%) 9 (29%)
Alter zum Biopsiezeitpunkt (MW \pm SD)	$52 \pm 9,6$
Virologie 1 1a 1b 1c 2a 3a na	6 (19%) 5 (16%) 14 (45%) 1 (3%) 1 (3%) 3 (10%) 1 (3%)
Fibrose nach METAVIR Therapiebeginn Grad 3 Grad 4	18 (58%) 13 (42%)

Therapie	
Copegus/Pegsys	12 (39%)
Pegintron/Rebetol	8 (26%)
Albuferon/Ribavirin	1 (3%)
Pegintron/Rebetol + Telaprevir	1 (3%)
Copegus/Pegsys + Telaprevir	2 (7%)
Pegintron/Rebetol + Boceprevir	1 (3%)
Copegus/Pegsys + Boceprevir	1 (3%)
na	5 (16%)
Therapiedauer in Wochen (MW ± SD)	32,92 ± 21,31
Therapieverlauf	
Relaps	4 (13%)
Non-responder	5 (16%)
Slow-responder	1 (3%)
Abbruch wegen NW	6 (19%)
Breakthrough	1 (3%)
na	14 (45%)
SVR24	
Ja	7 (23%)
Nein	15 (48%)
na	9 (29%)
APRI bei Therapiebeginn (MW ± SD)	2,9 ± 4,3
Fib4-Score bei Therapiebeginn (MW ± SD)	3,49 ± 2,17
Thrombozyten G/L bei Therapiebeginn (MW ± SD)	154 ± 46
Follow-up in Jahren (MW ± SD), py	6,3 ± 3,5; 195
HCC im Follow-up	3/31 = 0,096 HCC/Patienten
HCC/Patientenjahre	0,015
HCC pro 100 Patientenjahre	1,5

Tabelle 2: Kennwerte der Peginterferon-HCC-Kohorte (n=31)

3.2. Patientenkollektiv: DAA-HCC-Kohorte

Insgesamt wurden die Daten von 243 Patienten und Patientinnen (n = 243) erfasst. Bei 114 Patienten und Patientinnen betrug der Follow-up Zeitraum bezüglich eines HCCs mindestens 1 Jahr. Zwei Patienten wurden ausgeschlossen, da sie schon vor Beginn der DAA-Therapie an einem HCC litten. 13 weitere Patienten und Patientinnen wurden ausgeschlossen, da sie mit dem Zeitpunkt der Lebertransplantation während des Follow-ups zensiert wurden und somit den Follow-up-Grenzwert von einem Jahr unterschritten. Ein weiterer Patient wurde von der Analyse ausgeschlossen, da er sich vor Therapiebeginn einer Lebertransplantation unterzogen hatte (siehe Abbildung 10). 21 Patienten und Patientinnen wurden ausgeschlossen, da ihr Fibrosegrad geringer als METAVIR F3 war.

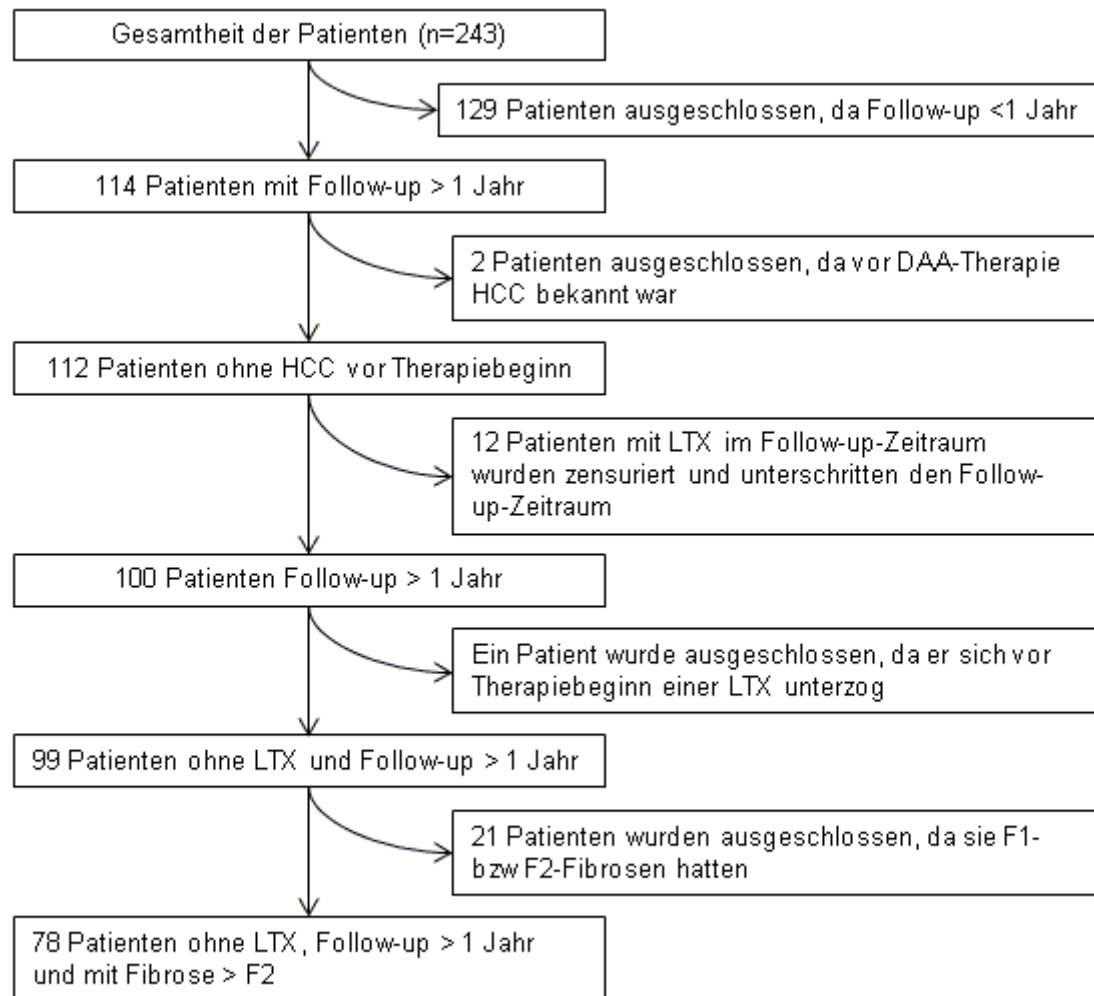


Abbildung 10: Auswahl der Patienten und Patientinnen der DAA-HCC-Kohorte

Von den 78 analysierten Patienten und Patientinnen waren 48 männlich und 30 weiblich und 58,4 (24; 83) Jahre alt. Nach einer Therapiedauer von 12 (8, 16) Wochen erreichten 86% SVR12. Dieser Prozentsatz ist geringer als derzeit in aktuellen Arbeiten angegeben weil durch den langen Follow-up-Zeitraum auch frühere Therapien mit weniger hohen SVR12-Raten in die Auswertung einfließen. Mit der aktuellen D3-Therapie konnte eine SVR12-Rate von 92% erreicht werden.

Der Follow-up-Zeitraum betrug 1,4 (1; 3,1) Jahre pro Patient, also 127,4 Patientenjahren. In diesem Zeitraum wurde bei 3/78 Patienten und Patientinnen ein HCC diagnostiziert, entsprechend einer HCC-Rate von 0,024 pro Patientenzahl.

Die weiteren Kennwerte zeigt Tabelle 3.

Variable	Kennwert DAA-HCC
Gesamtzahl (n)	78
Geschlecht Männlich Weiblich	48 (62%) 30 (38%)
Alter zum Therapiebeginn (MW ± SD)	58,4 (24; 83)
Genotypen 1 1a 1b 3 3a 4	8 (10%) 20 (26%) 40 (51%) 4 (5%) 5 (7%) 1 (1%)
Fibrose/Zirrhose Therapiebeginn F3 Zirrhose Child A Zirrhose Child B Zirrhose Child C LTX	25 (32%) 41 (53%) 7 (9%) 3 (4%) 2 (3%)
Therapie SOF / DCV SOF / DCV / RBV SOF / RBV SOF / SMV SOF / LDV SOF / LDV / RBV OBV / PTV / DSV (3D) OBV / PTV / DSV (3D) + RBV	11 (14%) 2 (3%) 7 (9%) 11 (14%) 21 (27%) 5 (6%) 11 (14%) 10 (13%)
Therapiedauer in Wochen (Median, Range)	12 (8; 16)
Virologie SVR 12 - gesamt Ja Nein Virologie SVR 12 – SOF/LDV und D3-Therapie Ja Nein	67 (86%) 11 (14%) 43 (92%) 4 (8%)
APRI bei Therapiebeginn (Median, Range)	1,9 (0,4; 14,7)
Fib4-Score bei Therapiebeginn (Median, Range)	4,02 (0,4; 28,4)
Thrombozyten in G/L bei Therapiebeginn (MW ± SD)	145 ± 72
Follow-up Jahre (Median, Range), Patientenjahre	1,4 (1; 3,1), 127,4
HCC im Follow-up HCC / PatientenInnenjahre(n) HCC / 100py	3/78 = 0,04 0,024 2,4

Tabelle 3: Kennwerte DAA-HCC-Kohorte (n=78)

3.2.1. Fisher's exact Test der HCC-Inzidenzen in den Kohorten

Mit dem Fisher's-exact-Test wurden die Inzidenzen von HCCs in den beiden Gruppen verglichen. Laut diesem Test besteht bei einem Signifikanzniveau von 5% kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der HCC-Inzidenz und dem Therapieregime (zweiseitig $p = 0,349$).

3.3. Patientenkollektiv: DAA-Fibrose-Regression

Die Regression der Fibrose nach erfolgreicher Heilung nach HCV-Infektion (SVR12+) wurde anhand von APRI, Fib4-Score und Fibroscan quantifiziert.

3.3.1. Indirekte Fibroseparameter im Verlauf

3.3.1.1. Dreijahresverlauf

Gesamt

Tabelle 4 und Box Plot 1 und 2 zeigten den zeitlichen Verlauf der Thrombozytenanzahl und der indirekten Fibrosemarker Fib-4 und APRI von 19 Patienten und Patientinnen mit einem Follow-up der Laborwerte von 3 Jahren.

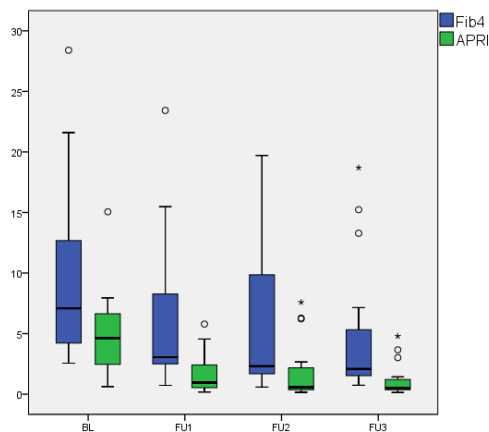
Sowohl in der Tabelle 4 als auch im Box Plot 1 ist eine Verminderung der Mittelwerte bzw der Mediane des Fib4-Scores als auch des APRI von Jahr zu Jahr zu sehen. Die Anzahl von Patienten und Patientinnen mit einem Fib4-Score $<1,45$, wonach eine fortgeschrittene Fibrose (entspricht METAVIR F3) mit einem positiv predictive Value von 90% ausgeschlossen werden kann, erhöhte sich von 0 (BL) auf 5 (FU3). Gleichzeitig sank die Anzahl der Patienten und Patientinnen mit einem Fib4-Score von $>3,25$ von 17 auf 7 Patienten und Patientinnen.

Ähnliches zeigt sich beim APRI: Zum Zeitpunkt BL zeigte keine/r der Patientinnen oder Patienten einen APRI von $<0,5$, entsprechend dem Ausschluss einer signifikanten Fibrose. Drei Jahre später zeigten 8/19 (42%) Patienten und Patientinnen einen APRI von $<0,5$. Zum Zeitpunkt BL war bei 17/19 (90%) Patienten und Patientinnen mit einem APRI von $>1,5$ eine signifikante Fibrose (entspricht METAVIR F2) bestätigt. Nach drei Jahren reduzierte sich diese Zahl auf 3/19 (16%) Patienten und Patientinnen.

Die Mittelwerte der Thrombozytenanzahl stiegen im Vergleich zum BL-Wert von 117 ± 57 G/L auf 172 ± 133 G/L mit Werten von 157 ± 103 G/L bzw 153 ± 106 G/L nach einem bzw zwei Jahren (vergleiche auch Box Plot 2).

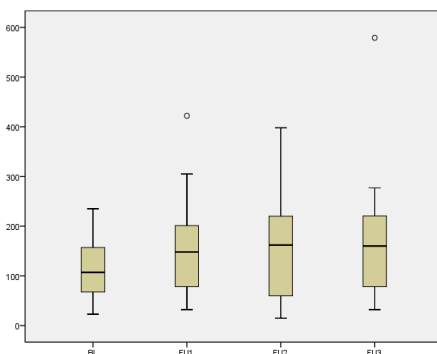
	BL	FU1	FU2	FU3
Fib4				
<1,45	9,44 ± 6,9	3,05 (0,72; 23,43)	2,31 (0,58; 19,71)	2,08 (0,74; 18,7)
1,45-3,25	0	4 (21%)	3 (16%)	5 (26%)
>3,25	2 (10%)	8 (42%)	8 (42%)	7 (37%)
	17 (90%)	7 (37%)	8 (42%)	7 (37%)
APRI				
<0,5	4,9 ± 3,4	1,0 (0,2; 5,8)	0,6 (0,2; 7,6)	0,5 (0,1; 4,8)
0,5-1,5	0	4 (21%)	7 (37%)	8 (42%)
>1,5	2 (10%)	7 (37%)	5 (26%)	8 (42%)
	17 (90%)	8 (42%)	7 (37%)	3 (16%)
Thrombozyten (G/L)	117 ± 57	157 ± 103	153 ± 106	173 ± 133

Tabelle 4: Indirekte Fibroseparameter über 3 Jahre (n = 19)



Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse nochmals in Boxplots dargestellt. Hier sind die Verringerung des APRIs bzw des Fib4-Index und der Thrombozytenanzahl auf einen Blick zu erkennen.

Box Plot 1: Fib4-Score und APRI über 3 Jahre (n = 19)



Box Plot 2: Thrombozyten über 3 Jahre (n = 19)

Varianzanalysen

Um der Alphafehlerkumulierung vorzubeugen sind die p-Werte Bonferroni-korrigiert (p^* -Wert = $p \times 6$).

- Friedmantest mit post - hoc Test: Fib4-Score

Die Varianzanalyse zeigt einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Fib4-Scores zu den Zeitpunkten BL, FU1, FU2, FU3 ($\chi^2(3) = 16,2$; $p = 0,001$). Signifikante Unterschiede ergeben sich demnach zwischen den Zeitpunkten BL / FU1 und BL / FU3 (Tabelle 5).

Tabelle 5: p^* - Werte der Fib4-Scores über 3 Jahre (n = 19)			
	FU1	FU2	FU3
BL	0,03	0,084	0,024
FU1	X	1	0,594
FU2	X	X	1

- Friedmantest mit post - hoc Test: APRl

Im Friedmanntest zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den APRIs zu den Zeitpunkten BL, FU1, FU2, FU3 ($\chi^2(3) = 23,59$; $p < 0,001$). Signifikante Unterschiede ergeben sich demnach zwischen den Zeitpunkten BL und FU1, BL und FU2 und BL und FU3 (Tabelle 6).

Tabelle 6: p^* -Werte des APRIs über 3 Jahre (n = 19)			
	FU1	FU2	FU3
BL	0,006	0,012	0,006
FU1	X	1	0,132
FU2	X	X	1

- ANOVA - Test mit post - hoc Test: Thrombozyten

Nach dem Mauchly-Test auf Sphärizität kann diese nicht angenommen werden (Mauchly-W(5) = 0,278; $p = 0,001$). Das Epsilon nach Greenhouse-Geisser ist 0,589. Nach der Greenhouse-Geisser-Korrektur ergibt sich kein signifikanter In-

nersubjekteffekt ($F(1,77; 31,81) = 4,68$, $p = 0,02$, $\eta^2 = 0,206$) bezüglich der Veränderung der Anzahl der Thrombozyten.

Paarweise Vergleiche zeigen, dass sich die Anzahl der Thrombozyten zwischen keinem der Messpunkte signifikant verändert (Tabelle 7).

Tabelle 7: p*-Werte der Thrombozyten über 3 Jahre (n = 19)			
	FU1	FU2	FU3
BL	0,546	1	0,822
FU1	X	1	1
FU2	X	X	1

SVR12 +

Tabelle 8 zeigt die Veränderung der indirekten Fibroseparameter APRI und Fib4-Score und die Veränderung der Thrombozytenanzahl im Verlauf von drei Jahren bei 14 Patienten und Patientinnen mit erreichter SVR12.

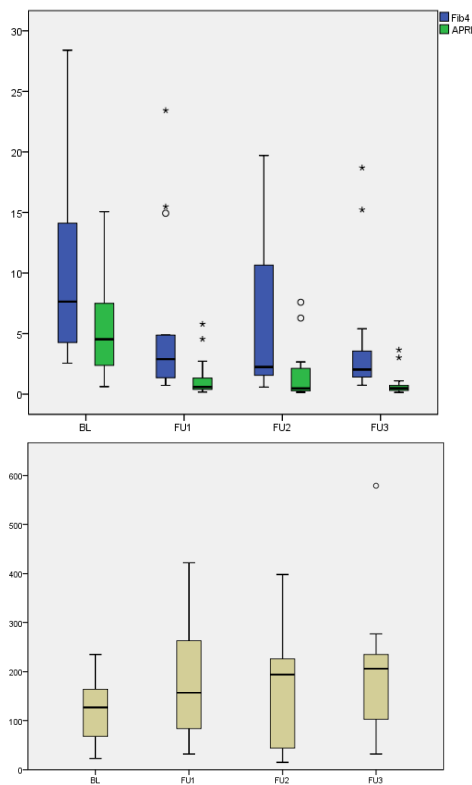
Ähnlich wie bei der Gesamtkohorte (n = 19, siehe oben) zeigt sich auch hier, dass drei Jahre nach der Therapie eine starke Reduktion der Fibroseindikatoren eintritt. Gleichsinnig reduzieren sich auch die absoluten Anzahlen von Patienten und Patientinnen mit Fib4-Scores >3,25 und APRI >1,5 von 13 bzw 12 auf 4 und 2 nach drei Jahren. Vergleichbar dazu steigert sich nach drei Jahren die Anzahl der Thrombozyten von 120 ± 61 G/l auf 196 ± 134 G/l (Tabelle 9). Die Box Plots 3 und 4 stellen die genannten Veränderungen graphisch dar.

Variable	Kennwerte
Gesamtzahl (n)	14
Alter	$64 \pm 8,2$
Männlich	9 (64,3%)
Weiblich	5 (35,7%)
Genotypen	
1	1 (7,1%)
1a	3 (21,4%)
1b	9 (64,3%)
3a	1 (7,1%)
Therapie	
SOF/DCV	6 (42,9%) über 24 Wochen
SOF/RBV	5 (35,7%) über 24 Wochen
SOF/SMV	3 (21,4%) 1 x 16 Wochen, 2 x 12 Wochen

Tabelle 8: Kennwerte 3 Jahre, SVR12+

	BL	FU1	FU2	FU3
Fib4	10,35 ± 7,61	2,86 (0,72; 23,43)	2,24 (0,58; 19,71)	2,03 (0,74; 18,7)
<1,45	0 (0%)	4 (29%)	3 (21%)	4 (29%)
1,45-3,25	1 (7%)	6 (43%)	6 (43%)	6 (43%)
>3,25	13 (93%)	4 (28%)	5 (36%)	4 (28%)
APRI	5,1 ± 3,8	0,6 (0,2; 5,8)	0,5 (0,2; 7,6)	0,5 (0,1; 3,7)
<0,5	0 (0%)	4 (29%)	7 (50%)	7 (50%)
0,5-1,5	2 (14%)	7 (50%)	3 (21%)	5 (36%)
>1,5	12 (86%)	3 (21%)	4 (29%)	2 (14%)
Thrombozyten (G/L)	120 ± 61	173 ± 113	169 ± 116	196 ± 134

Tabelle 9: Indirekte Fibroseparameter über 3 Jahre bei erreichter SVR12+ (n = 14)



Box Plot 3: Fib4-Score und APRI über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)

Box Plot 4: Thrombozyten über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)

Varianzanalysen

Um der Alphafehlerkumulierung vorzubeugen sind die p-Werte Bonferroni-korrigiert (p^* -Wert = $p \times 6$).

- Friedmantest mit post - hoc Test: Fib4 - Score

Bei der durchgeführten Varianzanalyse nach Friedman ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Fib4-Scores bei SVR12+ ($\chi^2(3) = 16,5$; $p = 0,001$). Signifikante Unterschiede zeigen sich also zwischen BL/FU1 und BL/FU3.

Tabelle 10: p^* - Werte der Fib4-Scores über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)

	FU1	FU2	FU3
BL	0,024	0,06	0,03
FU1	X	1	1
FU2	X	X	1

- Friedmantest mit post-hoc Test: APRl

Vergleichbar zum Fib4-Score zeigt sich auch hier ein signifikanter Unterschied zwischen den APRIs zu den einzelnen Messpunkten bei SVR12+ ($\chi^2(3) = 19,37$; $p < 0,001$). Signifikante Unterschiede ergeben sich Bonferroni-korrigiert zwischen den Zeitpunkten BL/FU1, BL/FU2 und BL/FU3.

Tabelle 11: p^* - Werte der APRIs über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)

	FU1	FU2	FU3
BL	0,012	0,03	0,006
FU1	X	1	0,654
FU2	X	X	1

- ANOVA-Test mit post-hoc Test: Thrombozyten

Dem Ergebnis des Mauchly-Test auf Sphärizität folgend, muss diese abgelehnt werden (Mauchly-W(5) = 0,313; $p = 0,019$). Nach der Greenhouse-Geisser-Korrektur ergibt sich ein Epsilon von 0,621. Folglich zeigt sich kein signifikanter Innersubjekteffekt ($F(1,86; 24,2) = 5,32$, $p = 0,14$; partielles $\eta^2 = 0,387$) bezüglich der Veränderung der Anzahl der Thrombozyten.

Paarweise Vergleiche zeigen, dass sich die Anzahl der Thrombozyten zwischen keinem der Messpunkte signifikant verändert.

Tabelle 12: p*-Werte der Thrombozytenanzahl über 3 Jahre bei SVR12+ (n = 14)

	FU1	FU2	FU3
BL	0,09	1	1
FU1	X	1	0,846
FU2	X	X	1

3.3.1.2. Einjahresverlauf

Gesamt

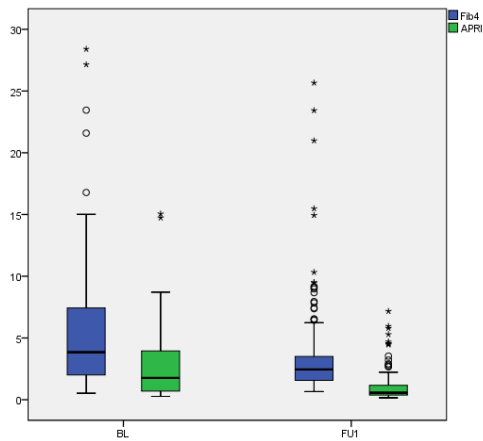
In Tabelle 13 und in den nachfolgenden Box Plots 5 und 6 werden die Veränderungen der Laborwerte im Verlauf eines Jahres bei 133 Patienten und Patientinnen mit mindestens einem Jahr Follow-up-Zeitraum dargestellt.

Im Verlauf des ersten Jahres nach Therapieende verminderte sich die Anzahl der Patienten und Patientinnen mit einem Fib4-Score >3,25 von 73/133 auf 37/133 während gleichzeitig die Rate der Patienten und Patientinnen mit einem Fib4-Score <1,45 von 13/133 auf 28/133 anstieg. Der Median des Fib4-Scores verringerte sich um 36% des Ausgangswertes.

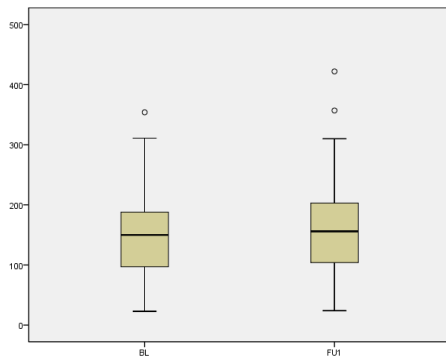
Der APRI verhielt sich ähnlich: von 74/133 Patienten und Patientinnen mit einem APRI >1,5 konnten nach einem Jahr noch 27/133 diesen Wert erreichen. Die Anzahl der Patienten und Patientinnen mit Werten <0,5 stieg hingegen von 17/133 auf 54/133. In Prozent ausgedrückt, ist das eine Verringerung des Medians um 68% des Ausgangswertes. Die Thrombozytenanzahl stieg von 148 ± 67 G/L auf 159 ± 73 G/L (p = 0,01). Der Mittelwert stieg um 8% des Ausgangswertes.

	BL	FU1	p-Wert
Fib4			
<1,45	3,85 (0,52; 28,4)	2,45 (0,66; 25,66)	<0,001
1,45-3,25	13 (10%)	28 (21%)	
>3,25	47 (35%) 73 (55%)	68 (51%) 37 (28%)	
APRI			
<0,5	1,8 (0,3; 15,1)	0,6 (0,2; 7,2)	<0,001
0,5-1,5	17 (13%)	54 (41%)	
>1,5	42 (32%) 74 (55%)	52 (39%) 27 (20%)	
Thrombozyten (G/L)	148 ± 67	159 ± 73	0,01

Tabelle 13: Indirekte Fibrosemarker über 1 Jahr (n = 133)



Box Plot 5: Fib4-Score und APRI über 1 Jahre (n = 133)



Box Plot 6: Thrombozyten über 1 Jahr (n = 133)

SVR12+

Die folgende Tabelle 15 und Box Plots 7 und 8 zeigen die Veränderung der indirekten Fibroseparameter inklusive p-Werte der Veränderungen nach einem Jahr bei positiver SVR12. Der Median des Fib4-Scores sank um 1,1 Punkte von 3,3 auf 2,22 Punkte ($p < 0,001$). Auch der APRI reduzierte sich um einen Punkt von 1,5 auf 0,5 Punkte ($p < 0,001$). Die Thrombozyten stiegen um zirka 11 G/L von 155 ± 67 auf 167 ± 69 ($p = 0,006$).

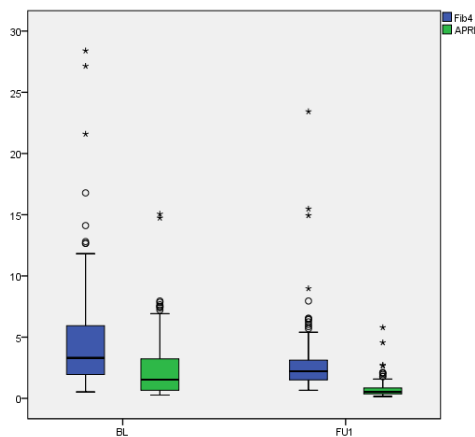
Variable	Kennwerte
Gesamtanzahl	112
Alter	$61 \pm 11,4$
Männlich	46 (41%)
Weiblich	66 (59%)
Genotyp	
1	11 (10%)
1a	23 (20%)
1b	61 (55%)
1c	1 (1%)
2a	2 (2%)
2b	1 (1%)
3	3 (3%)
3a	8 (7%)
4	2 (2%)

Therapie	
SOF/DCV	18 (16%)
SOF/DCV + RBV	3 (3%)
SOF/LDV	34 (30%)
SOF/LDV + RBV	11 (10%)
OBV/PTV/DSV	19 (17%)
OBV/PTV/DVS + RBV	8 (7%)
SOF/SMV	6 (5%)
SOF/RBV	12 (11%)
4-DAA	1 (1%)

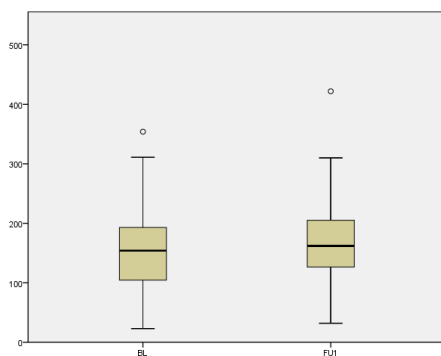
Tabelle 14: Kennwerte 1 Jahr, SVR12+ (n=112)

	BL	FU1	p-Wert
Fib4	3,3 (0,52; 28,4)	2,22 (0,66; 23,43)	<0,001
<1,45	12 (11%)	25 (22%)	
1,45-3,25	43 (38%)	64 (57%)	
>3,25	57 (51%)	23 (21%)	
APRI	1,5 (0,3; 15,1)	0,5 (0,2; 5,8)	<0,001
<0,5	15 (13%)	51 (45%)	
0,5-1,5	40 (36%)	50 (45%)	
>1,5	57 (51%)	11 (10%)	
Thrombozyten (G/L)	155 ± 67	167 ± 69	0,006

Tabelle 15: Fibroseparameter und TZ über 1 Jahr bei SVR12+ (n = 112)



Box Plot 7: Fib4-Score und APRI über 1 Jahr bei SVR12+ (n = 112)



Box Plot 8: Thrombozytenanzahl über 1 Jahr bei SVR12+ (n = 112)

Zusammenfassend zeigt die Fibrose eine Tendenz zur Regression. Der größte Unterschied der indirekten Fibroseparameter besteht im ersten Jahr nach Therapiebeginn. Bei den Thrombozytenzahlen ist das Bild ähnlich. Die größten Verbesserungen treten im ersten Jahr nach Therapiebeginn auf.

3.3.2. Fibroscan

3.3.2.1. Zweijahresverlauf

SVR12+

Tabelle 17 zeigt die Messwerte der Fibroscan-Untersuchung von 7 Patienten und Patientinnen mit erreichter SVR12. FS-Messwerte von <7 kPa wurden als F0/F1 angenommen, 7-9,5 kPa als F2, 9,5 – 12,5 kPa als F3 und Messergebnisse >12,5 kPa als F4. Die Steifigkeitswerte der Leber sanken von $11,5 \pm 6,6$ kPa (METAVIR F3) auf $7,1 \pm 3,1$ kPa (METAVIR F2) zwei Jahre später, das entspricht einer Verbesserung des Mittelwertes um 38%. Auch in absoluten Zahlen lässt sich eine Verbesserung sehen. Die Anzahl von Patienten und Patientinnen mit F0/1 steigt im Verlauf von 2 auf 4 Patienten und Patientinnen, während gleichzeitig die Anzahl von Patienten und Patientinnen mit einer Fibrose F4 von 3 auf 1 sinkt.

Variable	Kennwerte
Gesamtanzahl	7
Alter	$57 \pm 10,4$
Männlich	6 (86%)
Weiblich	1 (14%)
Genotypen	
1	1 (14%)
1b	5 (72%)
4	1 (14%)
Therapie	
OBV/PTV/DSV	4 (57%)
OBV/PTV/DSV + RBV	1 (14%)
LDV/SOF	2 (29%)

Tabelle 16: Kennwerte Fibroscan 2 Jahre mit SVR12+ (n=7)

	BL	FU1	FU2
kPa	$11,5 \pm 6,6$	$8,6 \pm 4$	$7,1 \pm 3,1$
F0/F1	2 (29%)	3 (43%)	4 (57%)
F2	1 (14%)	0 (0%)	2 (29%)
F3	1 (14%)	3 (43%)	0 (0%)
F4	3 (43%)	1 (14%)	1 (14%)
IQR/Median	$11,3 \pm 5,2$	11 (5; 32)	15 (8; 42)

Tabelle 17: Fibroscan-Messwerte im 2-Jahresverlauf mit SVR12+ (n = 7)

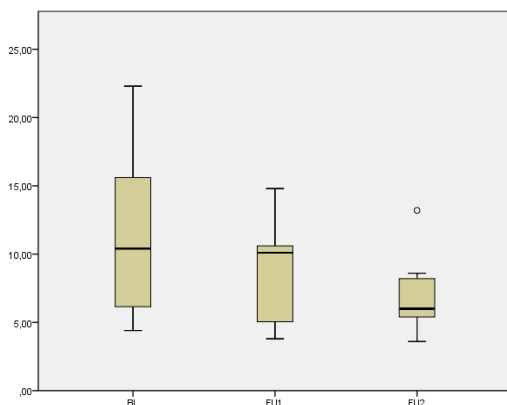
Varianzanalysen:

Die p-Werte in der folgende Tabelle 19 sind nach Bonferroni korrigiert. Sie sind mit der Anzahl der Tests multipliziert, um der Alphafehlerkumulierung vorzubeugen ($p^* = p \times 3$).

- ANOVA mit post - hoc Test: Fibroscan

Dem Ergebnis des Mauchly-Test auf Sphärizität folgend, wird diese angenommen (Mauchly-W(2) = 0,582; $p = 0,259$). Es zeigt sich ein signifikanter Innersubjekteffekt ($F(2; 12) = 7,22$, $p = 0,009$; partielles $\eta^2 = 0,546$) bezüglich der Veränderung der Steifigkeitswerte im Fibroscan.

Tabelle 18: p*-Werte der Fibroscans mit SVR12+ (n = 7)		
FS kPa	FU1	FU2
BL	0,168	0,066
FU1	X	0,297



Box Plot 9: FS-Werte in kPa über 2 Jahre mit SVR12+ (n = 7)

3.3.2.2. *Einjahresverlauf*

Tabelle 21 zeigt den Einjahresverlauf der Fibroscanmesswerte bei 32 Patienten und Patientinnen mit Follow-up von einem Jahr und erreichter SVR 12. Die Einzelheiten der Kohorte zeigt Tabelle 20.

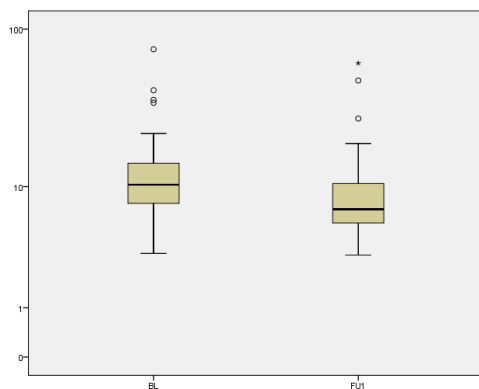
Es zeigt sich eine statistisch signifikante Veränderung der Werte. Die Mediane sinken von 10,3 kPa auf 6,7 kPa ($p = 0,001$). Box Plot 10 stellt den erhobenen Unterschied graphisch dar. In der METAVIR-Einteilung entspricht das einer Fibroseregression von F3 auf F0/1.

Variable	Kennwerte
Gesamtanzahl	32
Alter	58 ± 10,4
Männlich	19 (59%)
Weiblich	13 (41%)
Genotyp	
1	3 (9%)
1a	6 (19%)
1b	17 (53%)
1c	1 (3%)
2a	1 (3%)
2b	1 (3%)
3a	1 (3%)
4	2 (6%)
Therapie	
SOF/RBV	1 (3%)
SOF/LDV	8 (25%)
SOF/LDV + RBV	5 (16%)
OBV/PTV/DSV	10 (31%)
OBV/PTV/DSV + RBV	7 (22%)
4-DAA	1 (3%)

Tabelle 19: Kennwerte Fibroscan 1 Jahr mit SVR12+ (n=32)

	BL	FU1	p-Wert
kPa	10,4 (3; 75)	6,7 (3,2; 61,5)	0,001
F0/F1	5 (16%)	17 (53%)	
F2	10 (31%)	2 (6%)	
F3	5 (16%)	7 (22%)	
F4	12 (38%)	6 (19%)	
IQR/Median	14,2 ± 7,3	15 (5; 33)	

Tabelle 20: Fibroscan-Messwerte im Einjahresverlauf mit SVR12+ (n = 32)



Box Plot 10: FS-Werte in kPa bei SVR12+ (n = 32)

3.3.2.3. Liniendiagramm

Folgendes Liniendiagramm (Abbildung 11) zeigt eine logarithmierte Darstellung der Veränderungen der FS-Messwerte in kPa bei 32 Patienten über einem Jahr und bei 7 Patienten über 2 Jahre. Alle Patienten haben SVR12 erreicht.

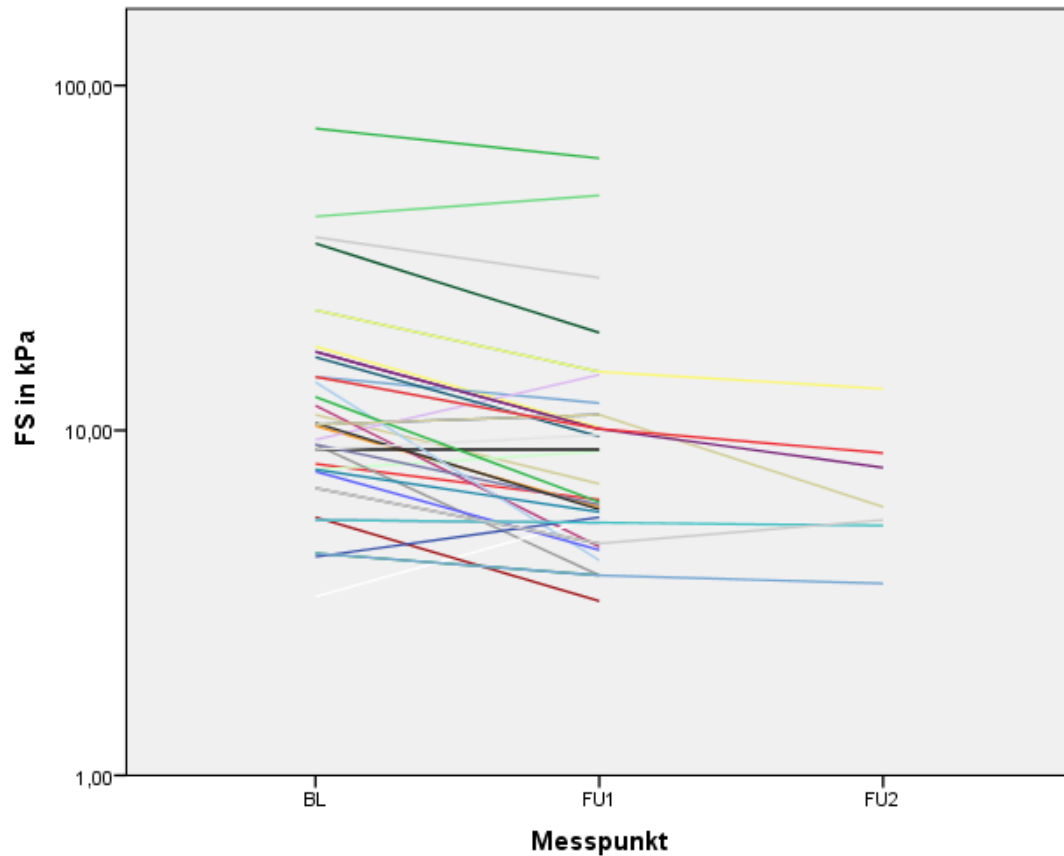


Abbildung 11: Veränderung der FS-Messwerte (kPa) über 2 Jahre bei SVR12+

4. Diskussion

4.1. HCC-Rate nach DAA-Therapie und Peg-Inf-Therapie

Seit der Zulassung der aktuellen Generation der DAAs ist die Heilungsrate bei HCV-Infektion, verschiedenen Studien zufolge (vergl Kapitel 1.3.2.), größer als 95%. Immer wieder finden sich jedoch Hinweise, die zeigen, dass die DAAs einerseits sehr gut verträglich sind, das Virus effektiv eliminieren und so die chronische Leberentzündung heilen können, aber andererseits die DAA-Therapie mit einer höheren Rate an hepatocellulären Karzinomen einhergehen (51,52).

Unsere Arbeit zeigt De-novo-HCC-Raten nach einer DAA-basierten Therapie von 3/78 Patienten und Patientinnen [2,4 HCCs pro 100 Patientenjahre und Patientinnenjahre, Follow-up pro Patient und Patientinnen 1,4 (1; 3,1) Jahre] und bei einer Interferon-basierten HCV-Therapie von 3/31 Patienten und Patientinnen (1,5 HCCs pro 100 Patienten- und Patientinnenjahre, Follow-up pro Patient oder Patientin $6,3 \pm 3,5$ Jahre). Der Fisher's exacter Test ergibt bei zweiseitiger Testung einen p-Wert von 0,349 und zeigt mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% keinen Zusammenhang zwischen der HCC-Inzidenz und dem Therapieregime.

Es konnte demnach nicht nachgewiesen werden, dass sich nach der DAA-Therapie eine höhere HCC-Inzidenz im Follow-up zeigt als nach Peg-Inf-Therapie.

HCC-Rate:

In anderen Arbeiten werden HCC-Raten nicht einheitlich angegeben. Beispielsweise berichten Issachar et al (52) 2017 in einer retrospektiven singlecenter-Studie mit 273 Patienten und Patientinnen 6 neu aufgetretene HCCs und 3 rezidivierende HCCs während eines Follow-ups von 1,5 Jahren. In der Konklusion wird von einem gesteigerten HCC-Risiko innerhalb der ersten 18 Monate nach DAA-Therapie berichtet. Allerdings ist nicht zu eruieren, wie sich die Gesamtheit der 273 Patienten und Patientinnen zusammensetzt, es ist lediglich beschrieben, dass es sich um Patienten und Patientinnen mit und ohne HCC in der Vorgeschichte handelt, die Verteilung der Patienten und Patientinnen ist nicht beschrieben.

Auch Conti et al (51) berichten von einer De-novo-HCC-Rate von 6,3/100 py mit 285 Zirrhosepatienten (METAVIR >F4 bzw Elastographie >12 kPa) bei einem Follow-up-Zeitraum von 6 Monaten. Laut dieser Arbeit kann eine DAA-Therapie das Risiko, ein de novo HCC zu entwickeln, nicht senken.

Im Gegensatz dazu konnten Cheung et al (53) 2016 keinen Nachweis der Steigerung einer HCC-Rate nach DAA-Therapie erbringen. Ihre Ergebnisse aus der prospektiven Analyse von 317 Patienten und Patientinnen mit dekompensierter Leberzirrhose bei erreichter SVR24 sind 3,8 HCCs/100 py.

Die beiden letztgenannten Arbeiten unterscheiden sich deutlich in ihren Ergebnissen, obwohl die Gesamtanzahl der Patienten und der Zirrhosegrad ihrer Kollektive ähnlich sind. Eine mögliche Erklärung dafür könnte in der unterschiedlichen Anzahl von Patienten und Patientinnen mit HCC in der Vorgeschichte sein (Conti et al: 59/285 Patienten und Patientinnen, Cheung et al: 29/317 Patienten und Patientinnen).

Bei der sehr großen Kohorte (3447 Patienten und Patientinnen) von Calvaruso et al (54) konnte 2017 eine HCC-Rate von 2,25 HCCs/100 py erhoben werden. Den Autoren zufolge ist das HCC-Risiko in der DAA-Kohorte mit jenem der Peg-Inf-Kohorte vergleichbar.

Nuñez et al (55) fanden 2017 eine HCC-Inzidenzrate von 1,9 HCCs/100 Patientenjahre. Laut dieser Arbeit steigert die DAA-Therapie die HCC-Inzidenz nicht. Diese beiden Arbeiten zeigen ähnliche HCC-Raten wie unsere Arbeit.

Die Auswertung der Befunde von 20.200 Patientinnen und Patienten von Reddy et al (56) zeigte nach DAA-Therapie eine ähnliche HCC-Inzidenz verglichen mit Patienten und Patientinnen nach Peg-Therapie.

Ebenso zeigte die Metaanalyse von 41 Studien (n = 13.875 Patienten) von Waziry et al (57) keinen Beweis für einen Unterschied im Auftreten (weder de-novo noch rekurrent) von HCCs zwischen Patienten und Patientinnen nach DAA-Therapie und Peg-Inf-Therapie.

Es wurden auch Arbeiten publiziert, die eine niedrigere HCC-Rate nach DAA-Therapie zeigten. Chiriac et al (58) fanden in ihrer Arbeit 2017 mit 0,8 HCCs/100 Patientenjahre eine sehr niedrige HCC-Rate. Diese niedrige Rate ist vermutlich einer sehr strengen Auswahl der Patienten und Patientinnen geschuldet. So wurden die Patienten und Patientinnen vor Einschluss in die Studie einer genauen Voruntersuchung (inkl CT oder MRI) und Beurteilung der AFP-Werte unterzogen und somit wurde die Vortestwahrscheinlichkeit eines HCCs drastisch verringert.

Nach Durchsicht verschiedener Arbeiten zeigen sich unterschiedliche HCC-Raten nach der Therapie mit DAAs. Die einzelnen Arbeiten sind schwer miteinander zu vergleichen, da sie auf unterschiedlichen Eckpunkten basieren. So wurde beispielsweise bei Chiriac et al (58) eine sehr strenge Auswahl der Patienten und Patientinnen mit Voruntersuchungen inkl Bildgebung und AFP-Wert-Beurteilung getroffen. Andere Arbeiten werten nur vergleichsweise relativ kleine Kohorten aus (51-53,58). Studien mit sehr großen Patienten- bzw Patientinnenzahlen [Reddy et al (56), Calvaruso et al (54)] fanden keine Unterschiede in der Häufigkeit eines HCCs zwischen der DAA- und der Peg-Inf-Therapie.

Die unterschiedlichen Konklusionen der einzelnen Arbeiten sind zum Teil auf unterschiedliche Studiendesigns und Rahmenbedingungen zurückzuführen. Eine andere Erklärung kann auf zellbiologischer Ebene gefunden werden.

So können beispielweise DAAs auch bei Patienten und Patientinnen mit fortgeschrittener Leberzirrhose angewendet werden. Die Behandlung schwer kranker Patienten und Patientinnen mit einer dekompensierten Leberzirrhose oder einem Child-Pugh-Score von >5 Punkten (Child-Pugh B/C) war mit Peginterferon nicht zugelassen (59). In ihrem Letter to the Editor führten Kozbial et al (60) als Erklärung für eine eventuelle höhere HCC-Rate nach DAA-Therapien die veränderte Immunantwort nach dem raschen Sinken der Viruslast bzw den Wegfall der antiproliferativen Wirkung des Interferons als Form der körpereigenen Antwort auf die Virusinfektion an. Andererseits erwähnen sie auch einen möglichen Einfluss von miR-122 (Micro-RNA).

4.2. Fibroseregression nach DAA-Therapie

4.2.1. Indirekte Fibroseparameter: APRI, Fib4-Score

Die Literatur zeigt deutlich, dass eine Heilung von Hepatitis C mit interferonbasierten Regimen eine Verminderung der Lebersteifigkeit vor allem im ersten Jahr nach der Therapie mit sich bringt (61). Bezüglich der aktuellen DAA-Therapien gibt es allerdings wenig Daten zur Fibroseregression nach der Therapie. Vor allem Arbeiten mit mehreren Jahren Follow-up-Zeitraum und Arbeiten, die die Veränderung der Lebersteifigkeit mit dem Fib4-Score oder dem APRI darstellen, finden sich kaum.

Anhand unserer Ergebnisse beim Fib4-Score und APRI zeigt sich eine deutliche Regression der Fibrose, vor allem im ersten Jahr nach Therapiebeginn, und bei Patienten und Patientinnen, die SVR12 erreicht haben (vergl 3.3.1.2). Im ersten Jahr reduzierte sich der Fib4-Score um 36% und der APRI um 68% ihrer Ausgangswerte.

Vergleicht man die Ausgangswerte mit den Messwerten 3 Jahre nach Therapiebeginn zeigt sich ein noch deutlicheres Bild (vergl. 3.3.1.1.).

In einer Schweizer Arbeit konnte eine ähnliche Verbesserung gezeigt werden. Bachofner et al (62) zeigten anhand des Fib4-Scores und des APRI eine signifikante Regression der Fibrose zwischen Beginn der DAA-Therapie und 12 Wochen nach Ende der Therapie. Der Fib4-Score verbesserte sich um 29% und APRI um 61%.

Arbeiten mit einem ähnlich langen Follow-up-Zeitraum, wie wir ihn beobachtet haben, finden sich nicht.

4.2.2. Fibroscan

In unseren 2-Jahres-Follow-up-Daten zeigt sich eine Verbesserung der Lebersteifigkeit im Mittel um eine METAVIR-Stufe oder um 4,4 kPa über zwei Jahre. Der Unterschied ist bei dieser kleinen Gruppe (n = 7) nach der Korrektur nach Bonferroni ($p^* = 0,016$) höchstens grenzwertig signifikant ($p = 0,022$).

In der Einjahres-Follow-up-Gruppe zeigt sich nach einem Jahr ein in absoluten Zahlen ähnlich großer Effekt (Median: -3,3 kPa, $p = 0,001$) wie in der Zwei-Jahres-Follow-up-Gruppe. Es zeigt sich also, dass der Großteil der Fibroseregession in einem kurzen Zeitraum nach der erfolgreichen Therapie geschieht. Der Effekt im darauffolgenden Jahr fällt sehr gering und statistisch nicht signifikant aus ($p = 0,099$).

Der loss of Follow-up war allerdings beträchtlich. Nur 7 bzw 33 Patienten und Patientinnen konnten in ihrem jeweiligen Follow-up-Zeitraum alle erforderlichen Untersuchungen erfüllen. Die unterschiedliche Kohortengröße (FU1: n = 33, FU2: n = 7) macht einen Vergleich schwierig.

Chan et al (63) beschreiben in ihrer Arbeit aus 2017 einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Fibroscanergebnissen (Δ Median = -2,1 kPa, $p < 0,0001$) zum Zeitpunkt BL und 12 Monate nach Ende der Behandlung. Ihre Kohorte war aber mit 70 Patienten und Patientinnen ca doppelt bzw 10-mal so groß wie unsere.

Dolmazashvili et al (64) zeigten eine statistisch signifikante Fibroseregession zwischen Baseline und EOT (end of treatment) und zwischen EOT und 12 Wochen nach

Therapieende. Der Unterschied zwischen 12 Wochen nach der Therapie und 24 Wochen nach der Therapie zeigte keine statistische Signifikanz.

Unsere Arbeit und die beiden zitierten beschreiben also einen ähnlichen Effekt: Die Fibrose bzw Zirrhose reduziert sich vor allem in der ersten Zeit nach einer DAA-Therapie, vor allem wenn diese Therapie erfolgreich war. Ein Grund dafür mag sein, dass durch die Reduktion der Entzündung vor allem erst kurz bestehende Reticulinfasern und das Entzündungsinfiltrat reduziert werden. Organisierte Fibrose mit Querverbindungen zwischen den Kollagenfasern ist nicht reversibel (13). Inwieweit sich die Fibrose nach längeren Zeiträumen reduziert bzw wie sich diese über Jahre nach der Therapie entwickelt, sollte Gegenstand zukünftiger Arbeiten mit langem Follow-up sein.

Zusammenfassung

Untersuchungen zeigen, dass der Fibroscan und auch die indirekten Fibroseparameter Fib4-Score (21) und APRI (19,20) den Fibrosegrad gut abbilden. Allerdings verbreitet sich die Meinung, dass der Fibroscan die Fibroseregression nicht richtig darstellt und es wurde postuliert, dass dieser die Fibroseregression überschätzt (28,29). Eine mögliche Begründung mag sein, dass der Fibroscan eher die Reduktion des Entzündungsinfiltrates misst als die tatsächliche Fibroseregression. Ob und wie stark die Fibroseregression durch den Fib4-Score und durch den APRI nach einer DAA-Therapie ähnlich überschätzt wird, wie es manche Arbeiten dem Fibroscan nachweisen, sollte ebenfalls noch genauer untersucht werden. Einen Hinweis dafür liefert die Tatsache, dass sich die indirekten Fibroseparameter Fib4-Score und APRI anhand von ALT und AST berechnen. Bekanntlich sind diese Aminotransferasen Entzündungs- und Schädigungsparameter der Leber. Diesem Gedanken folgend, ist es naheliegend, dass APRI und Fib4-Score die Fibroseregression zu Beginn der Therapie ähnlich dem Fibroscan überschätzen.

Abschließend bleibt zu sagen, dass mit den DAAs eine hervorragende Therapiemöglichkeit für die chronische Hepatitis C gegeben ist. Bisherige Forschungsdaten zeigen, dass zum einen die DAA-Therapie sehr gut funktioniert und sehr gut verträglich ist und zum anderen, dass durch eine effektive antivirale Therapie sowohl die Leberfibrose als auch die Leberzirrhose zu einem gewissen Grad reversibel sind. Dadurch

wird nicht nur die Schwere der Lebererkrankung reduziert und Folgeerscheinungen hintangehalten, sondern es wird auch eine Leberzirrhose und damit eine Präkanzerose behandelt. Diese Ergebnisse sollten - vor allem aus medizinischem Blickwinkel - die Bemühungen bestärken jedem HCV-Infizierten - unabhängig von Dauer und Art seiner Infektion oder Ausmaß des Leberschadens - eine frühestmöglich antivirale Therapie zukommen zu lassen.

4.3. Limitationen

Studiendesign und Anzahl der Patienten:

Die Tatsache, dass die hier durchgeführte Arbeit auf einer retrospektiven Auswertung beruht, macht die Datenerhebung bzw –auswertung schwieriger. Mitunter waren die Datensätze der einzelnen Patienten und Patientinnen nicht vollständig. Aus diesem Grund mussten einige Patienten und Patientinnen ausgeschlossen werden Aufgrund der daraus folgenden geringen Patientenanzahl, vor allem für die Auswertung der Daten nach zwei bzw drei Jahren, ergibt sich eine limitierte Aussagekraft unserer Daten. Für zukünftige Datenauswertungen und Untersuchungen auf diesem Gebiet würde sich eine langfristige prospektive Datenerhebung bezahlt machen.

Follow-up:

Die Kanzerogenese bei Leberzirrhose ist ein stufenweiser Prozess, der eine lange und schwere Erkrankung der Leber voraussetzt. Der Follow-up-Zeitraum unserer DAA-Kohorte ist mit einer Dauer von 1,38 (1; 3,08) Jahren für die Entstehung eines HCCs recht kurz. Dieser Zustand ist der Tatsache geschuldet, dass die DAAs erst seit 2014 zugelassen sind, also im Jahr 2017 maximal ein Follow-up von 3 Jahren pro Patient und Patientin möglich ist. Um die längerfristigen Auswirkungen der DAA-Therapie auf die Kanzerogene und HCC-Inzidenz zu untersuchen, sind Arbeiten zu einem späteren Zeitpunkt, also mit längerem Follow-up, notwendig. Zusätzlich wäre es sinnvoll bei zukünftigen Arbeiten die Gesamtdauer der chronischen Leberentzündung anzugeben, also die Erstdiagnose der Hepatitis C, um den Einfluss der Dauer der Erkrankung gegen den Einfluss der DAAs abwägen zu können.

Confounder:

In unserer Arbeit wurden andere potenzielle Einflüsse auf die Entstehung einer Leberzirrhose nicht explizit erhoben und somit auch nicht kontrolliert. Es wurden lediglich die HCC-Raten und der Grad der Fibrose zu bestimmten Zeitpunkten nach DAA- bzw Peg-Inf-Therapie beurteilt. Andere Einflussfaktoren, wie eine Diabetes mellitus-Erkrankung, Body mass Index, Alkoholkonsum oder die Dauer der Hepatitis-C-Erkrankung und somit der chronischen Entzündung der Leber wurden nicht erhoben und flossen nicht in die Beurteilung mit ein. Eine Erhebung dieser Faktoren mit entsprechender Kontrolle der Confounder könnte die Aussagekraft einer solchen Arbeit steigern.

5. Literatur

- (1) Milde-Busch A. Robert Koch Institut - Ratgeber für Ärzte - Hepatitis C. 2012; Available at: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_HepatitisC.html. Accessed Februar, 2017.
- (2) Sarrazin C, Berg T, Ross RS, Schrimacher P, Wedemeyer H, Neumann U, et al. Update der S3-Leitlinie Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Hepatitis-C-Virus(HCV)-Infektion. Z Gastroenterol 2010 Jänner(48):289-351.
- (3) Stauber RE, Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. World J Gastroenterol 2007 August;13(32):4287-4294.
- (4) Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated Hepatitis not due to Viral Hepatitis Type A or B. N Engl J Med 1975(292):767-770.
- (5) Farci P. Milestones in liver disease: Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Journal of Hepatology 2002(36):582-585.
- (6) Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. Journal of Hepatology 2014 November(61):45-57.
- (7) Suerbaum S, Hahn H, Burchard GD, Kaufmann SH, Schulz TF editors. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 7. Auflage ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag GmbH; 2012.
- (8) Seng-Lai T editor. Hepatitis C Viruses Genomes and Molecular Biology. Norfolk, UK: Horizon Bioscience; 2006.
- (9) Pockros PJ, Di Bisceglie AM, Bloom A. Up To Date - Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/direct-acting-antivirals-for-the-treatment-of-hepatitis-c-virus-infection>. Accessed 18.02.2017, 2017.
- (10) Campana L, Iredale JP. Regression of Liver Fibrosis. Sem Liver Dis 2017;37(01):1-84.
- (11) Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H, Höfler G, Kreipe H. Pathologie. 5th ed. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH; 2012.
- (12) Tacke F, Weiskirchen R. Pathophysiologie der Leberfibrose - Aktuelle Aspekte und neue Ansätze für antifibrotische Therapie. Internist 2009 Dezember;51:21-29.
- (13) Saffioti F, Pinzani M. Development and Regression of Cirrhosis. Dig Dis 2016(34):374-381.

- (14) Anderhuber F, Pera F, Streicher J, Waldeyer - Anatomie des Menschen. 19th ed. Berlin/Boston: De Gryter; 2012.
- (15) Rozario R, Ramakrishna B. Histopathological study of chronic hepatitis B and C: a comparison of two scoring systems. *J Hepatol* 2003;38:223-229.
- (16) Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003 Dezember;38:1449-1457.
- (17) Colloredo G, Guido M, Sonzogni A, Leandro G. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease. *J Hepatol* 2003 August;39:239-244.
- (18) Wai CT, Greenon JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol* 2003 August;38(2):518-526.
- (19) Lackner C, Struber G, Liegl B, Leibl B, Leibl S, Ofner P, et al. Comparison and validation of simple noninvasive tests for prediction of fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005 Juni;6(41):1376-1382.
- (20) Cales P, Oberti F, Michalak S, Hubert-Fouchard I, Rousselet MC, Konate A, et al. A novel panel of blood markers to assess the degree of liver fibrosis. *Hepatology* 2005 Dezember;6(42):1373-1381.
- (21) Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* 2006 Juni;6(43):1317-1325.
- (22) McHutchison JG, Blatt LM, de Medina M, Craig JR, Conrad A, Schiff ER, et al. Measurement of serum hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C and its relationship to liver histology. *J Gastroenterol Hepatol* 2000(15):945-951.
- (23) Guechot J, Laudat A, Loria A, Serfaty L, Poupon R, Giboudeau J. Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis C evaluated by ROC curve analysis. *Clin Chem* 1996(42):558-563.
- (24) Serejo F, Costa A, Oliveira AG, Ramalho F, Batista A, De Mouran MC. Alpha-interferon improves liver fibrosis in chronic hepatitis C: clinical significance of the serum N-terminal propeptide of procollagen type III. *Dig Dis Sci* 2001(46):1984-1689.
- (25) Saitou Y, Shiraki K, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Kawakita T, Yamamoto N, et al. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease. *World J Gastroenterol* 2005(11):476-481.
- (26) Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fourniert C, Mal F, et al. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol* 2003(29):1705-1713.

- (27) Kettaneh A, Marcellin P, Douvin C, Poupon R, Ziol M, Beaugrand M, et al. Features associated with success rate and performance of FibroScan measurements for the diagnosis of cirrhosis in HCV patients: a prospective study of 935 Patients. *Hepatol* 2007(46):628-634.
- (28) D'Ambrosio R, Aghemo A, Fraquelli M, Rumi MG, Donato MF, Paradis V, et al. The diagnostic accuracy of Fibroscan® for cirrhosis is influenced by liver morphometry in HCV patients with a sustained virological response. *J Hepatol* 2013 August(59):251-256.
- (29) Pockros PJ, Crissien-Martinez AM, Frenette C, Skillin C, Bao F, Du E, et al. LBP-530: Degree of liver fibrosis regression predicted by transient elastography after cure of chronic hepatitis C with direct acting antivirals is overestimated but confirmed by liver biopsy. *J Hepatol* 2017;66:108.
- (30) Friedrich-Rust M, Ong MF, Herrmann E, Dries V, Samaras P, Zeuzem S, et al. Real-time elastography for noninvasive assessment of liver fibrosis in chronic viral hepatitis. *AJR Am J Roentgenol* 2007(188):758-764.
- (31) Aguirre DA, Sarrazin C, Alpert E, Hassanein TI, Sirlin CB. Liver fibrosis: noninvasive diagnosis with double contrast material-enhanced MR imaging. *Radiology* 2006(239):425-437.
- (32) Hoshida Y, Fuchs BC, Bardeesy N, Baumert TF, Chung RT. Pathogenesis and prevention of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma. *Journal of Hepatology* 2014 November 2014;61(1):S79-S90.
- (33) Fuertes BM, Woo SR, Burnett B, Fu YX, Gajewski TF. Type I interferon response and innate immune sensing of cancer. *Trend Immunol* 2013(34):67-73.
- (34) Hof H, Dörries R, Geginat G, Schlüter D, Wendt C editors. *Duale Reihe - Medizinische Mikrobiologie*. 6. Auflage ed. Stuttgart, New York, Delhi, Rio: Thieme Verlagsgesellschaft; 2017.
- (35) Aktories K, Förstermann U, Hofmann F, Starke K editors. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. 11 Auflage ed. München: Urban & Fischer Verlag; 2013.
- (36) European Medicines Agency. Produktinformation Victrelis. 29.05.2017; Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002332/WC500109786.pdf. Accessed 14.09.2017, 2017.
- (37) European Medicines Agency. Produktinformation Incivo. 06.10.2016; Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002313/WC500115529.pdf. Accessed 14.09.2017, 2017.
- (38) Sarrazin C. Drug Report - Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir + Dasabuvir. 2015 13/2015.

- (39) Wirthumer-Hoche C. AGES Medizinmarktaufsicht - Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen. Available at: https://aspregister.basg.gv.at/aspregister/faces/aspregister.jspx?_afLoop=44750667372086713&_afWindowMode=0&_adf.ctrl-state=otu9rnyab_4. Accessed 19.02.2017, 2017.
- (40) Zeuzem S. Therapieoptionen bei Hepatitis C. Dtsch Arztebl International 2017 January 9:11-21.
- (41) Zeuzem S, Ghalib R, Reddy R, Pockros PJ, Ben Ari Z, Zhao Y, et al. Grazoprevir–Elbasvir Combination Therapy for Treatment-Naive Cirrhotic and Non-cirrhotic Patients With Chronic Hepatitis C Virus Genotype 1, 4, or 6 Infection: A Randomized Trial. *Ann Intern Med* 2015(163):1-13.
- (42) Feld JJ, Knowlly KV, Coakley E, Signal S, Nelson DR, Crawford D, et al. Treatment of HCV with ABT-450/r–Ombitasvir and Dasabuvir with Ribavirin. *N Engl J Med* 2014(370):1594-1603.
- (43) Zeuzem S, Jacobson IM, Baykal T, Marinho RT, Poordad F, Bourliere M, et al. Retreatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *N Engl J Med* 2014(270):1604-1614.
- (44) Lawitz E, Matusow G, DeJesus E, Yoshida EM, Felizarta F, Ghalib R, et al. Simeprevir plus sofosbuvir in patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection and cirrhosis: A phase 3 study (OPTIMIST-2). *Hepatology* 2016 August(64):360-369.
- (45) Gritsenko D, Hughes G. Ledipasvir/Sofosbuvir (Harvoni): Improving Options for Hepatitis C Virus Infection. *Pharmacy and Therapeutics* 2015 April(40):256-259, 276.
- (46) Feld JJ, Jacobson IM, Hezode C, Asselah T, Ruane PJ, Gruener N, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 1, 2, 4, 5, and 6 Infection. *N Engl J Med* 2015 December(373):2599-2607.
- (47) Foster GR, Afdhal N, Roberts SK, Bräu N, Gane EJ, Pianko S, et al. Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV Genotype 2 and 3 Infection. *N Engl J Med* 2015 December(373):2608-2617.
- (48) Bourliere M, Gordon S. C., Ramji A., Ravendharn N., Tran T. T., Hyland R. H., et al. Abstract 194: Sofosbuvir/Velpatasvir/Voxilaprevir for 12 Weeks as a Salvage Regimen in NS5A Inhibitor-Experienced Patients with Genotype 1-6 Infection: The Phase 3 POLARIS-1 Study. *Hepatology* 2016 October(64):102-103.
- (49) EASL. Guidelines: EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatology* 2017 January(66):153-194.
- (50) Ahmed A, Felmlee DJ. Mechanisms of Hepatitis C Viral Resistance to Direct Acting Antivirals. *Viruses* 2015 Dezember 2015;7(12):6716-6729.

- (51) Conti F, Bounfiglioli F, Scuteri A, Crespi C, Bolondi L, Caraceni P. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. *J Hepatol* 2016:727-733.
- (52) Issachar A, Sneh-Arbib O, Braun M, Shlomai A, Oxtrud E, Harif Y. LBP-509: Occurrence and recurrence of malignancies post DAA Treatment in 5.1% of patients-single center experience. *J Hepatol* 2017:97.
- (53) Cheung MC, Walker AJ, Hudson BE, Verma S, McLauchlan J, Mutimer DJ. Outcomes after successful direct-acting antiviral therapy for patients with chronic hepatitis C and decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2016:741-747.
- (54) Calvaruso V, Cabibbo G, Cacciola I, Petta S, Madonia S, Bellia A. PS-038: Occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus related liver disease treated with direct-acting antivirals. *J Hepatol* 2017:23-24.
- (55) Nuñez A, Aguilera V, Sánchez-Torrijos Y, Sousa JM, Ferrer MT, Giraldez A. FRI-131: Interferon-free antiviral therapy does not increase the risk of developing short term hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis infected with hepatitis C virus. *J Hepatol* 2017:469.
- (56) Reddy KR, Bourliere M, Agarwal K, Lawitz E, Osinusi A, Kersey K. FRI-185: Sustained viral response following treatment with direct acting antiviral agents for chronic hepatitis C and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2017:491-492.
- (57) Waziry R, Hajarizadeh B, Gerbely J, Amin J, Law M, Danta M. Hepatocellular carcinoma risk following direct-acting antiviral HCV therapy: A systematic review, meta-analyses, and meta-regression. *J Hepatol* 2017;67(6):1204-1212.
- (58) Chiriac S, Trifan A, Stanciu C, Prelipcean CC, Stefanescu G, Mihai C. SAT-102: A low incidence of hepatocellular carcinoma in patients with genotype 1b compensated cirrhosis treated with paritaprevir/ ritonavir, ombitasvir and dasabuvir ± ribavirin in a tertiary center: a matter of better selection? *J Hepatol* 2017:360.
- (59) MSD. Fachinformation Pegintron Clearclick Fertigpen. Juli 2015; Available at: <https://www.msd.de/fileadmin/files/fachinformationen/pegintron.pdf>. Accessed 06 November, 2017.
- (60) Kozbial K, Moser S, Schwarzer R, Laferl H, Stauber R, Stättermayer A. Unexpected high incidence of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with sustained virologic response following interferon-free direct-acting antiviral treatment. *J Hepatol* 2016:856-858.
- (61) Facciorusso A, Del Prete V, Turco A, Buccino V, Nacchiero CM, Muscatiello N. Long-term liver stiffness assessment in HCV patients undergoing antiviral therapy: Results from a 5-year cohort study. *J Gastroenterol Hepatol* 2017 04.10.2017;Epub ahead of print.
- (62) Bachofner JA, Avlli PV, Kröger A, Bergamin I, Baserga A, Braun D. Direct antiviral agent treatment of chronic hepatitis C results in rapid regression of transient

elastography and fibrosis markers fibrosis-4 score and aspartate aminotransferase-platelet ratio index. *Liver Int* 2017 März 2017;37(3):369-376.

(63) Chan J, Gogela N, Zheng H, Lammert S, Ajayi T, Fricker Z. Direct-Acting Antiviral Therapie for Chronic HCV Infektion Results in Lifer Stiffness Regression Over 12 Months Posttreatment. *Dig Dis Sci* 2017;doi 10.007/s10620-017-4749-x:11.11.2017.

(64) Dolmazashvili E, Abutidze A, Chkhartishvili N, Karchava M, Sharvadze L, Tsertsvadze T. Regression of liver fibrosis over a 24-week period after completing direct-acting antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C receiving care within the national hepatitis C elimination program in Georgia: results of hepatology clinic HEPA experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017 Nov 2017;29(11):1223-1230.

(65) Strucure of Hepatitis C Virus. Available at: https://en.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_C_virus#/media/File:HCV_structure.png. Accessed 05.03.2017.