

Genotypische Resistenzbestimmung von HCV

Jörg Timm¹, Andreas Walker¹, Ralf Bartenschlager², Rolf Kaiser³

¹ Institut für Virologie, Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

² Institut für Molekulare Virologie, Universität Heidelberg

³ Institut für Virologie, Universitätsklinikum Köln, Universität zu Köln

Mit der Zulassung zahlreicher direkt wirkender antiviraler Substanzen („directly acting antivirals; DAA) gegen HCV wurde die Behandlung der chronischen Hepatitis C revolutioniert. Die rasante klinische Entwicklung in der Therapie der HCV-Infektion hat 2011 mit der Zulassung der ersten Protease-Inhibitoren Telaprevir und Boceprevir begonnen. Mittlerweile ist Interferon- α (IFN α), das in den letzten 25 Jahren wesentlicher Bestandteil der Therapie der Hepatitis C war, in der Praxis weitgehend bedeutungslos geworden. In einem Addendum zur Hepatitis C Leitlinie wurden vor kurzem die Empfehlungen zur Therapie der chronischen Hepatitis C aktualisiert (1). Darin wird für alle Genotypen primär eine Interferon-freie Therapie empfohlen. Diese ist möglich geworden, da extrem potente Kombinationstherapien zur Verfügung stehen. Die wichtigsten Angriffsziele der antiviralen Therapie der HCV Infektion sind die NS3/4A Protease, der virale Replikationsfaktor NS5A und die RNA-abhängige RNA-Polymerase (NS5B). Letztere kann durch nukleosidische oder nicht-nukleosidische Inhibitoren gehemmt werden. Mittlerweile wurden für alle Substanzklassen Wirkstoffe zur Behandlung der chronischen Hepatitis C zugelassen, wobei die Anwendung einiger Medikamente im Moment auf einzelne oder wenige HCV Genotypen beschränkt ist (Tabelle 1). Mit diesen Medikamenten sind in den Zulassungsstudien virologische Ansprechraten im Sinne einer Viruselimination von über 95% für fast alle Genotypen möglich. Anders als in der Zeit der Kombinationstherapie mit peg-IFN α und Ribavirin ist mit der Interferon-freien Therapie der HCV Genotyp 1 und hier vor allem der Subtyp 1b mit den höchsten Heilungsraten assoziiert. Im Gegensatz dazu ist heute der Genotyp 3 am schwierigsten zu behandeln. In den nächsten Jahren ist mit der Zulassung weiterer DAAs zu rechnen, die sich voraussichtlich durch eine breitere Wirksamkeit gegen mehr Genotypen auszeichnen.

Tabelle 1: Liste der zugelassenen DAAs (Stand 5/2015)

Wirkstoffklasse	Wirkstoff	Genotyp ^a	Hersteller	Handelsname
Protease-Inhibitoren	Telaprevir (TVR)	1	Janssen-Cilag	Incivo®
	Boceprevir (BOC)	1	MSD	Victrelis®
	Simeprevir (SMV)	1 und 4	Janssen-Cilag	Olysio®
	Paritaprevir (PTV) ^b	1 und 4	Abbvie	Viekirax®
NS5A-Inhibitoren	Daclatasvir (DCV)	1-6	BMS	Daklinza®
	Ledipasvir (LDV) ^c	1,3,4,6	Gilead	Harvoni®
	Ombitasvir (OMV) ^b	1 und 4	Abbvie	Viekirax®
Polymerase-Inhibitoren	<i>nukleosidisch:</i>			
	Sofosbuvir (SOF) ^d	1-7	Gilead	Sovaldi®, Harvoni®
	<i>nicht-nukleosidisch:</i>			
	Dasabuvir (DSV)	1	Abbvie	Exviera®

^a laut Zulassung durch die EMA

^b als fix-dose Kombination von Paritaprevir plus Ritonavir und Ombitasvir

^c als fix-dose Kombination von Ledipasvir und Sofosbuvir (Harvoni®)

^d als fix-dose Kombination mit Ledipasvir oder allein

Mit der Zulassung von spezifischen Inhibitoren gegen HCV ergibt sich die Frage, ob die Entwicklung von Resistenzen von klinischer Bedeutung sein wird. In den ersten Studien mit DAAs in Kombination mit peg-IFN α wurde deutlich, dass bei Versagen der Therapie typischerweise Resistenz-assoziierte Varianten (RAVs) selektiert wurden. Dies lag daran, dass Patienten mit schlechtem IFN α Ansprechen faktisch mit einer DAA Monotherapie behandelt wurden. Gleichzeitig war die Resistenzbarriere der DAAs der ersten Generation noch sehr niedrig. Viele der selektierten RAVs in Patienten konnten bereits zuvor *in vitro* im subgenomischen HCV Replikon-System identifiziert und charakterisiert werden oder wurden retrospektiv *in vitro* mit einem resistenten Phänotyp assoziiert. Für alle Substanzen wurden mittlerweile RAVs beschrieben und in den meisten Patienten mit Therapieversagen wurden RAVs nachgewiesen. Dies gilt sowohl für Patienten mit einem „break-through“ unter Therapie als auch für solche mit einem „relapse“ nach Abschluss der Therapie. In Abhängigkeit von der viralen Fitness können diese RAVs für nur wenige Tage (z.B. bei Sofosbuvir) bis zu vielen Monaten (z.B. bei den NS5A-Inhibitoren) nachweisbar bleiben. Die Resistenzbarriere unterscheidet sich für die verschiedenen Substanzklassen und innerhalb einer Substanzklasse für die verschiedenen Genotypen. So finden sich über nahezu alle Studien, in denen Kombinationen mit einem Protease-Inhibitor getestet wurden, bessere Ansprechraten für den Genotyp 1b im Vergleich zum Genotyp 1a. Dies basiert am ehesten auf der höheren Resistenzbarriere für Protease-Inhibitoren beim Genotyp 1b, da hier mehr Mutationen für eine Resistenz notwendig sind als beim Genotyp 1a. Die höchste Resistenzbarriere der zugelassenen DAAs zeigt das Nukleosid-Analogen Sofosbuvir. Bisher konnten RAVs gegen dieses Medikament lediglich für sehr kurze Zeit in wenigen Patienten nach Therapieversagen nachgewiesen werden. Deshalb ist die klinische Bedeutung der RAVs für das Therapieversagen insbesondere für diese Substanz weitgehend unklar. Mittlerweile wurden zahlreiche RAVs in NS3, NS5A und NS5B beschrieben, für nicht alle wurde bisher eine detaillierte Charakterisierung des assoziierten Phänotyps *in vitro* durchgeführt. Die beschriebenen RAVs in HCV wurden unter Beteiligung der Institute für Virologie in Düsseldorf, Köln und Heidelberg, dem Labor Berg in Berlin und dem Max-Planck-Institut für Informatik in Saarbrücken zusammengetragen und bewertet. Die Liste der RAVs kann unter der Seite <http://hcv.geno2pheno.org> abgerufen werden und ist Grundlage des frei über das Internet verfügbaren Interpretationssystems geno2pheno[HCV], mit dem eine automatisierte Bewertung von Virussequenzen (NS3, NS5A und NS5B) hinsichtlich (Sub-) Genotyp sowie die Resistenzinterpretation gegen die zugelassenen DAAs vorgenommen werden kann. Die Regeln werden kontinuierlich aktualisiert und die Ergebnisse der Bewertung sollen eine systematische und standort-übergreifende Auswertung der Gründe und Mechanismen des Therapieversagens unterstützen.

Obwohl es zwischen den zugelassenen Medikamenten der gleichen Substanzklasse erhebliche Kreuzresistenzen gibt, ist erwartungsgemäß die Wirksamkeit von Medikamenten aus den anderen Substanzklassen nicht eingeschränkt. Durch Kombination von Medikamenten aus unterschiedlichen Substanzklassen kann das Risiko für eine Resistenzentwicklung und für Therapieversagen – ähnlich wie bei HIV – deutlich minimiert werden. Eine eventuell eingeschränkte Wirksamkeit eines Medikaments kann damit durch die Wirksamkeit eines anderen Medikaments in der verabreichten Kombination kompensiert und der Erfolg der Therapie gewährleistet werden. Anders als bei der HIV-Infektion ist bei der Hepatitis C der Therapieerfolg gleichbedeutend mit der Elimination der HCV-Infektion. Welchen Stellenwert kann im Kontext der hohen Heilungsraten bei der heutigen Therapie der Hepatitis C dann zukünftig eine genotypische Resistenzbestimmung haben? Eine genotypische Resistenzbestimmung erscheint dann sinnvoll, wenn sie einen Beitrag zur Optimierung einer geplanten Therapie leisten kann. Ein Vorteil eines solchen personalisierten Therapieansatzes könnte

darin bestehen, dass das Risiko für ein Therapieversagen minimiert wird oder Patienten Kandidaten für eine verkürzte oder vereinfachte Therapie identifiziert werden. In den aktuellen Empfehlungen sind der Fibrosegrad der Leber und der Vortherapiestatus wichtige Bestandteile in der Therapieplanung, da Patienten mit fortgeschrittener Fibrose und nach erfolgloser Vortherapie regelmäßig geringere Heilungsraten zeigen. Zum Beispiel wird beim Genotyp 3 mit Leberzirrhose und nach erfolgloser Vortherapie eine Behandlung mit Sofosbuvir (NS5B-Inhibitor), Daclatasvir (NS5A-Inhibitor) und Ribavirin für 24 Wochen empfohlen. Ohne diese negativen prädiktiven Marker wird eine Therapie mit Sofosbuvir und Daclatasvir für 12 Wochen oder mit Sofosbuvir und Ribavirin für 24 Wochen empfohlen (1). Bisher ist weitgehend unklar, ob eine genotypische Resistenztestung einen zusätzlichen Beitrag für die Planung einer Interferon-freien Therapie liefern kann. Erste Hinweise auf einen Nutzen der genotypischen Resistenztestung finden sich für NS5A-Inhibitoren. Diese Substanzklasse ist ein wichtiger Kombinationspartner für nahezu alle empfohlenen Therapien. Neben der erheblichen Kreuzresistenz für alle Vertreter dieser Substanzklasse scheinen die beschriebenen RAVs in NS5A zusätzlich problematisch zu sein, da sie die virale Fitness kaum beeinträchtigen und nach Therapieversagen lange Zeit auch in Abwesenheit von Selektionsdruck stabil sind (2). Die wichtigste Resistenz-assoziierte Variante (Y93H) findet sich in etwa 5-8% der Therapie-naiven Patienten und bewirkt eine > 2000-fach reduzierte Wirksamkeit der NS5A-Inhibitoren (3, 4). In dieser Situation erscheint es zum Beispiel bei Patienten mit Genotyp 3 sinnvoll, vor einer Entscheidung zwischen den Therapieoptionen Sofosbuvir/Ribavirin für 24 Wochen oder Sofosbuvir/Daclatasvir für 12 Wochen eine genotypische Resistenztestung durchzuführen.

Obwohl aus heutiger Sicht eine generelle Resistenztestung vor Therapie nicht als Standarddiagnostik gesehen werden kann, sollen die Möglichkeit bereitgestellt und die Daten gesammelt werden. Nur dann kann in Zukunft eine Bewertung des Nutzens der genotypischen Resistenztestung von HCV möglich sein. Es zeichnet sich ab, dass es einen erkennbaren Nutzen nur in speziellen Patientenkollektiven (z.B. nach erfolgloser Vortherapie mit einem DAA) geben wird. Damit diese Patienten erfolgreich identifiziert werden, muss eine systematische Auswertung der Therapieerfolge und vor allem der Therapieversager inklusive einer Bewertung der genotypischen Resistenztestung vor Therapiebeginn vorgenommen werden. Dazu sollten die Daten auch aus dezentral durchgeführten Untersuchungen perspektivisch in einer gemeinsamen Datenbank zusammengeführt werden. Solche Projekte werden zum Beispiel im Rahmen des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung (DZIF) unterstützt und können bei Interesse über die Autoren vermittelt werden.

Referenzen:

1. Sarrazin C, Berg T, Buggisch P, Dollinger M, Hinrichsen H, Hofer H, Hüppe D, et al. Addendum vom 18.02.2015 zur S3-Leitlinie 021/012 "Hepatitis-C-Virus (HCV)-Infektion; Prophylaxe, Diagnostik und Therapie". <http://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/021-012.html> 2015.
2. Yoshimi S, Imamura M, Murakami E, Hiraga N, Tsuge M, Kawakami Y, Aikata H, et al. Long term persistence of NS5A inhibitor-resistant hepatitis C virus in patients who failed daclatasvir and asunaprevir therapy. *J Med Virol* 2015.
3. Hernandez D, Zhou N, Ueland J, Monikowski A, McPhee F. Natural prevalence of NS5A polymorphisms in subjects infected with hepatitis C virus genotype 3 and their effects on the antiviral activity of NS5A inhibitors. *J Clin Virol* 2013;57:13-18.
4. Suzuki F, Sezaki H, Akuta N, Suzuki Y, Seko Y, Kawamura Y, Hosaka T, et al. Prevalence of hepatitis C virus variants resistant to NS3 protease inhibitors or the NS5A inhibitor (BMS-790052) in hepatitis patients with genotype 1b. *J Clin Virol* 2012;54:352-354.