

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin
des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main
Medizinische Klinik 1

Schwerpunkte Gastroenterologie/ Hepatologie, Pneumologie/ Allergologie, Endokrinologie/
Diabetologie und Ernährungsmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. S. Zeuzem

Antivirale Kombinationstherapie mit einem Protease-Inhibitor (Telaprevir, VX-950) und pegyliertem Interferon alfa-2a bei Patienten mit chronischer Hepatitis C Infektion, Genotyp 1

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Nicole Forestier
aus Saarlouis, 2009

Dekan: **Professor Pfeilschifter**
1.Gutachter: **Professor Zeuzem**
2.Gutachter: **Professor Doerr**
Tag der Disputation: **18.01.2011**

Daten dieser Arbeit wurden in folgenden Publikationen veröffentlicht:

Originalarbeiten:

Forestier N, Reesink H, Zeuzem S (2007): Antiviral Activity of Telaprevir (VX-950) and Peginterferon Alfa-2a in Patients with Hepatitis C, Hepatology Sep; 46 (3): 640-8 (2007)

Kieffer T, Sarrazin C, Forestier N, Zeuzem S (2007): Telaprevir and Pegylated IFN-alfa-2a Inhibit Wild-type and Resistant Genotype 1 HCV Replication in Patients, Hepatology Sep; 46 (3): 631-9 (2007)

Abstracts:

Forestier N et al. (2006): Current status of subjects receiving Peg-Interferon-alfa-2a and ribavirin after a 14-day study of the hepatitis C protease inhibitor telaprevir (VX-950), with PEG-IFN. Hepatology, Vol.44, No.4, Suppl.1 (2006), 615A.

Forestier et al. (2007): Telaprevir Resistance Mutations In Patients With Hepatitis C Who Relapsed After Sequential Therapy With Telaprevir, Peg-Interferon Alfa 2A And Ribavirin. Hepatology, Vol.46, No.4, Suppl.1 (2007), 50A.

1	<u>Einleitung</u>	6
1.1	Epidemiologie	6
1.2	Molekularbiologische Aspekte.....	7
1.3	Diagnostik	8
1.4	Therapie der chronischen Hepatitis.....	10
1.4.1	Therapie von Patienten mit einer HCV-Genotyp 1 Infektion.....	13
1.4.2	Retherapie von Relapsen	14
1.4.3	Retherapie von Nonrespondern.....	16
1.4.4	Neue Therapieansätze	17
1.4.4.1	Entwicklungen zum Interferon	17
1.4.4.2	Entwicklungen zum Ribavirin.....	18
1.4.4.3	Neue Immunmodulatoren	19
1.4.4.4	Neue direkt antivirale Substanzen (STAT-C, „Specifically targeted antiviral therapy for HCV“)	19
1.5	Fragestellung der Arbeit.....	20
2	<u>Patienten und Methoden</u>	21
2.1	Prüfziele	21
2.1.1	Primäres Prüfziel	21
2.1.2	Sekundäre Prüfziele.....	21
2.2	Studiendesign	21
	Weiterbehandlung	22
2.3	Patienten.....	22
2.3.1	Einschlusskriterien	22
2.3.2	Ausschlusskriterien.....	23
2.4	Methoden.....	23
2.4.1	Studienmedikation	23
2.4.2	Randomisierung, Patientennummern und Zuteilung zu Gruppen	24
2.4.3	Dosierungsschema	24
2.4.3.1	Dosierungszeitpunkte und Essenszeiten	25
2.4.3.2	Dokumentation der Medikamentenausgabe	25
2.4.4	Durchführung der Patientenvisiten	26
2.4.4.1	Screening.....	26
2.4.4.2	Dosierungsperiode	27
2.4.4.3	Nachbeobachtungsphase innerhalb des Studienprotokolls.....	29
2.4.5	Studienspezifische Untersuchungen	30
2.4.5.1	Laborchemische Untersuchungen	30
2.4.5.2	Elektrokardiogramm (EKG) und Vitalparameter	30
2.4.5.3	Körperliche Untersuchung	31
2.4.6	Pharmakokinetische Untersuchungen.....	31
2.4.6.1	Bestimmung von Telaprevir und VRT-127394 Konzentrationen	31
2.4.6.2	Bestimmung der Konzentration von Peginterferon	32
2.4.6.3	Pharmakokinetische Parameter	32
2.4.7	Pharmakodynamische Untersuchungen	32
2.4.7.1	HCV-RNA-Bestimmungen	32
2.4.7.2	HCV-RNA Sequenzanalyse.....	33
2.4.8	Fortführung der Standardtherapie.....	34

<u>3</u>	<u>Ergebnisse</u>	<u>35</u>
3.1	Charakteristika der Patienten	35
3.2	Pharmakokinetik.....	36
3.3	Pharmakodynamik.....	36
3.4	HCV-RNA Sequenzanalyse	39
3.5	ALT und AST-Werte	41
3.6	Sicherheit.....	42
3.7	Ergebnisse nach der Standardtherapie.....	43
<u>4</u>	<u>Diskussion</u>	<u>45</u>
<u>5</u>	<u>Zusammenfassung</u>	<u>55</u>
5.1	Zusammenfassung	55
5.2	Conclusion	56
	<u>Appendix A: Ablauf der Studie:</u>	<u>57</u>
<u>6</u>	<u>Literaturverzeichnis</u>	<u>59</u>

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie

Das Hepatitis-C-Virus wurde erstmals im Jahre 1989 aufgrund molekularbiologischer Methoden identifiziert¹, erst viele Jahre später (1996) gelang die elektronenmikroskopische Darstellung des Virus. Die Viruserkrankung verläuft in etwa 80% der Fälle als chronische Infektion (persistierender Nachweis von HCV-RNA über mindestens ein halbes Jahr). Die chronische Hepatitis C gehört heute zu den häufigsten chronischen Lebererkrankungen.

Nach Berechnungen der WHO sind weltweit über 170 Millionen Menschen mit dem Hepatitis C Virus (HCV) infiziert, was einer Prävalenz von ein bis drei Prozent der Weltbevölkerung entspricht. In Deutschland beträgt die Infektionsrate 0,4 – 0,7 %, gemessen an der Prävalenz der HCV-Antikörper. Die geschätzte Prävalenz in den USA beträgt 1,8 %, von denen etwa 75 % der infizierten Patienten eine chronische Infektion entwickeln². Die niedrigste Prävalenz wird aus England und Skandinavien berichtet (0,01%-0,1%), die höchsten Raten aus Ägypten (15%-20%)³. In den Entwicklungsländern wird HCV vor allem durch unhygienische Injektionspraktiken übertragen, in entwickelten Ländern ist heute der wichtigste Transmissionsweg der intravenöse Drogenabusus.

Die Dunkelziffer von nicht identifizierten Patienten mit chronischer Hepatitis C ist dabei vermutlich hoch, da die Erkrankung oft langsam progredient verläuft und die Mehrzahl der Patienten über keine oder nur geringe, unspezifische Symptome klagt. Darüber hinaus verlaufen 20-40% der Fälle mit persistierend normalen Transaminasen, was die Diagnose zusätzlich erschwert.

Die Transmission erfolgt in der Regel parenteral über Blut, Blutprodukte oder durch „needle-sharing“ bei drogenabhängigen Patienten, seltener sexuell oder perinatal. Bei vielen Patienten bleibt die Infektionsquelle ungeklärt. Seit der Einführung des anti-HCV-Screenings ist die Übertragung von HCV durch Bluttransfusionen und durch nicht inaktivierbare zelluläre Blutprodukte deutlich zurückgegangen.

Noch immer fehlen verlässliche prognostische Faktoren, mit denen individuell der natürliche Verlauf der Hepatitis-C-Infektion vorhergesagt werden kann. Die häufigsten Spätfolgen der chronischen Hepatitis C sind die Entwicklung einer Leberzirrhose und das hepatozelluläre Karzinom. Die Progression der Fibroseentwicklung weist eine große Variabilität auf, 2-35% der Patienten entwickeln nach 20-25 Jahren eine Leberzirrhose^{4,5}.

Liegt eine Leberzirrhose vor, ist bei etwa 2-5% der Patienten pro Jahr mit der Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms zu rechnen⁶. Dadurch ist die Erkrankung auch für einen erheblichen Teil von Lebertransplantationen verantwortlich.

Als extrahepatische Komplikation der Erkrankung können verschiedene Begleiterscheinungen auftreten, wie zum Beispiel eine Kryoglobulinämie, eine membranöse Glomerulonephritis, eine Panarteriitis nodosa, ein Sjörgren Syndrom, ein Lichen ruber planus, eine Thyreoiditis, ein B-Zell Lymphom, eine aplastische Anämie oder eine Porphyria cutanea.

1.2 Molekularbiologische Aspekte

Das Hepatitis-C-Virus gehört zur Gruppe der Flaviviridae. Gemeinsames Merkmal dieser Virusfamilie ist ein umhülltes, einzelsträngiges RNA-Genom. Innerhalb der eigenen Gattung des HCV gibt es zum Teil erhebliche Unterschiede, was die Sequenzhomologie des Genoms betrifft. Deshalb wurde je nach Verwandtschaftsgrad der Sequenz eine Einteilung der verschiedenen HCV-Isolate in Genotypen und Subtypen vorgenommen.

Typ	1			2			3		4	5	6
Sybttyp	1a	1b	1c	2a	2b	2c	3a	3b	4a	5a	6a

Tabelle 1. Nomenklatur von Simmonds *et al.*⁸

Nach dieser Einteilung zeigte sich, dass bestimmte Genotypen in verschiedenen geographischen Regionen unterschiedlich häufig vorkommen. So hat sich gezeigt, dass der Genotyp 1 der am häufigsten gefundene Genotyp ist und mit seinen Subtypen 1a und 1b in Europa und in Nord- und Südamerika vorherrschend ist. In asiatischen Ländern lassen sich eher die Genotypen 2 und 3 und in Afrika eher der Genotyp 4 finden.

Das Genom von ca. 9600 Basen Länge besteht aus einem (+)-Einzelstrang. Es besitzt ein zusammenhängendes offenes Leseraster (open-reading-frame, orf, engl.), welches von zwei nicht translatierten Regionen (Non-Coding, NC, engl.) eingefasst wird. Das offene Leseraster kodiert für ein Vorläuferprotein von ungefähr 3000 Aminosäuren (As) Länge, welches durch zelluläre Signalpeptidasen am endoplasmatischen Retikulum (ER) und viruseigene Proteasen (NS2 und NS4A) in die Struktur- (core (C), Envelope 1 und 2 (E1 und E2)) und Nichtstrukturproteine (NS) (NS2-NS5) geschnitten wird^{7,8,9}. Die NC-Regionen dienen

- i.v. Drogenabhängige
- Personen mit Erkrankungen, welche mit einer hohen Prävalenz an HCV-Infektionen einhergehen
 - HIV-Infizierte
 - Hämophilie Patienten, die vor 1987 Gerinnungsfaktoren erhalten haben
 - Hämodialyse-Patienten
 - Personen mit unklarer Transaminasenerhöhung
- Personen, die eine Transfusion oder Organtransplantation erhalten haben, einschließlich
 - Transfusionen von Spendern, die später als HCV-Infizierte diagnostiziert wurden
 - Transfusion von Blut oder Blutprodukten vor Juli 1992
 - Organtransplantation vor Juli 1992
- Kinder von HCV-Infizierten Müttern
- Personen in der Gesundheitsfürsorge, Medizinisches Personal, Gefängnisinsassen, Polizisten, etc.
- Sexualpartner von HCV-Infizierten

Tabelle 2 Risikogruppen mit hoher HCV-Prävalenz: Indikation zum Screening

Bei Verdacht auf das Vorliegen einer chronischen Hepatitis C ist der anti-HCV-Test das klassische Suchverfahren. HCV-Antikörper werden mit den derzeit zur Verfügung stehenden serologischen Enzymimmunoassays der 3. Generation (EIA3) mit einer Sensitivität von 97 – 99% gefunden.¹⁰

Bei einem positiven Antikörpertest sollte zur Sicherung der Diagnose ein qualitativer HCV-RNA Nachweis durchgeführt werden, zur Unterscheidung zwischen einer aktiven und einer abgelaufenen zurückliegenden Infektion.

Bei einer positiven HCV-RNA sollte dann vor Einleitung einer antiviralen Therapie der HCV-Genotyp und eine Viruslastbestimmung mittels einer quantitativen HCV-RNA Analyse durchgeführt werden, da diese Aussagen über die Ansprechrate erlauben und zur Festlegung der Therapiedauer hilfreich sind (schlechtere Ansprechrate für HCV Genotyp 1 gegenüber Genotyp 2 und 3, schlechtere Ansprechrate bei hoher Viruslast, kürzere Therapiedauer für Genotyp 2 und 3).

1.4 Therapie der chronischen Hepatitis

Lässt sich nach einer Hepatitis C Virusinfektion die HCV-RNA über mehr als 6 Monate im Blut nachweisen, wird die Diagnose einer chronischen Hepatitis C gestellt.

Als primäres Ziel einer antiviralen Therapie bei Patienten mit chronischer Hepatitis C gilt ein dauerhaftes virologisches Ansprechen, definiert als ein fehlender Nachweis Hepatitis-C-spezifischer RNA im Serum 6 Monate nach Therapieende (< 50 IU/ml).

Folgende Medikamente sind derzeit zur Therapie der chronischen Hepatitis C in Deutschland zugelassen:

- Interferon- α 2a (Roferon®); zugelassene Dosierung: 3 x 3–4,5 MIU pro Woche allein oder in Kombination mit Ribavirin
- Interferon- α 2b (Intron A®); zugelassene Dosierung: 3 x 3 MIU pro Woche allein oder in Kombination mit Ribavirin
- Peginterferon- α 2a (Pegasys®); zugelassene Dosierung: 180 μ g einmal pro Woche allein oder in Kombination mit Ribavirin
- Peginterferon- α 2b (PegIntron®); zugelassene Dosierung: 0,5–1,0 μ g/kg Körpergewicht einmal pro Woche in der Monotherapie und 1,5 μ g/kg Körpergewicht einmal pro Woche in Kombination mit Ribavirin
- Ribavirin (Rebetol®); zugelassene Dosierung: 800 mg/Tag für Patienten < 65 kg, 1000 mg/Tag für Patienten 65–85 kg, 1200 mg/Tag für Patienten über 85 kg
- Ribavirin (Copegus®); zugelassene Dosierung: HCV Genotyp-1:1000 mg/Tag für Patienten < 75 kg, 1200 mg/Tag für Patienten > 75 kg; HCV Genotyp HCV-2, 3: 800 mg/Tag

Der Beginn der Therapie der Hepatitis C Virus (HCV) Infektion erfolgte in den späten 80er Jahren, als Patienten mit einer seinerzeit noch Non-A Non-B genannten chronischen Hepatitis erstmals mit Interferon-alfa behandelt wurden. Die Heilungschancen unter einer Monotherapie mit einer dreimal wöchentlichen, subcutanen Gabe von 3 Millionen IE Standard-Interferon-alfa (IFN) für 24 bzw. 48 Wochen waren jedoch sehr gering mit dauerhaften virologischen Ansprechraten von 2% bzw. 7% bei Patienten mit Genotyp 1 Infektion und 16% bzw. 29-33% bei Patienten mit Genotyp 2,3 Infektion^{11,12}. Durch Einführung der Kombinationstherapie aus Standard-Interferon- α und Ribavirin über 48 Wochen kam es zu einer wesentlichen Verbesserung der dauerhaften virologischen

Ansprechraten auf 38 - 44%, wobei die Unterschiede zwischen den Genotypen 1 mit 28-36% und den Genotypen 2, 3 mit 61-79% weiterhin evident waren^{11,12,13, 14}. Seit dem Jahr 2001 steht als Standardtherapie der chronischen Hepatitis C nun die Kombination aus Peginterferon- α und Ribavirin mit durchschnittlichen dauerhaften Ansprechraten von 54-63% zur Verfügung^{13,14,15} (**Abbildung 2, Tabelle 3**).

PEG-Interferon- α 2a und - α 2b entsprechen Interferon- α 2a und - α 2b, welche jeweils an ein Polyethylenglykol-Molekül (PEG) konjugiert sind und demzufolge effektive Wirkspiegel über ca. 1 Woche aufbauen. (Unterschiede siehe **Tabelle 3**)

Polyethylenglykole (PEG) sind nichttoxische, biologisch inerte Polymere, die, an Proteine konjugiert, deren Halbwertszeit verlängern. Die Pegylierungstechnik, Größe des PEG sowie Bindungsstärke sind für physikalische Eigenschaften, Pharmakokinetik und -dynamik von Bedeutung.

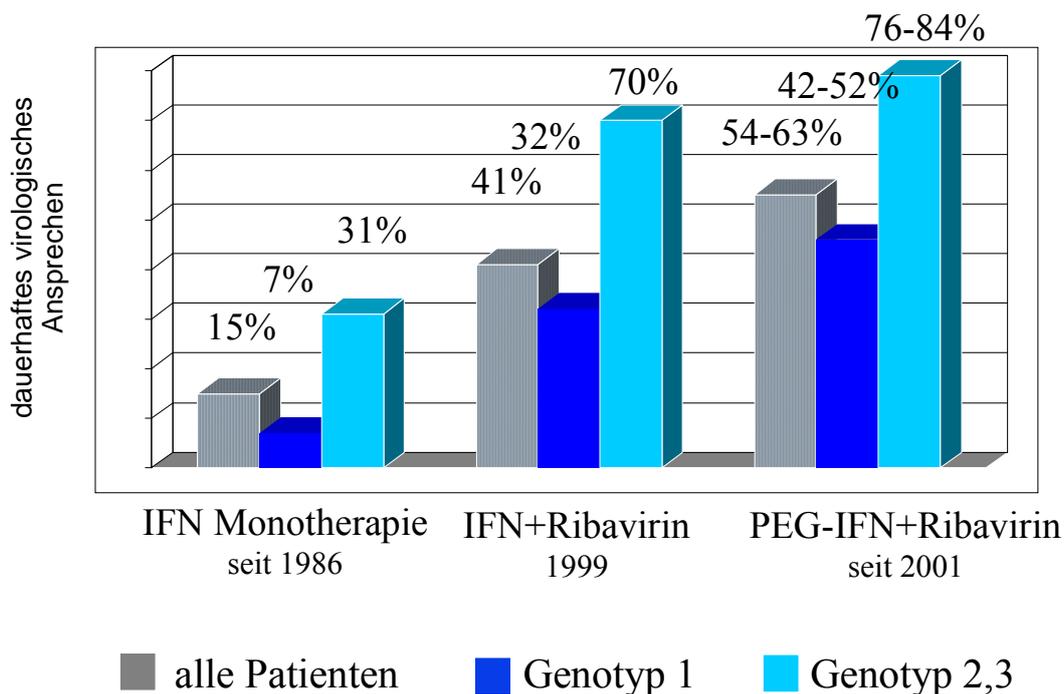


Abbildung 2 Entwicklung der Therapie der chronischen Hepatitis C

	<i>Peginterferon-α2b</i>	<i>Peginterferon-α2a</i>
PEG-Größe und -Struktur	12 kDa linear	40 kDa verzweigt
Mittlere Halbwertszeit	30-40 h	60-80 h
Mittlere Clearance	94 ml/h/kg	22 ml/h/kg
Dosierung bei <i>Monotherapie</i>	1,0 μ g/kg KG s.c. einmal wöchentlich ^a	180 μ g s.c. einmal wöchentlich ^a
Dosierung bei <i>Kombinationstherapie</i>	1,0 -1,5 μ g/kg KG s.c. einmal wöchentlich ^a	180 μ g s.c. einmal wöchentlich ^a
Dosierung von <i>Ribavirin</i> in der Kombinationstherapie		
Genotyp 1	< 65 kg: 800 mg/d p.o. ^b 65 – 85 kg: 1000 mg/d p.o. ^b >85 kg: 1200 mg/d p.o. ^b	< 75 kg: 1000 mg/d p.o. ^b > 75 kg: 1200 mg /d p.o. ^b
Genotyp 2 oder 3	< 65 kg: 800 mg/d p.o. ^b 65 – 85 kg: 1000 mg/d p.o. ^b >85 kg: 1200 mg/d p.o. ^b	800 mg p.o. ^b
<i>Dauer</i> der Kombinationstherapie		
Genotyp 1 oder 4	48 Wochen ^c	48 Wochen ^d
Genotyp 2 oder 3	24 Wochen	24 Wochen

^aAufgrund der unterschiedlichen PEG-Molekülgröße resultieren pharmakokinetische Unterschiede der beiden pegylierten Interferone. Peginterferon- α 2a wird daher bei Erwachsenen in einer festen Dosierung gegeben, während Peginterferon- α 2b körperlgeichtsbezogen dosiert wird.

^bverteilt auf 2 Dosen/Tag

^cZulassung für Therapiezeitverkürzung auf 24 Wochen bei Patienten mit einer RVR (rapid virologic response) und einer Ausgangsviruslast <600 000 IU/ml

^dZulassung für Therapiezeitverkürzung auf 24 Wochen bei Patienten mit einer RVR und einer Ausgangsviruslast <800 000 IU/ml

Tabelle 3 Vergleich von Peginterferon- α 2a und - α 2b bei chronischer Hepatitis C

1.4.1 Therapie von Patienten mit einer HCV-Genotyp 1 Infektion

Die Standardtherapie der chronischen Hepatitis C erfolgt mit einem pegylierten Interferon in Kombination mit Ribavirin. Patienten mit einer HCV-Genotyp 1 Infektion sollten über 48 Wochen behandelt werden. Die Dosierung von Ribavirin sollte körperrgewichtszbezogen erfolgen.

Günstige Patientencharakteristika (z.B. weibliches Geschlecht, Alter < 40 Jahre, geringes Körpergewicht, geringer Fibrosegrad), sowie eine niedrige Viruslast (HCV RNA Konzentration < $6-8 \times 10^5$ IU/ml) vor Beginn der Behandlung korrelieren mit der Wahrscheinlichkeit für ein dauerhaftes virologisches Ansprechen^{13,14,15,16}.

Patienten mit einer Kontraindikation für Ribavirin sollten eine Monotherapie mit einem pegylierten Interferon erhalten.

Bisher wurde als Indikation zur Therapie der Nachweis erhöhter Transaminasen gefordert, da Patienten mit persistierend normalen Transaminasen ein geringeres Progressionsrisiko zur Entwicklung einer Leberzirrhose haben.

Jedoch konnte eine große, multizentrische Studie zeigen, dass Patienten mit normalen Transaminasen, die mit einer Kombinationstherapie aus Peginterferon- α 2a und Ribavirin behandelt wurden, ähnliche Ansprechraten, vergleichbare Verträglichkeit und Sicherheit zeigten, wie Patienten mit erhöhten Transaminasen. In der unbehandelten Kontrollgruppe wurde bei ca. 50% der Patienten mit normalen Transaminasen vor Beginn der Studie während der 72-wöchigen Beobachtung intermittierend erhöhte Leberwerte gemessen. Bei 20 - 25% der Patienten mit normalen Transaminasen zeigte die Histologie eine deutlich entzündliche Aktivität und/oder Fibrose. Die Therapieentscheidung bei Patienten mit chronischer Hepatitis C sollte individuell in Abhängigkeit von der Wahrscheinlichkeit der Viruseradikation, den Symptomen, der Histologie, der erwarteten Progression der Erkrankung und/oder des Transmissionsrisikos erfolgen und nicht allein basierend auf einzelnen biochemischen Parametern, wie den Transaminasen^{17,18}.

Unter der gegenwärtigen Standardtherapie einer HCV-Genotyp 1 Infektion über 48 Wochen mit Peginterferon und Ribavirin werden vermutlich einige Patienten zu lang, andere möglicherweise zu kurz behandelt, um ein dauerhaftes Ansprechen zu erreichen. In verschiedenen Studien wurde daher geprüft, ob auf der Grundlage der Bestimmung des initialen Abfalls der HCV-RNA Konzentration eine individuelle Festlegung der Therapiedauer für den einzelnen Patienten möglich ist.

Erste Ergebnisse einer großen deutschen Multicenterstudie liegen vor, bei der Patienten mit einer HCV Genotyp 1 Infektion randomisiert über 48 bzw. 72 Wochen mit Peginterferon- α 2a und Ribavirin behandelt wurden. Diese zeigen keine signifikante Verbesserung der dauerhaften Ansprechraten bei den Patienten mit einer Therapie über 72 Wochen (52% vs. 52%). Allerdings zeigte sich, dass Patienten mit einem verzögerten virologischen Ansprechen, bei denen zu Woche 12 der Therapie noch HCV-RNA nachweisbar war, nach einer 72-wöchigen Behandlung signifikant höhere dauerhafte Ansprechraten (66%) im Vergleich zur 48-Wochen Gruppe (40%) aufwiesen¹⁹. Ähnliche Ergebnisse wurden von einer vergleichbaren Studie aus Spanien berichtet²⁰.

Gibt es neben den Patienten, die möglicherweise von einer längeren Therapiedauer profitieren auch Patienten, für die eine kürzere Therapiedauer ausreichend ist?

Diese Frage beantwortete eine große, multizentrische Studie: hier konnte nachgewiesen werden, dass für Patienten, die eine niedrige Ausgangsviruslast aufwiesen ($<6 \times 10^5$ IU/ml) und die ein schnelles virologisches Ansprechen zeigten (RVR, rapid virologic response) (HCV-RNA zu Woche 4 nicht mehr nachweisbar im Serum), eine Therapiedauer von 24 Wochen im Vergleich zur Therapiedauer von 48 Wochen ausreichend ist. Es zeigte sich keine signifikante Reduktion des dauerhaften virologischen Therapieansprechens (89% SVR versus 85% SVR)²¹.

1.4.2 Retherapie von Relapsen

Relapse nach einer Therapie mit Standardinterferon-alfa:

Patienten mit Rückfall auf eine Monotherapie mit Standardinterferon-alfa oder eine Therapie mit Standardinterferon-alfa in Kombination mit Ribavirin sollten eine Re-Therapie mit pegyliertem Interferon alfa und Ribavirin erhalten. Bei Kontraindikationen für Ribavirin kann eine höher dosierte und längere Therapie mit pegyliertem Interferon alfa versucht werden.

Relapse nach einer Therapie mit pegyliertem Interferon alfa:

Es sollte zunächst überprüft werden, ob bei der Vortherapie eine adäquate Dosierung und Therapiedauer vorlag. Sollte die Dosis oder die Therapiezeit nicht ausreichend gewesen sein,

so kann eine Retherapie mit entsprechender Dosierung und Therapiedauer in Erwägung gezogen werden.

In der EPIC-3 Studie wurden Patienten, die auf eine Kombinationstherapie mit Standard-Interferon alfa oder pegyliertem Interferon alfa plus Ribavirin nicht angesprochen hatten (Relapser und Non-Responder), mit pegyliertem Interferon alfa-2b 1,5 µg/kg KG plus Ribavirin 800-1400 mg für 48 Wochen re-therapiert. Bei der Studie war das virologische Ansprechen zu Woche 12 ein wichtiger prädiktiver Faktor für das dauerhafte virologische Ansprechen. Ein dauerhaftes virologisches Ansprechen wurde bei 57% der re-therapierten Patienten mit virologischem Ansprechen zu Woche 12 beobachtet. Die Re-Therapie mit pegyliertem Interferon alfa-2b und Ribavirin von Patienten, die auf eine Interferon-alfa basierte Therapie nicht angesprochen haben, wurde inzwischen in Europa zugelassen und stellt insbesondere für Patienten, bei denen es Gründe für ein Therapieversagen gab, eine Option dar.

Bei unvorbehandelten Patienten mit Genotyp 1 mit einem langsamen virologischen Ansprechen konnte eine signifikant niedrigere Relapsrate nach 72 Wochen Therapie im Vergleich zu 48 Wochen Therapie gezeigt werden. Die Ergebnisse prospektiver Studien zu einer längeren Re-Therapie von Relapsen stehen noch aus.

Erhöhung der Ribavirin-Dosis:

Die Ribavirin Dosis spielt eine wichtige Rolle beim Therapieansprechen. In der WIN-R Studie wurde der Einfluss von gewichtsadaptiertem Ribavirin (800 mg, 1000 mg, 1200 mg, 1400 mg für <65 kg Körpergewicht (KG), 65-85 kg KG, >85-105 kg KG bzw. >105-125 kg KG) im Vergleich zu niedrig dosiertem Ribavirin (800 mg) jeweils in Kombination mit pegyliertem Interferon alfa-2b auf das dauerhafte virologische Ansprechen von unvorbehandelten Patienten (alle Genotypen) untersucht²². Insgesamt zeigte sich eine signifikante Überlegenheit der gewichtsbasierten Ribavirin Dosierung im Vergleich zu niedrig dosiertem Ribavirin (44,2% vs. 40,5%). Die WIN-R Studie zeigte, dass die Ribavirin Dosierung einen wichtigen Faktor für das dauerhafte Ansprechen darstellt. Höhere Ribavirin Dosierungen als in der derzeitigen Standardtherapie könnten das Ansprechen weiter verbessern. Ergebnisse zur Re-Therapie von Relapsen oder Nonrespondern mit höherer Ribavirindosis liegen noch nicht vor.

1.4.3 Retherapie von Nonrespondern

Nonresponder sind Patienten, bei denen die HCV-RNA unter der Therapie zu keinem Zeitpunkt unter der Nachweisbarkeitsgrenze lag.

Es sollte auch bei Nonrespondern zunächst überprüft werden, ob bei der Vortherapie eine ausreichende Dosierung und Therapiezeitdauer vorlag, falls nicht, kann eine Retherapie in Erwägung gezogen werden.

In der REPEAT Studie wurden Patienten, die auf eine antivirale Therapie mit pegyliertem Interferon alfa-2b und Ribavirin nicht angesprochen hatten, mit pegyliertem Interferon alfa-2a und Ribavirin re-therapiert²³. Die Patienten wurden in 4 Arme randomisiert: In Arm A und B erhielten die Patienten eine Induktionstherapie mit pegyliertem Interferon alfa-2a 360 µg 1x/Woche s.c. für 12 Wochen, gefolgt von 60 bzw. 36 Wochen pegyliertem Interferon alfa-2a 180 µg 1x/Woche s.c. (Gesamttherapiedauer 72 Wochen bzw. 48 Wochen). In Arm C und D erhielten die Patienten die Standarddosis von pegyliertem Interferon alfa-2a 180 µg 1x/Woche s.c. für jeweils 48 Wochen oder 72 Wochen. Alle Patienten erhielten eine Kombination mit Ribavirin 1000-1200 mg/d. Die REPEAT Studie konnte zeigen, dass Nonresponder, die für 72 Wochen re-therapiert wurden, ein signifikant höheres virologisches Ansprechen erreichen als Nonresponder, die für 48 Wochen therapiert wurden (14-16% vs. 7-9%). Die Induktionstherapie mit hochdosiertem pegyliertem Interferon alfa-2a hatte keinen zusätzlichen Effekt. Die Studie zeigt, dass eine Re-Therapie von Nonrespondern über einen längeren Behandlungszeitraum zu einem dauerhaften virologischen Ansprechen führen kann. Die Chance eines dauerhaften virologischen Ansprechens ist allerdings insgesamt gering.

Daher ist aktuell eine Retherapie bei Nonrespondern auf Peg-IFN und Ribavirin eher kritisch zu sehen. Hier sollte -falls klinisch verantwortbar- abgewartet werden, bis neue antivirale Medikamente zur Verfügung stehen und dann eine Retherapie mit einer sinnvollen Kombination verschiedener Substanzen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen zur Verfügung stehen.

Interferon-Erhaltungstherapie mit niedrig dosiertem pegyliertem Interferon alfa:

In der HALT-C Studie wurden Non-Responder mit fortgeschrittener Fibrose (ISHAK Fibrose Score ≥ 3) mit niedrig dosiertem pegylierten Interferon alfa-2a 90 µg 1x/Woche s.c. für 3,5

Jahre behandelt²⁴. Bei Patienten, die eine Re-Therapie erhielten, fand sich ein signifikanter Abfall der GPT, HCV-RNA und der nekroinflammatorischen Aktivität in der Leberbiopsie im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe. Kein Unterschied zwischen der Behandlungsgruppe und der Kontrollgruppe fand sich hingegen bei den klinischen Endpunkten Mortalität, Dekompensation der Leberzirrhose, HCC Entwicklung und Progression der Fibrose.

Weitere Studien zur Dauertherapie mit niedrig dosiertem pegylierten Interferon alfa-2b sind die COPILOT- und die EPIC3-Studie. Bei der COPILOT-Studie wurde der Einfluss von Colchizin bzw. pegyliertem Interferon alfa-2b als Dauertherapie für vier Jahre bei Patienten mit fortgeschrittener Leberfibrose/-zirrhose untersucht. Zusammenfassend zeigten sich bei dieser Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen Colchizin versus Peg-IFN. Patienten mit einer portalen Hypertension hatten weitaus weniger häufig Dekompensationen (vor allem Ösophagusvarizenblutung) in dem Behandlungsarm mit Peg-IFN, als in dem Arm mit Colchizin²⁵. Auch bei der EPIC3-Studie konnte gezeigt werden, dass eine Dauertherapie bei Patienten, die auf die Standardtherapie mit Peg-IFN und RBV nicht angesprochen haben, mit einem niedrig dosierten Interferon keine signifikante Verbesserung für die Patienten erbringt, die endgültigen Ergebnisse dieser Studie stehen jedoch noch aus²⁶.

1.4.4 Neue Therapieansätze

1.4.4.1 Entwicklungen zum Interferon

Aktuell werden zahlreiche neuere Interferone entwickelt, die zum Einen eine bessere Verträglichkeit und zum Anderen einen verlängerten Zeitraum zwischen den einzelnen Injektionsintervallen zeigen sollen.

Albinterferon

Albinterferon ist eine neue langwirksame Form des Interferon-alfa. Durch eine genetische Fusion des Interferons an Humanalbumin wird eine sehr lange Halbwertszeit erreicht, so dass 2-4 wöchige Dosisintervalle möglich sind.

Albinterferon wird aktuell in zwei randomisierten, multizentrischen Phase III Studien in Kombination mit Ribavirin untersucht und könnte nach einem erfolgreichen Abschluss der Studien als Alternative zu den vorhandenen langwirksamen Interferon (PEG-Interferon alfa 2a und 2b) zugelassen werden.

Sonstige Interferone:

Weitere Entwicklungen zur Verbesserung des Interferons zielen auf eine Modifikation der immunmodulierenden Effektivität sowie auf Alternativen zum Erreichen einer langanhaltenden Wirksamkeit. Die verschiedenen Substanzen finden sich bisher lediglich in Phase 1/2 Studien.

Interferon-omega, weist eine 70%ige Homologie zu Interferon alfa auf und soll über eine Pumpe über 3 Monate gleichmäßig appliziert werden.

Locteron ist ein rekombinantes Interferon alfa welches durch ein spezielles System verzögert linear freigesetzt wird, so dass eine 2-wöchentliche Applikation möglich wäre.

Hyperglykolisiertes Interferon erhält seine verlängerte Wirksamkeit über eine verstärkte Glykolisierung und soll eine effektivere Rezeptorbindung aufweisen.

Beim pegyliertes Interferon lambda wird die Wirkdauer herkömmlich über eine Pegylierung erreicht, während die immunmodulatorische Wirksamkeit durch die Verwendung von Interferon lambda optimiert werden soll.

Beloferon schließlich ist ein oral verfügbares Interferon mit einem Aminosäureaustausch an einer Position. In Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass Beloferon vom Intestinum ins Blut aufgenommen werden konnte und damit gleiche Konzentrationen im Blut erreicht hat wie mit einer subkutanen Injektion. Phase 1 Studien wurden bisher noch nicht initiiert.

1.4.4.2 Entwicklungen zum Ribavirin

Auch wird versucht Substanzen mit ähnlichem Wirkmechanismus zu finden, bei denen die Nebenwirkungen (vor allem die hämolytische Anämie) nicht so ausgeprägt ist.

Taribavirin (bekannt auch als Viramidin) ist ein sogenanntes Prodrug, dass erst in der Leber zu Ribavirin umgewandelt wird. Dadurch kommt es zu einer wesentlich geringeren Aufnahme durch rote Blutkörperchen und in der Folge zu einer verringerten Anämie. In einer randomisierten klinischen Studie kam es mit Taribavirin signifikant seltener zum Auftreten von Anämien als mit Ribavirin, jedoch waren insgesamt die Ansprechraten mit Taribavirin gegenüber der Therapie mit Ribavirin niedriger²⁷. Daraufhin wurde eine weitere Studie mit höheren Taribavirin Dosierungen initiiert, hier konnten die Ansprechraten nicht signifikant erhöht werden, jedoch kam es zu einem verminderten Auftreten von Anämien²⁸.

1.4.4.3 Neue Immunmodulatoren

Zu dieser Gruppe gehören die Toll-like-Rezeptor-Agonisten, die bisher allerdings in klinischen Prüfungen nur eine geringe Wirksamkeit gezeigt haben. Die weitere Entwicklung bleibt hier abzuwarten, zudem klinisch relevante Nebenwirkungen beschrieben wurden.

1.4.4.4 Neue direkt antivirale Substanzen (STAT-C, „Specifically targeted antiviral therapy for HCV“)

Die Entwicklung von HCV-spezifischen Hemmstoffen stellt ein neues Prinzip für die Behandlung von Patienten mit chronischer Hepatitis C dar. Am weitesten fortgeschritten ist die klinische Prüfung von NS3-Proteaseinhibitoren und Polymeraseinhibitoren.

Proteaseinhibitoren:

Es handelt sich hierbei um Substanzen, die spezifisch in den Replikationszyklus des HCV-Virus eingreifen und die NS3/4A-Protease inhibieren. In ersten klinischen Studien zeigten sie eine hohe antivirale Aktivität in der Monotherapie und eine gute Verträglichkeit, allerdings kam es unter der Monotherapie zur Entwicklung von Resistenzen.

In dieser Arbeit wird daher überprüft, ob eine zusätzliche Kombination einer dieser Substanzen (Telaprevir) mit Peginterferon zum Einen die Entwicklung dieser Resistenzen vermindern kann, zum Anderen die antivirale Aktivität dadurch erhöht werden kann und ob die Verträglichkeit durch die Kombination beeinträchtigt wird bzw. sich verändert.

Polymeraseinhibitoren:

Bei den Inhibitoren der RNA-abhängigen RNA-Polymerase (NS5B Protein) werden nukleosidische mit Bindung im aktiven Zentrum und nicht-nukleosidische mit Bindung an allosterischen Regionen unterschieden.

1.5 Fragestellung der Arbeit

Telaprevir ist ein selektiver und spezifischer peptidomimetischer Inhibitor der NS3•4A Protease mit dem Ziel die HCV Replikation zu blockieren und wird gegenwärtig bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis C Infektion evaluiert. Ziel dieser Studie ist es, Erkenntnisse über die Therapie mit Telaprevir in Kombination mit Peginterferon alfa-2a zu gewinnen. Es wird erwartet, dass durch die Kombination von Telaprevir mit Peginterferon alfa-2a es zu einer Effektivitätssteigerung der Therapie mit einem schnelleren und einer ausgeprägteren Reduktion der HCV-RNA kommt.

In einer vorhergehenden Phase 1 Studie mit einer Telaprevir-Monotherapie konnten bei den Sequenzanalysen eine Selektion von viralen Resistenzmutationen gezeigt werden. Es wird erwartet, dass durch die Kombination von Telaprevir mit Peginterferon alfa-2a die Selektion solcher Mutationen verhindert werden kann bzw. reduziert werden kann.

In dieser Studie nahmen Patienten mit einer chronischen Hepatitis C Infektion und einem Genotyp 1 teil, die bisher noch keine Therapie erhalten hatten. Nach Beendigung der 2-wöchigen Studientherapie wurde allen Patienten die Fortführung mit der Standardtherapie mit Peginterferon alfa-2a und Ribavirin für 48 Wochen angeboten. Frühere Studien konnten bereits zeigen, dass eine niedrige Ausgangsviruslast vor der Standardtherapie einen prognostisch günstigen Faktor für das dauerhafte Therapieansprechen darstellen. Bei der Telaprevir-Monotherapie kam es zu einer signifikanten Reduktion der HCV-RNA und bisher gibt es keine Studie, die untersuchte, ob eine Reduktion der HCV-RNA vor der Standardtherapie ebenso einen prognostisch günstigeren Faktor darstellt.

Bei Patienten mit einem sehr raschen Therapieansprechen (HCV-RNA nicht mehr im Serum nachweisbar innerhalb von 5 Tagen unter der Therapie), die unter der Therapie negativ blieben, wurde zunächst die Standardtherapie nicht initiiert. Bei diesen Patienten wurde die HCV-RNA engmaschig kontrolliert und nur im Falle eines Wiederauftretens der HCV-RNA sofort die Standardtherapie eingeleitet.

2 Patienten und Methoden

2.1 Prüfziele

2.1.1 Primäres Prüfziel

Primäres Ziel dieser Arbeit war es, die Effekte von Telaprevir (VX-950) auf die virale Kinetik in Kombination mit Peginterferon alfa-2a (Pegasys) über einen Behandlungszeitraum von 14 Tagen zu evaluieren.

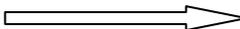
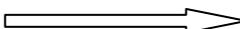
2.1.2 Sekundäre Prüfziele

Zu den sekundären Prüfzielen gehörten zum Einen die Evaluation der Sicherheit von Telaprevir (TVR) in Kombination mit Peginterferon alfa-2a (Peg-IFN-alfa-2a) und zum Anderen die Bestimmung des Resistenzprofils (Entwicklung von resistenten Mutationen) von TVR in der Kombination mit Peg-IFN-alfa-2a.

2.2 Studiendesign

Es handelte sich um eine randomisierte Studie. TVR wurde verblindet Placebo-kontrolliert verabreicht, Peg-IFN-alfa-2a wurde offen verabreicht. Insgesamt gab es drei verschiedene Behandlungsgruppen: Gruppe A wurde für 14 Tage mit TVR 750 mg alle 8 Stunden und Peg-IFN-alfa-2a 180 µg einmal wöchentlich behandelt, Gruppe B mit TVR 750 mg alle 8 Stunden als Monotherapie über 14 Tage und Gruppe C wurde für 14 Tage mit Placebo und Peg-IFN-alfa-2a 180 µg einmal wöchentlich behandelt. Über den gesamten 14-tägigen Behandlungszeitraum waren die Patienten unter stationärer Überwachung.

Nach Beendigung der Therapie innerhalb der 14-tägigen Studienphase wurde allen Patienten, deren Viruslast kontinuierlich abgefallen war und die keinen viralen Durchbruch (breakthrough) unter der 2-wöchigen Vorbehandlung hatten, die Weiterbehandlung mit der Standardtherapie (Peg-IFN-alfa-2a und Ribavirin) angeboten.

Gruppe	Anzahl Patienten	Medikament	Woche 1	Woche 2	Weiterbehandlung
A	8	TVR Peg-IFN			Standardtherapie mit Peg-IFN und RBV
B	8	TVR			Standardtherapie mit Peg-IFN und RBV
C	4	Peg-IFN Placebo			Standardtherapie mit Peg-IFN und RBV

*Standardtherapie mit Peginterferon alfa-2a und Ribavirin

Tabelle 4 Studiendesign

2.3 Patienten

2.3.1 Einschlusskriterien

Es wurden in dieser Studie bislang unbehandelte Patienten mit einer chronischen Hepatitis C die mit HCV-Genotyp 1 infiziert waren, eingeschlossen. Im Rahmen der Voruntersuchungen wurde die HCV-RNA zweimal bestimmt, bei beiden Tests musste die HCV-RNA größer oder gleich 1.0×10^5 IU/ml sein. Teilnehmen konnten Patienten zwischen 18 und 60 Jahren, Frauen durften nicht gebärfähig sein (entweder post-menopausal oder chirurgisch sterilisiert). Die ALT-Werte durften nicht höher als 4.0x über dem Normalwert sein. Die Patienten mussten in einem guten gesundheitlichen Zustand sein und durften bei der körperlichen Untersuchung keine klinisch relevanten Erkrankungen zeigen. Männliche Patienten mussten einwilligen, eine hoch effektive Empfängnisverhütung während der gesamten Behandlung und bis zu einem Zeitraum 6 Monate nach Beendigung der Therapie zu praktizieren. In den laborchemischen Kontrollen durften sich keine Auffälligkeiten zeigen, ebenso nicht im EKG und bei den Blutdruckmessungen. Vor Beginn der Voruntersuchungen mussten die Patienten ausführlich über die Behandlung aufgeklärt werden und es musste eine schriftliche Einwilligung der Patienten erfolgen. Die Patienteneinwilligung wurde zuvor durch die Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes bewilligt.

2.3.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden Patienten, bei denen jegliche Kontraindikationen gegen eine Interferonbasierte Therapie vorlagen:

- - Schilddrüsenfunktionsstörungen
- - Kardiologische Vorerkrankung
- - Psychiatrische Erkrankung
- - Erhöhung der antinukleären Antikörper (ANA) über 1:160.

Des Weiteren durften keine Patienten mit einer dekompensierten Lebererkrankung teilnehmen, sowie Patienten mit einer alkohol-induzierten Lebererkrankung oder einer primär biliären Zirrhose. Auch wurden keine Patienten mit einer Koinfektion (wie z.B. einer zusätzlichen HIV oder Hepatitis B Infektion) eingeschlossen. Die Einnahme verschreibungspflichtiger Medikamente musste 4 Wochen vor Beginn der Therapie beendet worden sein und es durfte kein Drogenkonsum innerhalb der letzten 6 Monate vor Therapiebeginn stattgefunden haben. Die Patienten durften an keiner anderen klinischen Prüfung innerhalb von 90 Tagen vor Therapiebeginn teilgenommen haben. Auch durften keine Patienten teilnehmen, bei denen eine bekannte Unverträglichkeit gegen Tartrazin vorliegt. Tartrazin, auch bekannt als E102, ist ein synthetisches Zitronengelb und dient als synthetischer Farbstoff.

2.4 Methoden

2.4.1 Studienmedikation

Telaprevir: TVR ist ein oral verfügbarer, selektiver NS3/4A Proteaseinhibitor als Tablette mit jeweils 250 mg. Telaprevir ist ein Diastereomer mit einer S-Konfiguration an Position 21 und kann ebenso durch Änderung an dieser Position als R-Diastereomer (VRT-127394) vorliegen. Das Verhältnis von S:R Diastereomeren liegt bei ungefähr 60:40.

Telaprevir oder das Placebo wurde in verblindeter Form in vorgefüllten Flaschen für jeden einzelnen Patienten verpackt zur Verfügung gestellt. In jeder Flasche befanden sich insgesamt 144 Tabletten, 128 Tabletten reichten für die 14-tägige Dosierungsperiode aus und zusätzlich

waren dann noch 14 Tabletten als Ersatz in der Flasche, falls Tabletten ersetzt werden mussten.

Die Randomisierung erfolgte über ein „IVRS-System“ (Interactive Voice Response Service). Eine Kopie der Randomisierungscodes wurde unter Einhaltung der SOP's (Standard Operating Procedures) bei Vertex Pharmaceuticals Inc. verschlossen aufbewahrt, so dass eine sofortige Entblindung in Notfällen ermöglicht gewesen wäre. Telaprevir und Placebo wurden bei Raumtemperatur aufgewärmt.

Placebo: Darreichungsform als Tablette ohne Wirkstoff. Gleiche Verpackung wie bei Telaprevir.

Pegasys® (pegyliertes Interferon alfa-2a): wurde als fertige Injektionspritzen mit jeweils 180 Mikrogramm zur subkutanen Injektion zur Verfügung gestellt. Pegasys® wurde entsprechend der Richtlinien der Packungsbeilage im Kühlschrank aufbewahrt und eine halbe Stunde vor Verabreichung bei Raumtemperatur gelagert.

2.4.2 Randomisierung, Patientennummern und Zuteilung zu Gruppen

Nach Aufklärung der Patienten, der schriftlichen Einwilligung der Patienten und nach Überprüfung aller Ein- u. Ausschlusskriterien durch die entsprechenden Voruntersuchungen innerhalb der Screeningvisiten, wurde ein IVRS-System angerufen. Dieses System hat dann den Patienten eine entsprechende 3-stellige Nummer zugeteilt, die der Zugehörigkeit zu einer bestimmten Behandlungsgruppe zugeordnet war. Ein Bestätigungsschreiben wurde anschließend an das Studienzentrum gefaxt, auf dem erneut die zugeordnete Nummer angegeben wurde und damit entweder die Zuteilung zu einer Medikamentenlieferung mit Telaprevir oder dem Placebo. Außerdem wurde von dem IVRS-System mitgeteilt, ob die Patienten zusätzlich noch Pegasys erhielten.

2.4.3 Dosierungsschema

Die Patienten wurden drei unterschiedlichen Gruppen randomisiert zugeordnet (Gruppe A, B oder C). Die Aufteilung ist aus nachfolgender Tabelle ersichtlich.

Gruppe	Behandlung
Gruppe A (8 Patienten)	TVR 1250 mg bei 1.Dosierung (Tag 2), danach 750 mg alle 8 Stunden für 14 Tage (Tag 2-15) und Pegasys 180 µg Injektion einmal wöchentlich an Tag 1 und Tag 8.
Gruppe B (8 Patienten)	TVR 1250 mg bei 1.Dosierung (Tag 2), danach 750 mg alle 8 Stunden für 14 Tage (Tag 2-15).
Gruppe C (4 Patienten)	Placebo 1250 mg bei 1.Dosierung (Tag 2), danach 750 mg alle 8 Stunden für 14 Tage (Tag 2-15) und Pegasys 180 µg Injektion einmal wöchentlich an Tag 1 und Tag 8.

2.4.3.1 Dosierungszeitpunkte und Essenszeiten

Telaprevir oder Placebo sollten im Abstand von 8 Stunden für insgesamt 14 Tage eingenommen werden. Die erste Dosierung erfolgte an Tag 2 mit einer einmaligen höheren Dosis von 1250 mg zur Aufsättigung, danach erfolgten Dosierungen von 750 mg bis zu Tag 15. Als mögliches Beispiel für die Dosierungszeitpunkte wurde morgens 8 Uhr, dann 16 Uhr und für letzte Dosis dann 24 Uhr angegeben. Bei anderen Dosierungszeitpunkten wurden die Zeitpunkte entsprechend verschoben.

Die Tabletten wurden mit jeweils 240 ml stillem Wasser eingenommen, bei der 1.Dosis insgesamt 5 Tabletten mit jeweils 250 mg und dann jeweils 3 Tabletten.

Die Tabletten wurden 3 Stunden nach Nahrungsaufnahme eingenommen. Es gab keine speziellen Nahrungsmitteldiäten.

2.4.3.2 Dokumentation der Medikamentenausgabe

Die genaue Dokumentation über Erhalt, Ausgabe mit entsprechenden zeitlichen Angaben, sowie Datum wurde auf entsprechenden Formularen vermerkt.

Am Ende der Studie wurde eine Inventur durchgeführt und die übrig gebliebene Medikation wurde an Vertex Pharmaceuticals Inc. zurückgesendet.

2.4.4 Durchführung der Patientenvisiten

2.4.4.1 Screening

Eine ausführliche Voruntersuchung, um die Eignung der Teilnahme an der Therapie zu überprüfen, erfolgte innerhalb von 21 Tagen vor Therapiebeginn. Vor Durchführung dieser Untersuchungen musste eine schriftliche Einwilligung der Patienten vorliegen. Insgesamt wurden innerhalb der 21 Tage vor Start zwei unterschiedliche Voruntersuchungen durchgeführt. Bei beiden Untersuchungen mussten die Kriterien der Ein- u. Ausschlusskriterien erfüllt sein. Patienten, die alle Kriterien erfüllten, wurden spätestens 5 Werktage vor der 1. Dosierung randomisiert.

Folgende Untersuchungen wurden bei den unterschiedlichen Visiten durchgeführt:

1. Screeningvisite (Tag -21 bis Tag -10)

- Schriftliche Einwilligung der Patienten
- Erhebung der Krankenvorgeschichte
- Körperliche Untersuchung
- Bestimmung von Körpergröße und Körpergewicht
- Drogen- u. Alkoholscreening
- EKG
- Bestimmung der Vitalparameter (Messung Blutdruck, Puls, Temperatur)
- Laborchemische Untersuchung (Hämatologie, Klinische Chemie)
- Pharmakodynamische Untersuchungen (Bestimmung der HCV-RNA)
- Bestimmung des HCV-Genotyps (Verifizierung, dass es sich um Genotyp 1 handelt)

2. Screeningvisite (Tag -21 bis Tag -10)

- Erneute laborchemische Untersuchung
- Pharmakodynamische Untersuchung (Retest HCV-RNA)

Randomisation (Tag -11 bis Tag -5)

Patienten, die alle Kriterien erfüllten, wurden mit Hilfe eines elektronischen, interaktiven Spracherkennungssystem (IVRS) in die unterschiedlichen Behandlungsarme randomisiert.

2.4.4.2 Dosierungsperiode

Alle Patienten wurden für den kompletten Behandlungszeitraum mit dem Studienmedikament (insgesamt für 16 Tage) unter stationären Bedingungen überwacht.

1. Behandlungstag (Tag 1, vor 1. Dosis):

Es erfolgte eine stationäre Aufnahme der Patienten bis um 10 Uhr morgens. Anschließend wurde eine körperliche Untersuchung und eine laborchemische Blutuntersuchung durchgeführt. Des Weiteren wurden verschiedene andere Blutuntersuchungen (HCV-RNA, Sequenzanalyse zur Resistenzbestimmung, Bestimmung von Neopterin, Bestimmung der Genexpression) sowie ein erneuter Drogen- u. Alkoholtest durchgeführt. Unmittelbar bevor der ersten Peginterferon-alfa-2a (Peg-IFN-alfa-2a) Injektion wurde den Patienten noch eine Blutuntersuchung zur pharmakokinetischen Untersuchung des Interferonspiegels entnommen. Anschließend wurde die 1. Interferonspritze subkutan injiziert.

2. Behandlungstag (Tag 2):

Es erfolgte morgens zunächst eine Messung der Vitalparameter und eventuelle aufgetretene Nebenwirkungen wurden dokumentiert. Nach einer Blutuntersuchung (Bestimmung von HCV-RNA, Neopterin, pharmakokinetische Bestimmung von Peg-IFN und Telaprevir (TVR) wurde die 1. Dosis von Telaprevir verabreicht. Anschließende pharmakokinetische Untersuchungen und Bestimmungen der HCV-RNA erfolgten 0.25, 0.50, 0.75, 1, 2.5, 4, 6, 8, 10, 12, 16 und 24 Stunden nach der 1. Medikation.

3. Behandlungstag (Tag 3):

Nach Dokumentation möglicher Nebenwirkungen erfolgte eine Blutuntersuchung (Hämatologie, Klinische Chemie), die HCV-RNA wurde 6,12 und 16 Stunden nach der Morgendosis bestimmt.

4. Behandlungstag (Tag 4):

Zunächst wurden erneut die Nebenwirkungen dokumentiert und anschließend erfolgte eine Blutuntersuchung (Pharmakokinetische Untersuchung von Peg-IFN-alfa-2a und Telaprevir, Sequenzierung zur Mutationsanalyse) und eine Bestimmung der HCV-RNA vor Dosierung, 1, 6 und 12 Stunden nach Dosierung.

5. Behandlungstag (Tag 5):

An diesem Tag wurden nur die Nebenwirkungen dokumentiert.

6. Behandlungstag (Tag 6):

Nach der Dokumentation der Nebenwirkungen erfolgte eine Blutuntersuchung zur Bestimmung der laborchemischen Parameter (Hämatologie, Klinische Chemie). Gegen 20 Uhr erfolgte dann eine erneute Blutentnahme zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Peg-IFN-alfa-2a.

7. Behandlungstag (Tag 7):

Dokumentation der Nebenwirkungen.

8. Behandlungstag (Tag 8):

Nach der Dokumentation der Nebenwirkungen erfolgte eine Blutuntersuchung. Vor der 2. Peg-IFN-alfa-2a Injektion erfolgte eine Blutuntersuchung zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Peg-IFN und von Telaprevir, eine Bestimmung HCV-RNA, der Genexpression und von Neopterin. Eine zweite Bestimmung der Pharmakokinetik von Peg-IFN-alfa-2a erfolgte abends um 20 Uhr.

9. Behandlungstag (Tag 9):

Es erfolgte eine laborchemische Blutuntersuchung (Hämatologie, Klinische Chemie), sowie die Dokumentation der Nebenwirkungen. Am Abend um 20 Uhr wurde die Pharmakokinetik von Peg-IFN-alfa-2a bestimmt.

10. Behandlungstag (Tag 10):

Die Nebenwirkungen wurden dokumentiert.

11. Behandlungstag (Tag 11):

Nach der Dokumentation der Nebenwirkungen erfolgte eine Blutuntersuchung zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Peg-IFN-alfa-2a und der Pharmakodynamik (HCV-RNA).

12. Behandlungstag (Tag 12):

Vor der ersten Blutentnahme zur Bestimmung der Sequenzanalyse und einer laborchemischen Bestimmung (Hämatologie, Klinische Chemie) erfolgte die Dokumentation der

Nebenwirkungen. Abends wurde eine erneute Blutuntersuchung zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Peg-IFN-alfa-2a um 20 Uhr durchgeführt.

13. Behandlungstag (Tag 13):

Dokumentation der Nebenwirkungen, anschließende Blutentnahme zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Telaprevir und der Pharmakodynamik (HCV-RNA).

14. Behandlungstag (Tag 14):

Es erfolgte nur die Dokumentation der Nebenwirkungen.

15. Behandlungstag (Tag 15):

Es wurde zunächst eine körperliche Untersuchung durchgeführt und die Vitalparameter bestimmt. Anschließend erfolgte vor der Dosierung eine Blutuntersuchung zur Bestimmung der Pharmakokinetik von Telaprevir, der HCV-RNA, der Sequenzierungsanalyse und von Neopterin. Weitere pharmakokinetische Untersuchungen von Telaprevir erfolgten 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2.5, 4, 6, 8, 10, 12, 16 und 24 Stunden nach der letzten Dosierung.

Um 20 Uhr erfolgte zusätzlich die Bestimmung der Pharmakokinetik von Peg-IFN-alfa-a2.

16. Behandlungstag (Tag 16):

Es erfolgte eine Blutuntersuchung zur Bestimmung der Genexpression, danach wurden die Patienten aus der stationären Behandlung entlassen.

2.4.4.3 Nachbeobachtungsphase innerhalb des Studienprotokolls

Nachbeobachtungsvisite innerhalb von 7 bis 10 Tage nach Studienende:

Eine erneute körperliche Untersuchung, eine Bestimmung der Vitalparameter und ein EKG wurden durchgeführt. Anschließend erfolgte eine Blutuntersuchung zur Bestimmung der HCV-RNA, Sequenzierungsanalyse, Genexpression und von Neopterin.

Nachbeobachtungsvisit 12 Wochen nach Studienende:

12 Wochen nach Studienende erfolgte eine Bestimmung der HCV-RNA, sowie eine Sequenzierungsanalyse.

2.4.5 Studienspezifische Untersuchungen

2.4.5.1 Laborchemische Untersuchungen

Bestimmung der Klinischen Chemie:

Bilirubin (direkt und indirekt), Alkalische Phosphatase, Gamma-GT, AST (SGOT), ALT (SGPT), LDH, Kreatinin, Harnsäure, Gesamteiweiß, Glukose, Phosphat, Na, K, Ca, Cl, Albumin.

Hämatologie:

Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Thrombozyten, Differentialblutbild, MCV, MCH, MCHC, Retikulozyten.

Blutgerinnung:

Prothrombin, INR (Quick-Wert).

Drogen- und Alkoholscreening:

Opiate, Methadon, Kokain, Amphetamine, Barbiturate, Benzodiazepine, Trizyklische Antidepressiva, Alkohol.

Nur bei Screening:

HBsAg, anti-HIV 1 und 2, ANA, FSH.

Überwachung der Laborparameter:

Alle klinisch relevanten Laborwertveränderungen wurden als Unerwünschtes Ereignis („Adverse Event“) im CRF (Case report form) dokumentiert.

2.4.5.2 Elektrokardiogramm (EKG) und Vitalparameter

Durchführung eines Standard-12-Kanal-EKG. Klinisch signifikante Veränderungen wurden als „Adverse Event“ dokumentiert. Die EKG's wurden jeweils vor den Blutuntersuchungen und vor Messung der Vitalparameter durchgeführt.

Während der 2-wöchigen Behandlung wurden die Vitalparameter jeweils vor der ersten Dosierung am Morgen gemessen. Zu den Vitalparametern gehörte die Messung des Blutdruckes, der Pulsfrequenz und der Atemfrequenz.

Körpertemperatur-Messungen wurden vor der ersten Medikamenteneinnahme an Tag 1 bis zu 48 Stunden nach der ersten Dosierung (Tag 3) in jeweils vierstündigen Intervallen durchgeführt.

2.4.5.3 Körperliche Untersuchung

Es erfolgte eine komplette körperliche Untersuchung einschließlich Kopf/Hals/Schilddrüse, Augen/Ohren/Nase, Brustkorb, Lunge, Herz, Lymphknoten, Abdomen, Haut, muskuläres Sklettsystem sowie eine orientierende neurologische Untersuchung.

2.4.6 Pharmakokinetische Untersuchungen

Während der gesamten Studie erfolgten zahlreiche Blutentnahmen zur Bestimmung der Konzentrationen von Telaprevir (S-Diastereomer) und VRT-127394 (R-Diastereomer) im Plasma und von Peginterferon alfa-2a im Serum.

2.4.6.1 Bestimmung von Telaprevir und VRT-127394 Konzentrationen

Zu bestimmten im Protokoll angegebenen Zeitpunkten (aufgeführt in Appendix am Ende) wurde venöses Blut in 5 ml K3 EDTA-Vakutainern entnommen. Nach Entnahme wurde der Vakutainer 3-4mal vorsichtig geschüttelt, um eine Gerinnung zu vermeiden und dann im Eisbad gekühlt. Innerhalb von einer Stunde wurden die Proben in einer Kühlzentrifuge mit einer Umdrehungszahl von 1500 x g für 10 Minuten bei +4°C zentrifugiert und dann anschließend mit einer sterilen Pasteur Pipette auf 2 Kryoröhrchen mit 1.5 ml Volumen zu ungefähr je 0.75 ml aufgeteilt. Zu jedem Kryoröhrchen wurde dann 37.5 µl Ameisensäure zugefügt zur Stabilisierung von Telaprevir. Danach wurde das Plasma wieder vorsichtig geschüttelt, für 10 Minuten auf Trockeneis gelegt und dann im Anschluss bei -70 °C eingefroren.

Methode der Messung:

Konzentrationen von Telaprevir wurden zu verschiedenen Zeitpunkten (detaillierte Auflistung der verschiedenen Zeitpunkte im Anhang) mittels einer Massenspektrometrie bestimmt. Mit Hilfe der Software NONMEM (Pharsight Corporation, Mountain View, CA) wurde dann ein pharmakokinetisches Modell für Telaprevir und VRT-127394 berechnet.

2.4.6.2 Bestimmung der Konzentration von Peginterferon

Ungefähr 4 ml venöses Blut wurde in Vakutainer mit 4 ml Volumen und ohne zusätzliche Antikoagulanzen zu den angegebenen Zeitpunkten entnommen (Auflistung in Appendix).

Das Blut wurde anschließend auf Trockeneis zum Gerinnen gebracht und dann bei +4°C für 15 Minuten zentrifugiert. 1 ml Serum wurde dann gleichmäßig mit jeweils 0.5 ml auf 2 Kryoröhrchen pipettiert. Danach wurden die Proben bei -70 °C eingefroren.

Methode der Messung:

Die Konzentrationen von Peginterferon alfa-2a wurden zu den im Anhang angegebenen Zeitpunkten im Serum bestimmt und mittels eines enzymatischen immunolytischen Assays bestimmt.

2.4.6.3 Pharmakokinetische Parameter

Die zu untersuchenden pharmakokinetischen Parameter von Telaprevir, VRT-127394 im Plasma und von Peginterferon alfa-2a im Serum beinhalteten:

C_{\max}	Maximale Plasmakonzentration
t_{lag}	Dauer bis zum Zeitpunkt der ersten quantifizierbaren Konzentration
t_{\max}	Zeit, um die maximale Konzentration zu erreichen
λ_z	Eliminationskonstante
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
AUC	Fläche unter Konzentrations-Zeit-Kurve

2.4.7 Pharmakodynamische Untersuchungen

2.4.7.1 HCV-RNA-Bestimmungen

HCV-RNA-Bestimmungen erfolgten entsprechend den Angaben im Protokoll (aufgeführt in Appendix).

Bei jeder Blutuntersuchung wurde ungefähr 4 ml venöses Blut entnommen, welches bei +4°C für 15 Minuten zentrifugiert wurde und dann auf 2 Kryoröhrchen verteilt pipettiert wurde und im Anschluss wurden die Proben bei -70 °C eingefroren.

Die Proben wurden mittels des Roche COBAS Taqman (Roche Molecular Systems Inc., Branchburg, NJ) analysiert. Die quantitative Nachweisgrenze lag bei 30 IU/ml und die qualitative Nachweisgrenze lag bei 10 IU/ml.

2.4.7.2 HCV-RNA Sequenzanalyse

Bei jeder Blutentnahme wurde 4 ml venöses Blut in mit K2-EDTA gefüllten Vakutainer (zur Gerinnungshemmung) entnommen. Die Proben wurden vorsichtig gemischt und dann 2-8 °C für 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Danach wurden 2 ml Blut auf jeweils 2 Kryoröhrchen mit jeweils 1 ml verteilt pipettiert und dann wurde das Plasma bei -70 °C eingefroren.

Sequenzanalysen der HCV NS3 Domäne wurden vor Beginn der Therapie, während der Therapie und nach Ende der Therapie durchgeführt, um durch Telaprevir selektionierte Mutationen zu untersuchen. Die HCV-RNA wurde aus Plasma isoliert und die NS3-4A Domäne wurde mittels einer RT-PCR amplifiziert. Von 140 bis 560 µl Plasma wurde HCV-RNA unter Denaturierung isoliert. Ein komplementäres DNA-Fragment der NS3-Region wurde von der viralen RNA synthetisiert und von Primern amplifiziert, die die katalytische Domäne der NS3 Region flankieren (NS3_5, GGCGTGTGGGGACATCATC; NS3_3-1, GGTGGAGTACGTACGTGATGGGGC).

Aufgrund der teils niedrigen HCV-RNA Konzentrationen und / oder einer Sequenzvariabilität in der Bindungsregion des Primers, konnten einige Proben nicht nach diesem Protokoll amplifiziert werden (Nachweisbarkeitsgrenze ~ 1,000 IU/ml). In diesen Fällen wurde ein patientenspezifischer Assay entwickelt, mit dem eine gesteigerte Sensitivität auf 100 IU/ml erreicht wurde. PCR Primer wurden innerhalb der ersten 30 Nukleotide und der letzten 30 Nukleotide der HCV-NS3-Protease-Region basierend auf den entsprechenden Patienten-Sequenzen zu Therapiebeginn entworfen.

Die DNA dieser PCR wurde aufgereinigt und die isolierte DNA wurde kloniert.

Die Klonierungsplatten wurden zu Agencourt Biosciences (Beverly, MA) gesendet, wo insgesamt 96 Klone von jedem Zeitpunkt jedes Patienten amplifiziert wurden.

Sequenzanalyse:

Die Sequenzen wurden mit Hilfe einer „Mutational Surveyor“-Software (SoftGenetics, State College, PA) analysiert. Die ersten 543 Nukleotide (181 Aminosäuren) der NS3-Protease wurden analysiert.

Die klonierten Sequenzen wurden mit den entsprechenden Patienten-Sequenzen zu Therapiebeginn verglichen. Jede Veränderung mit mehr als 10% von der Ausgangs-Sequenz wurde als eine potentielle Mutation gewertet.

Dann wurden alle potentiellen Veränderungen mit Sequenzen aus der öffentlichen HCV-Sequenzdatenbank (www.hcv.lanl.gov/content/hcv-db/index) verglichen, um zu überprüfen, ob diese Veränderungen bereits beschrieben wurden.

2.4.8 Fortführung der Standardtherapie

Am Ende der 14-tägigen Studie wurde allen Patienten die ambulante Weiterbehandlung mit der Standardtherapie (SOC) mit Peginterferon alfa-2a und Ribavirin angeboten. Von den 20 Patienten entschlossen sich 19 die Standardtherapie fortzuführen. 1 Patient lehnte die Weiterbehandlung aufgrund von Angst vor Nebenwirkungen der Therapie ab.

Patientenvisiten unter der Standardtherapie wurden im Ermessen der behandelten Ärzte durchgeführt. Typischerweise sollten die Visiten unter der Standardtherapie 2 Wochen nach Beginn der Therapie, dann noch mal nach 2 weiteren Wochen und dann im 4 Wochen Rhythmus durchgeführt werden. Eine weitere Kontrolle sollte am Ende der Therapie sowie 4 Wochen, 8 Wochen, 12 Wochen und 24 Wochen nach Therapieende durchgeführt werden.

Von den 19 Patienten beendeten insgesamt 10 Patienten die Standardtherapie nach 24 Wochen (4 Patienten aus der Telaprevir-Gruppe und 6 Patienten aus der Telaprevir und Peginterferon-Gruppe). Die Entscheidung hierfür wurde von den Patienten nach Beratungsgesprächen mit dem behandelten Arzt getroffen.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Patienten

Insgesamt wurden in diese Studie 20 Patienten randomisiert. Alle Patienten beendeten den Behandlungszeitraum von 14 Tagen und die anschließenden Nachbeobachtungsvisiten 1 Woche und 12 Wochen nach Therapieende und wurden in die Endanalyse mit eingeschlossen. Von den 20 Patienten waren 12 (60%) männlich und alle Patienten waren Kaukasier (Tabelle 5). Die durchschnittliche HCV-RNA-Werte vor Therapiebeginn waren in allen 3 Behandlungsgruppen ähnlich hoch. Alle Patienten haben die Studienmedikation über den kompletten Zeitraum ordnungsgemäß eingenommen.

Parameter	Placebo + Peg-IFN (n=4)	Telaprevir (n=8)	Telaprevir + Peg-IFN (n=8)
Geschlecht, n (%)			
männlich	3 (75)	3 (38)	6 (75)
weiblich	1 (25)	5 (63)	2 (25)
Rasse, n (%)			
Kaukasier	4 (100)	8 (100)	8 (100)
Alter			
Durchschnitt	41.0 (21, 42)	52.5 (41, 61)	43.0 (27, 51)
BMI, kg/m ²			
Mittlerer	23 (21, 31)	28 (23, 32)	25 (19, 30)
HCV Subtyp, n (%)			
1a	1 (25)	4 (50)	1 (13)
1b	3 (75)	4 (50)	7 (88)
HCV RNA IU/mL, log ₁₀			
Median	6.97 (5.33, 7.44)	6.54 (5.75, 7.58)	6.70 (6.13, 7.24)
ALT, U/L (Normalwert: 6-34)			
Median	81 (40, 132)	92 (30, 163)	42 (31, 50)
AST, U/L (Normalwert: Frauen 9-34; Männer 11-36)			
Median	47 (28, 54)	54 (28, 118)	32 (21, 48)

n Anzahl der Patienten

ALT, Alanin Aminotransferase; AST, Aspartat Aminotransferase; BMI, body mass index; HCV, hepatitis C virus; Peg-IFN, peginterferon alfa-2a; SD, Standardabweichung.

Tabelle 5 Baseline Charakteristika Patienten

3.2 Pharmakokinetik

Die maximale Konzentration von Telaprevir (C_{\max}) am ersten Tag der Dosierung war nicht signifikant unterschiedlich in der Telaprevir-Gruppe zu der Gruppe mit Telaprevir und Peginterferon ($P=0.81$). Die mittlere maximale Konzentration betrug in der Telaprevir-Gruppe 3695 ng/ml und in der Gruppe mit Telaprevir und Peginterferon 3391 ng/ml. Es zeigte sich eine geringgradig höhere mittlere Konzentration von Telaprevir zu Tag 14 (steady state) in der Gruppe mit Telaprevir und Peginterferon, als in der Telaprevir-Monotherapiegruppe, allerdings war der Unterschied nicht signifikant ($p=0.07$ für C_{\max}).

Die Konzentrationen von Peginterferon alfa-2a entsprach im Wesentlichen in beiden Behandlungsgruppen (Peginterferon plus Placebo und Peginterferon plus Telaprevir) den aus der Packungsbeilage bekannten Angaben.

Da es sich hier nur um eine kleine Patientengruppe handelte, können aus den Ergebnissen keine Rückschlüsse von dem Effekt von Telaprevir auf die Peginterferon alfa-2a Konzentrationen gezogen werden. Hierfür müssen die Ergebnisse weiterer, größerer, multizentrischer Phase-II-Studien abgewartet werden.

3.3 Pharmakodynamik

Die mittleren HCV-RNA-Werte von Beginn der Therapie bis zu dem Behandlungstag 15 sind in Abbildung 3 dargestellt.

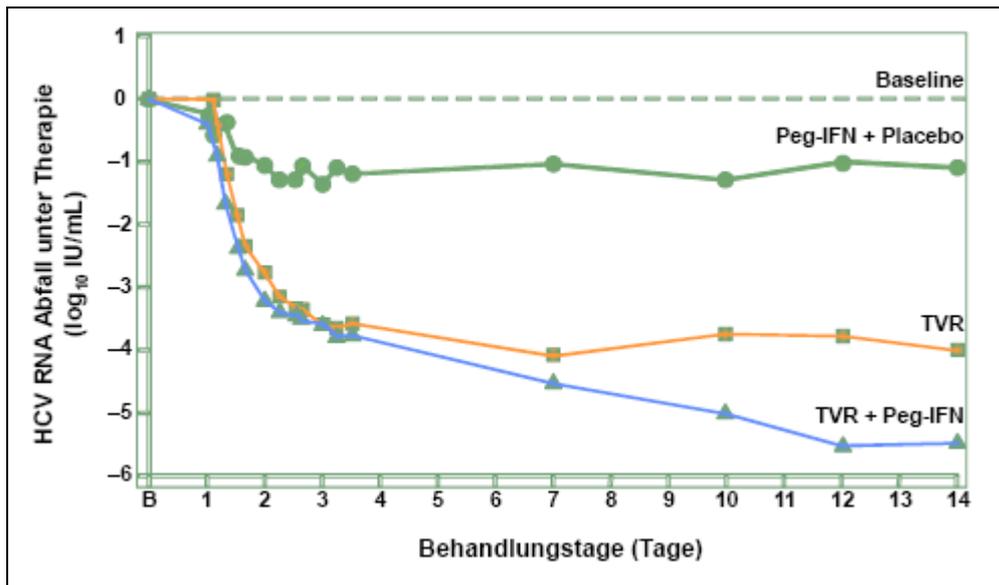


Abbildung 3 Mittlere Hepatitis C Virus (HCV) RNA Konzentrationen von Beginn der Therapie bis zum Ende der Therapie (Tag 15). Telaprevir wurde an Tag 2 beginnend eingenommen bis zu Tag 15. Peginterferon alfa-2a wurde an Tag 1 und Tag 8 verabreicht. Plasma HCV RNA Konzentrationen wurden mittels Roche COBAS TaqMan HCV Assay bestimmt. Tag 0 ist die mittlere Konzentration von allen Patienten zum Screening. Konzentrationen unter der qualitativen Nachweisgrenze (10 IU/mL) wurden Werte von 5 IU/mL ($\log_{10}=0.698970$) zugeordnet. Konzentrationen unter der quantitativen Nachweisgrenze (30 IU/mL) wurden Werte von 20 IU/mL ($\log_{10}=1.30103$) zugeordnet. Peg-IFN: Peginterferon-alfa-2a.

Die durchschnittliche Reduktion der HCV-RNA von Therapiebeginn bis zu Tag 15 betrug $-1.09 \log_{10}$ (Bereich, -2.08 zu -0.46) in der Placebo und Peginterferon alfa-2a Gruppe $-3.99 \log_{10}$ (Bereich, -5.28 zu -1.26) in der Telaprevir-Gruppe und $-5.49 \log_{10}$ (Bereich, -6.54 zu -4.30) in der Telaprevir und Peginterferon-Gruppe. An Tag 15 war bei 6 Patienten aus der Gruppe mit Telaprevir und Peginterferon alfa-2a die HCV-RNA unter der quantitativen Nachweisgrenze (<30 IU/mL) und 4 Patienten hatten keine nachweisbare HCV-RNA mehr im Serum (<10 IU/mL) (Tabelle 6).

Aus der Telaprevir-Gruppe war bei einem Patienten die HCV-RNA im Serum nach 15 Tagen nicht mehr nachweisbar.

Tag	Telaprevir (n=8)			Telaprevir + Peg-IFN (n=8)		
	Nicht nachweisbar (<10 IU/mL)	Nachweisbar		Nicht nachweisbar (<10 IU/mL)	Nachweisbar	
		<LLOQ (<30 IU/mL)	≥LLOQ (≥30 IU/mL)		<LLOQ (<30 IU/mL)	≥LLOQ (≥30 IU/mL)
1	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
2	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
3	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
4	0	0	8 (100)	0	0	8 (100)
8	0	1 (13)	7 (88)	0	1 (13)	7 (88)
11	0	0	8 (100)	1 (13)	4 (50)	3 (38)
13	0	1 (13)	7 (88)	4 (50)	3 (38)	1 (13)
15	1 (13)	0	7 (88)	4 (50)	2 (25)	2 (25)

Werte sind angegeben in n (%).

LLOQ: Unter der quantitativen Nachweisbarkeitsgrenze; Peg-IFN: Peginterferon alfa-2a.

Tabelle 6 Anzahl der Patienten mit quantitativer oder qualitativer Nichtnachweisbarkeit

Insgesamt zeigten alle Patienten einen biphasischen Verlauf der HCV-RNA-Kurve. Die Kurve zeigte in der ersten, schnellen Phase einen gleichen Verlauf in der Telaprevir-Gruppe und der Behandlungsgruppe mit Telaprevir und Peginterferon alfa-2a. In der zweiten Phase war der Abfall der HCV-RNA länger anhaltend in der Gruppe mit Telaprevir und Peginterferon alfa-2a als in der Telaprevir-Gruppe. Alle Patienten aus der Telaprevir und Peginterferon alfa-2a Gruppe hatten unter der Therapie einen anhaltenden virologischen Abfall. In der Telaprevir-Gruppe hatten 4 Patienten eine anhaltende virologische Reduktion, 2 Patienten hatten eine Plateauphase und 2 Patienten hatten ein Anstieg der HCV-RNA unter der Therapie.

Von den insgesamt 20 Patienten starteten 19 innerhalb von einer Woche nach Beendigung der 2-wöchigen Studie die Standardtherapie. Ein Patient lehnte die Standardtherapie und wurde nicht weiterbehandelt. Dieser Patient hatte unter Therapie ein Rebound der HCV-RNA mit der höchsten Viruslast in der Telaprevir-Gruppe zwischen dem 11. und 15. Behandlungstag.

12 Wochen nach Beendigung der Studientherapie war bei 5 Patienten aus der Telaprevir-Gruppe die HCV-RNA nicht nachweisbar und bei allen 8 Patienten aus der Gruppe mit Telaprevir und Peginterferon (Tabelle 7).

HCV RNA zu Woche 12	Behandlungsgruppe während der Studie		
	Placebo + Peg-IFN (n=4)	Telaprevir (n=8)	Telaprevir + Peg-IFN (n=7)
Frühes Ansprechen (≥ 2 -log ₁₀ Abfall gegenüber Baseline)	4 (100%)	7 (100%)	8 (100%)
Nachweisbare HCV RNA, \geq LLOQ (≥ 30 IU/mL)	1 (25%)	1 (14%) ^a	0
Nachweisbare HCV RNA, $<$ LLOQ (< 30 IU/mL)	2 (50%)	1 (14%)	0
Nichtnachweisbare HCV RNA (< 10 IU/mL)	1 (25%)	5 (71%)	8 (100%)

^a Der Patient mit einer HCV RNA ≥ 30 IU/mL zu Woche 12 hatte eine HCV RNA von 86 IU/mL. LLOQ: quantitative Nachweisgrenze; Peg-IFN: Pegyliertes Interferon alfa-2a. Ein Patient aus der Telaprevir-Gruppe ist nicht auf dieser Tabelle berücksichtigt, da er nicht mit der Standardtherapie begonnen hatte. Dieser Patient hatte zu Woche 12 eine HCV-RNA von 2,930,000 IU/mL.

Tabelle 7 HCV-RNA Ergebnisse 12 Wochen nach Beendigung der 2-wöchigen Studie. Die Patienten waren zu diesem Zeitpunkt noch unter der Therapie mit Peg-IFN und RBV.

3.4 HCV-RNA Sequenzanalyse

Für die Analyse wurden insgesamt von jedem Patienten 8 Zeitpunkte ausgewertet: an Tag 1 vor der ersten Dosierung, an Tag 4, 8, 12 und an Tag 15 (letzter Dosierungstag) und zu den Nachbeobachtungsvisiten nach 1 Woche, 12 Wochen und nach 24 Wochen nach Therapieende mit Telaprevir.

Als potentielle Resistenzmutationen wurden Veränderungen in mehr als 10% und bei mehr als einem Patienten gewertet. In den 4 Patienten, die nur Peginterferon alfa-2a in den ersten beiden Wochen erhielten, wurden keine Telaprevir-resistenten Mutationen identifiziert.

Insgesamt konnten Telaprevir-resistente Mutationen an 4 verschiedenen Aminosäurepositionen der HCV-NS3 Protease Dömane identifiziert werden: Position 36, 54, 155 und 156. Die am häufigsten vorkommende Mutationen waren: V36A/M, T54A, R155K/T und A156V/T. Diese Mutationen traten entweder als Einzelmutation auf (V36A/M, T54A, R155K/T, A156S/T/V) oder als Doppelmutationen auf (36/155 oder 36/156). Diese Mutationen wurden auch bereits in der vorhergehenden 14-tägigen Studie mit Telaprevir (Monotherapie) beschrieben²⁹.

Es konnte gezeigt werden, dass die Mutationen V36A/M, T54A und R155K/T gegenüber Telaprevir niedrig resistent waren, wohin gegen die Mutationen V36(M/A)/A156(V/T) hoch resistent waren.

Patienten, die nur Telaprevir für 14 Tage erhalten haben:

Hier wurden die Patienten entsprechend des initialen viralen Ansprechens in zwei unterschiedliche Gruppen unterteilt: Gruppe 1, die einen initialen Abfall der HCV-RNA zeigte mit einem Wiederanstieg der HCV-RNA (n=4) und Gruppe 2, die einen kontinuierlichen Abfall der HCV-RNA zeigte (n=4).

Patienten mit einem Wiederauftreten der HCV-RNA:

4 von 8 Patienten, die mit Telaprevir behandelt wurden zeigten ein Wiederauftreten der HCV-RNA, bei 3 Patienten kam es zum erneuten Auftreten der HCV-RNA zu Behandlungstag 8 und bei 1 Patienten zu Behandlungstag 12. Alle Patienten hatten einen HCV-Genotyp 1a. Nach der zweiwöchigen Therapie mit Telaprevir starteten 3 Patienten die Standardtherapie und nach 12 Behandlungswochen war in allen Patienten die HCV-RNA nicht mehr nachweisbar.

An Tag 4 wurde bei den meisten Patienten der Wildtyp und einige niedrig Telaprevir-resistente Virusisolate (V36A/M, R155K/T und A156V/T) nachgewiesen. Zu Tag 8 und 12 stieg die Population der Einfach-Mutationen deutlich an. Zu Tag 15 wurden die Einfach-Mutationen durch hoch-resistente Doppelmutanten (36/155) ersetzt.

Patienten mit einem kontinuierlichen Abfall der HCV-RNA:

4 von 8 Patienten, die mit Telaprevir behandelt wurden zeigten einen kontinuierlichen Abfall der HCV-RNA während der 14-tägigen Dosierungsperiode. Zu Tag 4 war bei allen Patienten der Wildtyp vorherrschend. Bei späteren Sequenzanalysen waren hoch-resistente Mutationen (A156V/T) dominant und einige niedrig-resistente Stämme (V36A/M und T54A).

Patienten, die Telaprevir in Kombination mit Peginterferon alfa-2a erhalten haben:

Alle 8 Patienten, die die Kombinationstherapie erhielten, hatten einen kontinuierlichen Abfall der HCV-RNA während der zwei-wöchigen Therapie. Nach dem 14.

Behandlungstag war bei 4 Patienten die HCV-RNA im Serum nicht mehr nachweisbar (<10 IU/ml) und bei allen Patienten, von denen Sequenzanalysen bestimmt werden konnten, zeigten den Wildtyp. Bei 2 Patienten war die HCV-RNA zu Tag 15 unter der quantitativen Nachweisgrenze (<30 IU/ml), auch bei diesen Patienten wurde nur der Wildtyp nachgewiesen. Bei 1 Patienten war die HCV-RNA zu Tag 13 nicht mehr nachweisbar (<10 IU/ml) und dann an Tag 15 wieder unter der quantitativen Nachweisgrenze (<30 IU/ml). Bei dem Patienten wurde zu Tag 4 der Wildtyp gemessen und zu Tag 8 war die hoch-resistente Mutation A156T nachweisbar.

Bei einem Patienten wurde zu Tag 4 und Tag 8 der Wildtyp nachgewiesen und die HCV-RNA war zu Tag 13 unter der quantitativen Nachweisgrenze (30 IU/ml) und an Tag 15 bei 35 IU/ml. Bei dem Patienten wurde die anschließende Standardtherapie mit einer zweitägigen Verzögerung begonnen und nach einer Woche Therapie war die HCV-RNA 672 IU/ml. Zu diesem Zeitpunkt wurde hauptsächlich die niedrig-resistente Mutation V36A gefunden. Doch trotz Auftreten der Mutation kam es zu einem kontinuierlichen Abfall der HCV-RNA unter der Weiterführung der Standardtherapie³⁰.

Bei allen acht Patienten war nach 12 und nach 24 Wochen der Standardtherapie die HCV-RNA im Serum nicht mehr nachweisbar (<10 IU/ml)³¹.

3.5 ALT und AST-Werte

In allen Behandlungsgruppen haben sich die mittleren ALT und AST-Werte im Vergleich von Therapiebeginn zu Tag 15 deutlich verbessert. In der Placebo + Peginterferon alfa-2a Gruppe kam es zu einer durchschnittlichen Reduktion der ALT-Werte von - 15 U/l (Bereich: - 53 zu 6 U/l) und einer AST Reduktion von - 6 U/l (Bereich: - 11 zu 6 U/l), bei der Telaprevir-Gruppe kam es zu einer Reduktion von - 61 U/l (Bereich: - 125 zu - 16) beziehungsweise von -28 U/l (Bereich: - 88 zu - 13) und bei der Telaprevir + Peginterferon-Gruppe zeigte sich eine Reduktion von - 16 U/l (Bereich: - 30 zu 49) bzw. -7 U/l (Bereich: - 27 zu 67). In der Placebo + Peginterferon-Gruppe hatten 2 Patienten zu Therapiebeginn und zu Tag 15 erhöhte ALT-Werte. In der Telaprevir-Gruppe hatten 7 Patienten erhöhte ALT-Werte zu Therapiebeginn und bei 5 dieser Patienten hatten sich die ALT-Werte zu Tag 15 normalisiert. In der Telaprevir + Peginterferon-Gruppe hatten insgesamt 3 Patienten erhöhte ALT-Werte zu Therapiebeginn, bei 2 Patienten hatten sich die Werte zu Tag 15 normalisiert.

3.6 Sicherheit

Insgesamt gab es in der Studie keine schweren unerwünschten Nebenwirkungen (SAE's) und es gab keine vorzeitigen Therapieabbrüche aufgrund von Nebenwirkungen. Nebenwirkungen (AE's) wurden in 4 (100%) Patienten aus der Placebo + Peginterferon-Gruppe berichtet, bei 6 (75%) Patienten aus der Telaprevir-Gruppe und bei insgesamt 8 (100%) Patienten aus der Telaprevir + Peginterferon-Gruppe. Die häufigsten AE's waren Kopfschmerzen, Muskelkrämpfe, Hauttrockenheit, Durchfälle und Übelkeit. All diese AE's waren häufiger in der Placebo + Peginterferon-Gruppe und in der Telaprevir + Peginterferon-Gruppe als in der Telaprevir-Gruppe (Tabelle 8). Ein leichter Hautausschlag trat bei 1 Patienten aus der Telaprevir-Gruppe und bei 2 Patienten aus der Telaprevir + Peginterferon-Gruppe auf. Die Hautausschläge besserten sich spontan wieder ohne zusätzliche Therapie. Ein Patient aus der Telaprevir + Peginterferon-Gruppe hatte einen moderaten Hautausschlag, der am 2. Behandlungstag auftrat und bis zu Tag 8 anhielt. Dieser Ausschlag wurde mit einem topischen Kortikoid behandelt.

Moderate Nebenwirkungen wurden bei insgesamt 2 Patienten aus der Telaprevir + Peginterferon-Gruppe berichtet (Kopfschmerzen und der bereits beschriebene Hautausschlag) und bei 1 Patienten aus der Telaprevir-Gruppe (Juckreiz). Alle anderen Nebenwirkungen in dieser Studie waren von milder Intensität.

Einige Laborwerte aus den laborchemischen Bestimmungen waren zu manchen Zeitpunkten außerhalb der entsprechenden Normwerte, wurden aber in allen Fällen als nicht klinisch signifikant angesehen, mit der Ausnahme von einer Neutropenie in einem Patienten aus der Placebo + Peginterferon-Gruppe.

Es ergaben sich keine klinisch signifikanten Veränderungen bei den Vitalparametern oder bei den EKG's.

Adverse Event	Placebo + Peg-IFN	Telaprevir	Telaprevir + Peg-IFN
	(n=4) n (%)	(n=8) n (%)	(n=8) n (%)
Kopfschmerzen	2 (50)	2 (25)	5 (63)
Muskelschmerzen	2 (50)	2 (25)	5 (63)
Trockene Haut	1 (25)	2 (25)	3 (38)
Übelkeit	1 (25)	1 (13)	3 (38)
Hautausschlag	0	1 (13)	3 (38)
Durchfälle	1 (25)	2 (25)	2 (25)
Schwindel	1 (25)	0	2 (25)
Pollakisurie	0	2 (25)	1 (13)
Schüttelfrost	2 (50)	1 (13)	1 (13)
Hyperhidrosis	0	1 (13)	1 (13)
Asthenia	1 (25)	1 (13)	0
Erythema	0	2 (25)	0
Nasopharyngitis	1 (25)	1 (13)	0

Tabelle 8 Häufige Nebenwirkungen

3.7 Ergebnisse nach der Standardtherapie

Von den 15 Patienten, die initial Telaprevir erhalten haben, kam es zu einem Wiederauftreten der HCV-RNA unter der nachfolgenden Standardtherapie bei insgesamt 5 Patienten. Bei 3 Patienten konnten Telaprevir-resistente Mutationen nachgewiesen werden und bei 2 Patienten der Wildtyp³².

Antivirale Ergebnisse von Patienten, die für 24 Wochen mit SOC behandelt wurden:

Insgesamt stoppten 10 Patienten die Therapie nach 24 Wochen, bei insgesamt 3 Patienten kam es zu einem Wiederauftreten der HCV-RNA. 2 Patienten wurden initial nur mit Telaprevir behandelt und es kam 4 Wochen nach Therapieende zu einem Wiederauftreten der HCV-RNA. 1 Patient wurde initial mit der Kombinationstherapie (Telaprevir plus Peginterferon) behandelt, hier kam es 8 Wochen nach Therapieende zu einem Wiederauftreten der HCV-RNA.

Antivirale Ergebnisse von Patienten, die für 48 Wochen mit SOC behandelt wurden:

Insgesamt wurden 5 Patienten für 48 Wochen behandelt, wovon insgesamt 2 Patienten nach Therapieende ein Wiederauftreten der HCV-RNA hatten.

Ein Patient erhielt initial Telaprevir und 4 Wochen nach Therapieende war die HCV-RNA im Serum wieder nachweisbar und 1 Patient erhielt initial die Kombination aus Telaprevir und Peginterferon mit einem Wiederauftreten der HCV-RNA 8 Wochen nach Therapieende.

Patienten, die für 24 Wochen mit SOC behandelt wurden:

Initiale Therapie	Nicht nachweisbare HCV-RNA zu Therapieende (EOT)	Nicht nachweisbare HCV-RNA 24 Wochen nach Therapieende	Patienten mit einem Relapse
Telaprevir (n=4)	4	2/4	2/4
Telaprevir/Peg-IFN-2a (n=6)	6	5/6	1/6

Patienten, die für 48 Wochen mit SOC behandelt wurden:

Initiale Therapie	Nicht nachweisbare HCV-RNA zu Therapieende (EOT)	Nicht nachweisbare HCV-RNA 24 Wochen nach Therapieende	Patienten mit einem Relapse
Telaprevir (n=3)	3	2/3	1/3
Telaprevir/Peg-IFN-2a (n=2)	2	1/2	1/2

Tabelle 9 Antivirale Ergebnisse von Patienten, die mit SOC weiterbehandelt wurden

4 Diskussion

Telaprevir zeigte in einer ersten Phase 1 Studie als Monotherapie in einer Dosierung von 750 mg alle 8 Stunden im Vergleich zu anderen Dosierungsschemata die effektivste antivirale Aktivität. In dieser Studie zeigten alle Patienten einen Abfall der HCV RNA um mindestens 2 Logstufen³³. Bei einigen Patienten kam es zwischen dem 3. und dem 7. Behandlungstag zu einem Wiederanstieg der HCV RNA, am ehesten bedingt durch die Selektion von Resistenzmutationen auf Telaprevir. Unter der Monotherapie wurden unterschiedliche niedrig-resistente Einzelmutationen beschrieben (V36A/M, T54A, R155K/T und A156S), sowie hoch-resistente Einzelmutationen (A156V/T) und Doppelmutationen (36+155, 36+156), die in Korrelation mit dem antiviralen Ansprechen stehen²⁹. Die virale Fitness der Mutanten wurde anhand der quantitativen HCV RNA Ergebnisse *in vivo* und der Sequenzdaten am Ende der Therapie und während der Nachbeobachtungsphase bestimmt. Die Frequenzänderung der Mutationen am Ende der Therapie zeigte ein umgekehrtes Verhältnis der viralen Fitness zu den Resistenzen. Innerhalb von 3 bis 7 Monaten nach Therapieende waren die meisten Mutationen wieder durch den Wildtyp ersetzt. Die schnelle Selektion von Resistenzen unter der Monotherapie zeigt, dass die Kombination mit pegyliertem Interferon notwendig ist, um eine Resistenzentwicklung möglichst zu verhindern.

In der vorliegenden Studie wurde der Effekt von Telaprevir in Kombination mit Peginterferon alfa-2a untersucht. Überprüft wurde, ob es durch die Kombination zu einem additiven antiviralen Effekt kommt, ferner wurden die pharmakokinetischen Parameter beider Substanzen sowie das Nebenwirkungsprofil der Kombination von Telaprevir mit Peginterferon evaluiert. Der durchschnittliche Abfall der HCV-RNA von Therapiebeginn zu Tag 15 betrug bei dem Therapiearm, der mit Placebo und Peginterferon alfa-2a behandelt wurde $-1.09 \log_{10}$. Dieses Ergebnis entspricht etwa den bisher bekannten Daten aus Studien mit einer Peginterferon Monotherapie bei Patienten mit chronischer Hepatitis C und einer Genotyp 1 Infektion^{34, 35}.

Beim Abfall der HCV-RNA zeigten sich 2 unterschiedliche Phasen: eine erste, schnelle Reduktion (Tag 1-2), gefolgt von einer eher langsamen, kontinuierlichen Abfallphase (ab Tag 3). Die zusätzliche Gabe von Peginterferon alfa-2a scheint insbesondere die zweite Phase zu beeinflussen. Es zeigte sich ein stärkerer Abfall als bei den Patienten, die nur mit Telaprevir behandelt wurden. Entsprechend dieser Beobachtung zeigte sich auch, dass Patienten mit Peginterferon alfa-2a und Telaprevir einen kontinuierlichen Abfall der HCV-RNA in der zweiten Phase zeigen, wohingegen sich unter einer Telaprevir-Monotherapie bei 4 Patienten

nach dem 8. Behandlungstag ein Wiederauftreten der HCV-RNA oder ein Plateau zeigte. Die mathematische Modellierung der Viruskinetik³⁶ zeigte, dass die ε_{\max} -Werte (maximale antivirale Effektivität) bei beiden Behandlungsgruppen (Telaprevir-Monotherapie: $\varepsilon_{\max} = 0.9996$ und in Kombination von Peginterferon alfa-2a mit Telaprevir: $\varepsilon_{\max} = 0.9994$) in der ersten Phase annähernd gleich waren.

Ebenso wie in der vorherigen Phase 1b Studie³³ zeigte Telaprevir auch in diesem klinischen Therapieansatz eine hohe antivirale Effektivität. In der Gruppe, die mit Telaprevir behandelt wurde, betrug der durchschnittliche Abfall der HCV-RNA von vor Therapiebeginn zu Therapietag 15 $-3.99 \log_{10}$ und bei einem Patienten war die HCV-RNA im Serum unter der quantitativen Nachweisbarkeitsgrenze (<10 IU/mL). Bei den Patienten, die mit Telaprevir und Peginterferon alfa-2a behandelt wurden, war der durchschnittliche HCV-RNA Abfall zwischen der Ausgangsvirämie und Therapietag 15 $-5.5 \log_{10}$ und bei 4 Patienten war die HCV-RNA unter der Nachweisbarkeitsgrenze (<10 IU/mL). Dies bestätigte die Hypothese, dass die antivirale Effektivität von Telaprevir in Kombination mit Peginterferon alfa-2a additiv ist.

Die durchschnittlichen ALT und AST-Werte, die zu Therapiebeginn erhöht waren, fielen in allen Behandlungsgruppen ab. Der Abfall war in der Telaprevir-Monotherapie-Gruppe größer als in der Kombinationsgruppe. Dieser Unterschied zwischen den Gruppen war am ehesten aufgrund der höheren durchschnittlichen ALT-Werte zu Beginn der Therapie bei den Patienten in der Telaprevir-Gruppe bedingt. Ein Abfall der ALT und AST-Werte wurde auch bei den Patienten in der früheren Phase 1 Studie³³, die nur mit Telaprevir behandelt wurden, beobachtet.

Typische Interferon-assoziierte Nebenwirkungen wie Übelkeit, Muskelschmerzen, Kopfschmerzen und Schwindel traten bei dieser Studie in den Therapiearmen, die mit Peginterferon alfa-2a behandelt wurden, häufiger auf als bei den Patienten, die nur mit Telaprevir behandelt wurden. Obwohl bezüglich der Verträglichkeit aus dieser Studie aufgrund der geringen Patientenzahl und der nur kurzen Therapiedauer keine endgültigen Schlüsse gezogen werden können, zeigte die Studie zumindest, dass die Kombination von Telaprevir mit Peginterferon alfa-2a das zu erwartende Nebenwirkungsprofil des Interferons nicht negativ zu beeinflussen scheint.

Zusammenfassend konnte die vorliegende Studie eine raschere antivirale Effektivität von Telaprevir sowie einen additiven antiviralen Effekt zeigen, wenn die Substanz mit Peginterferon alfa-2a kombiniert wird. Bei Patienten, die mit Telaprevir und Peginterferon

alfa-2a behandelt wurden, zeigte sich kein viraler Durchbruch unter der Therapie. Die Mehrzahl der Nebenwirkungen waren von milder Intensität und es gab keine frühzeitigen Therapieabbrüche.

Eine detaillierte Resistenzanalyse wurde auch in dieser Studie durchgeführt³⁰. Es konnte gezeigt werden, dass der initiale, schnelle Abfall der HCV RNA unter der Therapie mit Telaprevir durch eine Reduktion des HCV Wildtyps begründet ist, wodurch wiederum bereits vor der Therapie existierende Telaprevir-resistente Mutationen selektioniert werden können. Durch die Kombinationsbehandlung von Telaprevir mit Peginterferon alfa-2a wurde sowohl der Wildtyp, als auch die Telaprevir-resistenten Mutationen unterdrückt, so dass die Telaprevir-resistenten Mutationen auf Peginterferon alfa-2a anzusprechen scheinen.

Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie wurden weitere, größere Phase 2 Studien über einen längeren Behandlungszeitraum initiiert, um zu überprüfen, ob die dauerhaften viralen Ansprechraten durch eine Dreifachkombinationstherapie (Telaprevir + Peginterferon alfa-2a + Ribavirin) erhöht werden können.

In der europäischen PROVE 2 Studie wurden bislang unvorbehandelte Patienten mit einer chronischen HCV Genotyp 1 Infektion in 4 unterschiedliche Therapiearme randomisiert: (i) Telaprevir plus Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin für 12 Wochen gefolgt von weiteren 12 Wochen Therapie mit Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin (T12/PR24); (ii) Telaprevir plus Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin für 12 Wochen (T12/PR12); (iii) Telaprevir plus Peginterferon alfa-2a für 12 Wochen (T12/P12); (iv) Placebo plus Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin für 12 Wochen, gefolgt von 36 Wochen Therapie mit Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin (PR48) (Kontrollarm). Telaprevir wurde initial zu Beginn der Therapie einmalig mit 1250 mg verabreicht und danach folgend mit 750 mg alle 8 Stunden. Peginterferon alfa-2a wurde einmal pro Woche subkutan mit 180 µg injiziert und Ribavirin wurde gewichtsabhängig verabreicht (unter 75 kg Körpergewicht 1000 mg pro Tag und über 75 kg Körpergewicht 1200 mg pro Tag). Die dauerhaften virologischen Ansprechraten (SVR) 24 Wochen nach Ende der Therapie war in dem Therapiearm T12/PR24 mit 69.1% signifikant höher als im Kontrollarm mit nur 46.3%. Bei dem Arm ohne Ribavirin (T12/P12) erreichten insgesamt nur 24 von 70 Patienten ein dauerhaftes antivirales Ansprechen (35.9%) und in dem Therapiearm T12/PR12 erreichten 59.8% eine SVR³⁷. Insgesamt war das Auftreten von Nebenwirkungen in allen Therapiegruppen ähnlich, allerdings kam es häufiger zu

Therapieabbrüchen aufgrund von Nebenwirkungen bei den Triple-Therapiearmen als im Kontrollarm (9% versus 3%). Zu den häufigsten Nebenwirkungen zählten gastrointestinale Beschwerden, Anämien und Hautreaktionen.

In einer weiteren Phase 2 Studie (PROVE 3) wurden Patienten, die auf eine vorangegangene Interferon-basierte Therapie nicht angesprochen hatten, in 4 unterschiedliche Arme randomisiert: (i) 12 Wochen Telaprevir plus Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin, gefolgt von 12 Wochen Placebo plus Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin; (ii) 24 Wochen Therapie mit Telaprevir plus Peginterferon alfa-2a; (iii) 24 Wochen Telaprevir plus Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin, gefolgt von 24 Wochen Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin; (iv) Kontrollarm mit 48 Wochen Placebo plus Peginterferon alfa-2a plus Ribavirin. Bei allen Patienten, bei denen zu Therapiewoche 4 die HCV-RNA noch nachweisbar war, wurde die Therapie abgebrochen. Patienten aus dem Kontrollarm wurde in einem sogenannten „Roll-over“-Programm im Anschluss an die Studie die Möglichkeit gegeben, mit Telaprevir behandelt zu werden. Bei der ersten Zwischenanalyse der PROVE 3 Studie zeigte sich bei den Nonrespondern (Patienten, bei denen die HCV-RNA unter der vorhergehenden Therapie nie negativ wurde) 12 Wochen nach Ende der Therapie eine dauerhafte virologische Ansprechrate von 41% und bei den Relapsen (Patienten, bei denen die HCV-RNA unter der vorhergehenden Therapie nicht nachweisbar war und dann nach Beendigung der Therapie wieder positiv wurde) eine dauerhafte Ansprechrate von 73%³⁸.

Aktuell wird Telaprevir in großen, multizentrischen Phase 3 Studien evaluiert, um weitere Erkenntnisse bezüglich der Sicherheit, Effektivität und der Resistenzentwicklung zu gewinnen.

Neben Telaprevir befinden sich mittlerweile zahlreiche weitere direkt antiviral wirksame Substanzen in früher klinischer Erprobung und stellen gerade bei schwierig zu behandelten Patienten, wie zum Beispiel Patienten, die auf eine Standardtherapie nicht angesprochen haben, eine Hoffnung dar.

Zahlreiche Substanzen zeigten in frühen Studien eine potente antivirale Aktivität, allerdings wurde bei einigen Substanzen die weitere Entwicklung aufgrund von Nebenwirkungen gestoppt. Ciluprevir (BILN 2061) wurde als erster NS3/4A Proteaseinhibitor bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis C Infektion in klinischen Studien evaluiert. In dieser Dosisescalationsstudie führte die orale Ciluprevir-Monotherapie über 2 Tage mit Dosierungen beginnend mit 25 mg bis zu einer Dosis von 500 mg bei Patienten mit einer HCV Genotyp 1 Infektion zu einer durchschnittlichen Reduktion der HCV-RNA um 2 bis 3 Logstufen³⁹. Die

Entwicklung möglicher Resistenzen gegen Celuprevir wurde *in vitro* im Genotype 1b Replikon untersucht und es wurden folgende Resistenzmutationen identifiziert: R155Q, A156V/T und D168V/A/Y⁴⁰.

Die antivirale Aktivität von Ciluprevir wurde in einer weiteren Studie auch bei Patienten mit einer HCV Genotyp 2 oder 3 Infektion untersucht. Sowohl bei den Patienten mit einer HCV Genotyp 2 Infektion als auch bei Patienten mit einer Genotyp 3 Infektion zeigte sich ein schlechteres antivirales Ansprechen als bei den Patienten mit einer HCV Genotyp 1 Infektion^{41,42}. Ein Grund hierfür könnte sein, dass das virale Ansprechen der Proteaseinhibitoren unter anderem vom HCV Genotyp abhängig ist.

In tierexperimentellen Untersuchungen zeigte sich jedoch bei Rhesusaffen unter einer Therapiedauer über 4 Wochen mit einer hohen Dosis Celuprevir histologische Hinweise auf eine Kardiotoxizität, woraufhin die weitere Entwicklung der Substanz eingestellt wurde.

Ein weiterer Proteaseinhibitor, der sich aktuell in klinischer Entwicklung befindet, ist Boceprevir (SCH 503034). Die Wirksamkeit und die Sicherheit von Boceprevir wurde in einer Phase 1b Studie bei Patienten mit einer HCV Genotyp 1 Infektion evaluiert, die auf eine frühere Therapie mit Interferon nicht angesprochen hatten (Nonresponder)⁴³. In unterschiedlicher Abfolge wurden die Patienten mit (i) einer Boceprevir-Monotherapie von 200 mg oder 400 mg 3xtäglich über insgesamt 7 Tage behandelt, (ii) Peginterferon alfa-2b (1.5 µg/kg/Woche) über 14 Tage und (iii) Boceprevir plus Peginterferon alfa-2b als Kombinationstherapie über 14 Tage. Zwischen den unterschiedlichen Behandlungsabschnitten lag eine sogenannte „Auswaschphase“ von jeweils 3 Wochen. Unter der Therapie mit 200 mg Boceprevir alle 8 Stunden in Kombination mit Peginterferon alfa-2b einmal pro Woche kam es zu einer durchschnittlichen maximalen Reduktion der HCV-RNA von -2.45 ± 0.22 log und bei der Therapie mit 400 mg Boceprevir alle 8 Stunden in Kombination mit Peginterferon alfa-2b einmal pro Woche kam es zu einer durchschnittlichen maximalen Reduktion von -2.88 ± 0.22 log im Vergleich zu einer Reduktion bei der Monotherapie mit 200 mg Boceprevir alle 8 Stunden um -1.08 ± 0.22 log und bei 400 mg Boceprevir alle 8 Stunden um -1.61 ± 0.21 log⁴³.

Im Replikon wurden bisher *in vitro* zahlreiche Mutationen, die mit einer Boceprevir-Resistenz einhergehen beschrieben (T54A, A156S/T und V170A), *in vivo* wurde bisher nur die T54A Mutation in Patienten beschrieben. Daraufhin folgte eine Phase 2b Studie mit enttäuschenden Ergebnissen, am ehesten aufgrund des Studiendesigns und den Dosierungen. Nach Beendigung der Phase 1 Studien wurde Boceprevir in einer Phase 2b Studie bei Patienten mit

einer HCV Genotyp 1 Infektion, die bisher noch keine Therapie bezüglich der chronischen Hepatitis C Infektion erhalten hatten, evaluiert. In einer weiteren Studie, der SPRINT-1 Studie, wurde die Kombination von Boceprevir in einer höheren Dosis von 800 mg dreimal täglich mit Peginterferon alfa-2b und Ribavirin untersucht und in unterschiedlichen Therapieregimes getestet: (i) 4 Wochen Peginterferon alfa-2b plus Ribavirin gewichtsadaptiert (800 mg bis 1400 mg pro Tag) als „Lead-in-Phase“, gefolgt von der Kombination mit Boceprevir für 24 Wochen oder 44 Wochen; (ii) Boceprevir in Kombination mit Peginterferon alfa-2b plus Ribavirin für 28 oder 48 Wochen; (iii) Boceprevir in Kombination mit Peginterferon alfa-2b plus einer niedrigeren Ribavirindosis (400 mg bis 1000 mg pro Tag) für 48 Wochen. Bei einer Interimsanalyse zeigten sich folgende dauerhafte Ansprechraten (SVR 12 bei den 48-Wochen-Armen und SVR 24 bei den 28-Wochen-Armen): Triple-Therapie für 28 Wochen ohne „Lead-in-Phase“: 55%, Triple-Therapie für 24 Wochen mit „Lead-in-Phase“: 56%, Triple-Therapie für 48 Wochen ohne „Lead-in-Phase“: 66%, Triple-Therapie für 44 Wochen mit einer „Lead-in-Phase“: 74% und bei dem Kontrollarm mit 48 Wochen Therapie mit Peginterferon alfa-2b und Ribavirin war die SVR 12 38%⁴⁴. Die endgültigen Ergebnisse der Studie stehen noch aus. Aktuell befindet sich Boceprevir in Phase 3 Zulassungsstudien.

ITMN-191 ist ein weiterer NS3/4A Proteaseinhibitor, der *in vitro* eine starke antivirale Aktivität zeigt⁴⁵. Auch bei dieser Substanz fanden sich zahlreiche Mutationen im Replikon: V23A, Q41R, S138T, D168A/V/E, D168V/A156S/V und S489L. *In vivo* Daten zu Resistenzmutanten liegen bisher nicht vor. In einer Dosisescalationsstudie wurde ITMN-191 in einer Phase 1a Studie in Dosierungen von 2 mg bis zu 1600 mg als Einmalgabe oral bei gesunden Probanden verabreicht⁴⁶. ITMN-191 wurde in allen Dosierungsstufen gut vertragen und die Resorptionsrate war abhängig von der Nahrungsaufnahme.

In einer Phase 1b Studie wurden in Gruppe A Patienten, die noch keine Therapie bezüglich ihrer Hepatitis C Infektion erhalten haben, mit unterschiedlichen Dosierungen (100 mg alle 12 h, 100 mg alle 8 h, 200 mg alle 12 h oder 200 mg alle 8 h versus Placebo) über einen Zeitraum von 14 Tagen behandelt. In Gruppe B wurden Patienten, die auf eine vorangegangene Interferon-basierte Therapie nicht angesprochen haben (Nonresponder), mit 300 mg alle 12 h versus Placebo behandelt⁴⁶. ITMN-191 zeigte in der 200 mg Dosierung alle 8 Stunden sowie mit der 200 mg alle 12 Stunden eine mittlere Reduktion der HCV-RNA von ca. 3 Logstufen bei den Patienten aus der Gruppe A. Bei den Nonrespondern (Gruppe B) betrug die mittlere Reduktion etwa 2 Logstufen. Aktuell wird die Effektivität und die

Verträglichkeit von ITMN-191 in einer weiteren Phase 1b Studie in Kombination mit Peginterferon alfa-2a und Ribavirin untersucht.

Neben den Proteaseinhibitoren werden als weitere Substanzklasse Polymeraseinhibitoren bei den direkt antiviralen Substanzen gegen HCV in klinischen Studien derzeit evaluiert. Hier gibt es 2 verschiedene Gruppen: die nukleosidischen Polymeraseinhibitoren und die nicht-nukleosidischen Polymeraseinhibitoren. Die nukleosidischen Polymeraseinhibitoren werden durch eine zelluläre Kinase zu Triphosphaten konvertiert und dann an das terminale Ende des RNA-Stranges eingebaut und inhibieren die HCV-RNA Transkription. Sie zeigen Wirksamkeit bei allen HCV-Genotypen. Valopicitabine (NM283) ist eine orale wirksame Vorstufe (Prodrug) eines nukleosidischen Polymeraseinhibitors, der die HCV NS5B RNA-abhängige RNA-Polymerase inhibiert⁴⁷. Valopicitabine wurde bei Patienten mit chronischer Hepatitis C Infektion mit einer Nonresponse auf eine Interferontherapie als Monotherapie und in Kombination mit einem pegylierten Interferon evaluiert. Unter der Monotherapie kam es zu einer durchschnittlichen Reduktion der HCV-RNA um 0.15 bis 1.21 Logstufen nach 14 Tagen Therapie bei einer Dosierung zwischen 50 mg bis zu 800 mg täglich⁴⁸.

In der Kombinationstherapie mit Peginterferon 2b kam es bei höheren Dosierungen von Valopicitabine zu erheblichen gastrointestinalen Nebenwirkungen bei manchen Patienten⁴⁹. Basierend auf diesen Ergebnissen wurde in den Phase 2 Studien die maximale Dosis von 800 mg auf 400 mg reduziert. In einer Zwischenanalyse zeigte sich bei bisher unvorbehandelten Patienten eine durchschnittliche Reduktion der HCV-RNA zwischen 3.90 und 4.56 Logstufen nach insgesamt 24 Wochen Therapiedauer und eine Reduktion zwischen 3.75 und 4.56 Logstufen nach 36 Wochen Therapie⁴⁹. Die Kombinationstherapie von Valopicitabine in Kombination mit Peginterferon alfa-2a wurde auch bei Nonrespondern evaluiert. Hier zeigte sich bei einer Zwischenanalyse nach 24 Wochen eine signifikant stärkere Reduktion der HCV-RNA mit 3.32 Logstufen bei der Kombinationstherapie als bei der Therapie mit Peginterferon und Ribavirin mit 2.31 Logstufen. Nach 40 Wochen Therapie musste die maximale Dosierung ebenfalls auf 400 mg täglich reduziert werden. Nach 48 Wochen Therapie zeigte sich mit der höchsten verträglichen Dosierung eine um 0.8 Logstufen stärkere Reduktion der HCV-RNA mit Valopicitabine im Vergleich zu dem Arm mit Peginterferon alfa-2a mit Ribavirin⁵⁰. Jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant und die weitere Entwicklung von Valopicitabine wurde gestoppt. Im Replikonsystem konnte *in vitro* die S282T Mutation in der Polymerase nachgewiesen werden, die eine Resistenz gegen Valopicitabine aufzeigte⁵¹. *In vitro* Untersuchungen zeigten, dass Ribavirin den aktiven

Metabolit von Valopicitabine in seiner Wirkung inhibieren kann. Dies könnte bei zukünftigen Studien mit nukleosidischen Polymeraseinhibitoren ein mögliches Problem darstellen⁵².

R1479 ist ein weiterer nukleosidischer Polymeraseinhibitor, der *in vitro* eine starke antivirale Effektivität zeigt⁵³. R1626 ist eine aktive Vorstufe von R1479 (Prodrug)⁵⁴. In einer Dosisescalationsstudie der Phase 1b wurde die Verträglichkeit, Effektivität sowie die Pharmakokinetik von R1626 bei unvorbehandelten Patienten mit einer HCV-Genotyp 1 Infektion evaluiert. In dieser Studie wurden die Patienten in unterschiedliche Therapiearme randomisiert und erhielten zweimal täglich unterschiedliche Dosierungen von R1626 (500 mg bis 4500 mg) oder Placebo über einen Zeitraum von 14 Tagen. Bei einer Dosierung mit 1500 mg zweimal täglich kam es zu einer mittleren Reduktion der HCV-RNA um 1.2 Logstufen, bei einer Dosierung von 3000 mg zweimal täglich zu 2.6 Logstufen und bei einer Dosierung von 4500 mg zweimal täglich kam es zu einer Reduktion um 3.7 Logstufen⁵⁴. In einer Phase 2 Studie zeigte sich bei der Trippel-Therapie mit R1626, Peginterferon alfa-2a und Ribavirin ein deutlicher synergistischer Effekt zwischen R1626 und Ribavirin. Bei 81% der Patienten mit der Trippel-Therapie war bereits nach 4 Wochen Therapie die HCV-RNA im Serum unter der quantitativen Nachweisbarkeitsgrenze (<50 IU/mL) im Vergleich zum Kontrollarm, bei dem nach 4 Wochen nur bei 5% die HCV-RNA nicht mehr nachweisbar war⁵⁵. Unter der Triple-Therapie entwickelten 38% der Patienten eine ausgeprägte Neutropenie, was auch der häufigste Grund für Dosisreduktionen war. Bei R1479 konnten *in vitro* im Replikon Resistenzen mit Mutationen an folgenden Stellen identifiziert werden: S96T und S96T/N142T⁵⁶. Die weitere Entwicklung von R1479 wurde aufgrund der Nebenwirkung schwerster Neutropenien eingestellt.

Aktuell ebenfalls in klinischer Erprobung befindet sich R1728, ein weiterer nukleosidischer Polymeraseinhibitor, dessen aktive Vorstufe PSI-6130 ist⁵⁷. In präklinischen Untersuchungen zeigte PSI-6130 eine stärkere Wirksamkeit bei niedrigeren Dosierungen mit einer geringeren Toxizität als R1479. Aktuell wird die Verträglichkeit und Wirksamkeit von R7128 in Kombination mit Peginterferon alfa-2a und Ribavirin in einer Phase 1 Studie bei unvorbehandelten Patienten mit einer HCV-Genotyp 1 Infektion untersucht. Bei einer Zwischenanalyse zeigte sich, dass mit der Triple-Therapie bei 85% der Patienten zu Therapiewoche 4 die HCV RNA bereits unter der Nachweisbarkeitsgrenze war⁵⁸.

Neben den nukleosidischen Polymeraseinhibitoren befinden sich nicht-nukleosidische Polymeraseinhibitoren in klinischer Erprobung. Die Wirkmechanismen zwischen beiden Substanzklassen sind unterschiedlich, die Entwicklung möglicher Kreuzresistenzen ist unwahrscheinlich. Im Gegensatz zu den nukleosidischen Polymeraseinhibitoren binden die nicht-nukleosidischen Polymeraseinhibitoren an verschiedene Stellen der RNA-Polymerase⁵⁹.

HCV-796 ist ein nicht-nukleosidischer Polymeraseinhibitor, der sich in klinischer Erprobung befindet. Bei der Monotherapie zeigte sich nach 4 Tagen eine maximale Reduktion der HCV-RNA um 1.4 Logstufen. Nach Beendigung der Therapie kam es zu einem erneuten Anstieg der HCV-RNA, was im Zusammenhang mit der Entwicklung von möglichen Resistenzen stehen könnte⁶⁰. In einer weiteren Studie bei unvorbehandelten Patienten mit HCV wurde HCV-796 in Kombination mit Peginterferon alfa-2b für 14 Tage verabreicht und es zeigte sich eine durchschnittliche Reduktion der HCV-RNA um 3.3 bis zu 3.5 Logstufen im Vergleich zu einer Reduktion um 1.6 Logstufen bei der Therapie mit Peginterferon alfa-2b allein⁶¹. Bei der anschließenden Phase 2 Studie mit einer Triple-Therapie von HCV-796 mit Peginterferon alfa-2b und Ribavirin, zeigte sich jedoch bei 8% der Patienten klinisch relevante Erhöhungen der Leberenzyme, weshalb die weitere Entwicklung gestoppt wurde.

GS-9190 ist ein weiterer nicht-nukleosidischer Polymeraseinhibitor, der bei unvorbehandelten Patienten mit einer HCV Genotyp 1 Infektion in einer Phase 1 Studie evaluiert wurde. Nach einer einmaligen Gabe in unterschiedlichen Dosierungen (40 bis zu 480 mg) wurde der maximale antivirale Effekt 24 Stunden nach der Dosierung gemessen mit einer durchschnittlichen Reduktion der HCV-RNA um 0.46 bis 1.49 Logstufen über alle Dosisstufen⁶². In einer weiteren Studie mit Mehrfachdosierungen kam es zu Verlängerungen des QT-Intervalls im EKG, weshalb aktuell eine weitere Studie bei gesunden Probanden den Effekt von GS-9190 auf die QT-Zeit untersucht.

Ein weiterer nicht-nukleosidischer Polymeraseinhibitor ist VCH-759, der bei unvorbehandelten Patienten mit einer HCV Genotyp 1 Infektion in einer Dosierung 3x800 mg täglich über einen Behandlungszeitraum von 10 Tagen eine maximale Reduktion der HCV-RNA um 2 Logstufen zeigte⁶³. Allerdings konnten auch hier unter der Therapie das rasche Auftreten von Resistenzen beobachtet werden⁶⁴.

Insgesamt hat sich die Entwicklung bei der Therapie der chronischen Hepatitis C in den letzten Jahren auf eine Optimierung der Standardtherapie (Peginterferon alfa plus Ribavirin) konzentriert. Allerdings konnten hier keine signifikanten Verbesserungen bei den dauerhaften Ansprechraten erzielt werden.

Die Therapie mit den direkt antiviralen Substanzen stellt eine neue Perspektive bei der Behandlung der chronischen Hepatitis C Infektion dar. In bisherigen Studien wurden bereits viele verschiedene Substanzen evaluiert, allerdings erwiesen sich nicht alle als antiviral wirksam und verträglich sodass bei einigen die weitere Entwicklung wieder gestoppt wurde. Ein weiteres Problem bei den direkt antiviralen Substanzen ist die hohe Fehlerrate bei der HCV-RNA Replikation, wodurch sich Resistenzen gegen die Substanzen rasch entwickeln können. *In vitro* Studien haben gezeigt, dass eine Kombination von einem Proteaseinhibitor mit einem Polymeraseinhibitor zu einer stärkeren antiviralen Aktivität führt und dadurch die Entwicklung von Resistenzen möglicherweise verhindert werden kann. Für die Zukunft bedeutet dies, dass nach sinnvollen Kombinationen verschiedener Substanzen gesucht werden muss, die möglichst einen unterschiedlichen Wirkmechanismus haben, um das Problem der Resistenzentwicklung zu minimieren. Die Ziele einer solchen Kombinationstherapie sind zum Einen eine verbesserte Effektivität, eine kürzere Therapiedauer und zum Anderen eventuell langfristig der Verzicht auf Interferon.

Bisher wurden die meisten der neuen direkt antiviralen Substanzen bei Patienten mit einer HCV Genotyp 1 Infektion untersucht, weitere Studien bei Patienten mit anderen HCV Genotypen müssen durchgeführt werden. Auch muss in weiteren Studien die Bedeutung der direkt antiviralen Medikamente bei sogenannten „Problempatienten“, z.B. Patienten, die auf eine vorangegangene Interferon-basierte Therapie nicht angesprochen haben oder bei Patienten mit HCV-HIV Koinfektionen, evaluiert werden.

5 Zusammenfassung

5.1 Zusammenfassung

Bei dieser Studie wurde die antivirale Effektivität, sowie die Verträglichkeit von einem selektiven NS3/4A Protease-Inhibitor als Monotherapie und in Kombination mit Peginterferon alfa-2a über einen Behandlungszeitraum von 14 Tagen evaluiert. Bezüglich der Hepatitis unvorbehandelte Patienten mit einer Genotyp 1 Infektion wurden in unterschiedliche Therapiearme randomisiert: (i) Placebo und Peginterferon alfa-2a (n=4), (ii) Telaprevir Monotherapie (n=8) oder (iii) Telaprevir in Kombination mit Peginterferon alfa-2a (n=8). Telaprevir wurde in oraler Tablettenform mit jeweils 750 mg alle 8 Stunden verabreicht und Peginterferon alfa-2a wurde einmal wöchentlich 180 µg subkutan injiziert. Bei der Studie zeigte sich ein medianer Abfall der HCV RNA von Beginn der Therapie bis zu letztem Behandlungstag 15 von $-1.09 \log_{10}$ (Bereich: $-2.08 \log_{10}$ und $-0.46 \log_{10}$) in der Placebo und Peginterferon alfa-2a-Gruppe; $-3.99 \log_{10}$ (Bereich: -5.28 und -1.26) in der Telaprevir-Gruppe, und $-5.49 \log_{10}$ (Bereich: -6.54 und -4.30) in der Kombinations- Gruppe mit Telaprevir plus Peginterferon alfa-2a. Bei 4 Patienten, die mit Telaprevir und Peginterferon alfa-2a behandelt wurden, war die HCV RNA an Tag 15 nicht mehr nachweisbar und bei einem Patienten, der initial mit Telaprevir behandelt wurde. Insgesamt kam es unter der Therapie zu keinem viralen Durchbruch unter der Kombination mit Telaprevir und Peginterferon alfa-2a während der 14-tägigen Behandlung innerhalb der Studie. Die meisten Nebenwirkungen waren von milder Intensität und es kam zu keinen schwerwiegenden Nebenwirkungen oder vorzeitigen Therapieabbrüchen. Die Studie zeigte eine potente antivirale Wirksamkeit von Telaprevir als Monotherapie und bei der Kombination mit Peginterferon alfa-2a kam es zu einer gesteigerten antiviralen Aktivität. Bereits aufgrund dieser Ergebnisse initiierte, größere Studien werden nun evaluieren, ob Telaprevir in Kombination mit Peginterferon alfa und Ribavirin die dauerhaften antiviralen Ansprechraten verbessern kann.

5.2 Conclusion

In the present study viral efficacy, safety and tolerability of a HCV-NS3 serine protease inhibitor alone and in combination with peginterferon alfa-2a for 14 days was evaluated. Previously untreated patients with genotype 1 hepatitis C were randomized to receive (i) placebo and peginterferon alfa-2a (n=4), (ii) telaprevir alone (n=8) or (iii) telaprevir and peginterferon alfa-2a (n=8). Telaprevir was given as 750 mg oral doses every 8 hours and peginterferon alfa-2a was given as weekly 180 µg subcutaneous injections. The median change in HCV RNA from baseline to day 15 was $-1.09 \log_{10}$ (range: $-2.08 \log_{10}$ to $-0.46 \log_{10}$) in the placebo and peginterferon alfa-2a group; $-3.99 \log_{10}$ (range: -5.28 to -1.26) in the telaprevir group, and $-5.49 \log_{10}$ (range: -6.54 to -4.30) in the telaprevir plus peginterferon alfa-2a group. Day 15 HCV RNA levels were undetectable in 4 patients who received telaprevir and peginterferon alfa-2a and in 1 patient who received telaprevir alone. No viral breakthrough occurred in patients who received telaprevir and peginterferon alfa-2a during the 14 days dosing period. The majority of adverse events were generally mild and there were no serious adverse events or premature discontinuations. The study showed substantial antiviral efficacy of telaprevir and showed an enhanced antiviral effect of telaprevir in combination with peginterferon alfa-2a. Ongoing larger trials will investigate, whether telaprevir, in combination with peginterferon alfa and ribavirin will improve sustained virologic response rates.

Appendix A: Ablauf der Studie:

	Studientag										
Visite	Voruntersuchung Tag -21 bis -10		Dosierungstag								
Studientag	Visite 1	Visite 2	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 5	Tag 6	Tag 7	Tag 8	Tag 9
Stationärer Aufenthalt			X	X	X	X	X	X	X	X	X
Dosierung											
Peg-IFN-2a			X							X	
VX-950/Placebo				X	X	X	X	X	X	X	X
Routine Prozeduren											
Einwilligung (IC)	X										
Demographische Evaluation	X										
Krankenanamnese	X										
Körperliche Untersuchung	X		X								
Größe, Gewicht	X										
Klinisches Labor	X	X	X		X			X			X
Symptome	X		X								
HBsAg, HIV-Test	X										
Drogen und Alkohol Screening	X		X								
Sicherheitsuntersuchungen											
12 Kanal EKG	X										
Vitalparameter	X			X							
Medikationsanamnese	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Adverse Events			X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pharmakokinetische Untersuchungen											
Konzentration VX-950				X		X				X	
Konzentration Peg-IFN				X		X		X		X	X
Pharmakodynamische Untersuchungen											
Bestimmung HCV RNA	X	X		X	X	X				X	
Andere Untersuchungen											
Sequenzanalyse			X			X				X	

Visite	Studientag							
	Dosierungstag							
Studientag	Tag 10	Tag 11	Tag 12	Tag 13	Tag 14	Tag 15	Tag 16	Nachbeobachtung 7-10 Tage nach Dosing
Stationärer Aufenthalt	X	X	X	X	X	X	Entlassung	
Dosierung								
Peg-IFN-2a			X					
VX-950/Placebo	X	X		X	X	X		X
Routine Prozeduren								
Einwilligung (IC)								
Demographische Evaluation								
Krankenanamnese								
Körperliche Untersuchung						X		X
Größe, Gewicht								
Klinisches Labor			X			X		X
Symptome								
HBsAg, HIV-Test								
Drogen und Alkohol Screening								
Sicherheitsuntersuchungen								
12 Kanal EKG								X
Vitalparameter						X		X
Medikationsanamnese	X	X	X	X	X	X	X	X
Adverse Events	X	X	X	X	X	X	X	X
Pharmakokinetische Untersuchungen								
Konzentration VX-950		X		X		X		
Konzentration Peg-IFN			X			X		
Pharmakodynamische Untersuchungen								
Bestimmung HCV RNA		X		X		X		X
Andere Untersuchungen								
Sequenzanalyse			X			X		X

6 Literaturverzeichnis

1. Bartenschlager R, Ahlborn-Laake L, Mous J, Jacobsen H. Kinetic and structural analyses of hepatitis C virus polyprotein processing. *Journal of virology* 1994;68(8):5045-55.
2. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *The New England journal of medicine* 1999;341(8):556-62.
3. Frank C, Mohamed MK, Strickland GT, et al. The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet* 2000;355(9207):887-91.
4. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet* 1997;349(9055):825-32.
5. Seeff LB et al. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2002;36(5 Suppl 1):S35-46.
6. Di Bisceglie AM et al. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md)* 1997;26(3 Suppl 1):34S-8S.
7. Choo QL, Richman, K. H., Han, J. H., Berger, K., Lee, C., Dong, C., Gallegos, C., Coit, D., Medina-Selby, R., Barr, P. J. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88(6):2451-5.
8. Takamizawa A, Mori C, Fuke I, et al. Structure and organization of the hepatitis C virus genome isolated from human carriers. *Journal of virology* 1991;65(3):1105-13.
9. Sharara AI, Hunt CM, Hamilton JD. Hepatitis C. *Annals of internal medicine* 1996;125(8):658-68.
10. Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, Bailly F, Trepo C. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *Journal of viral hepatitis* 2001;8(2):87-95.
11. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *The New England journal of medicine* 1998;339(21):1485-92.
12. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998;352(9138):1426-32.
13. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358(9286):958-65.

14. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *The New England journal of medicine* 2002;347(13):975-82.
15. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Annals of internal medicine* 2004;140(5):346-55.
16. Berg T, Sarrazin C, Herrmann E, et al. Prediction of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C: significance of baseline parameters and viral dynamics during therapy. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2003;37(3):600-9.
17. Zeuzem S, Diago M, Gane E, et al. Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2004;127(6):1724-32.
18. Alberti A. Towards more individualised management of hepatitis C virus patients with initially or persistently normal alanineaminotransferase levels. *Journal of hepatology* 2005;42(2):266-74.
19. Berg T, von Wagner M, Nasser S, et al. Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006;130(4):1086-97.
20. Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P, et al. Peginterferon-alfa2a plus ribavirin for 48 versus 72 weeks in patients with detectable hepatitis C virus RNA at week 4 of treatment. *Gastroenterology* 2006;131(2):451-60.
21. Zeuzem S, Buti M, Ferenci P, et al. Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *Journal of hepatology* 2006;44(1):97-103.
22. Jacobson IM, Brown RS, Jr., Freilich B, et al. Peginterferon alfa-2b and weight-based or flat-dose ribavirin in chronic hepatitis C patients: a randomized trial. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;46(4):971-81.
23. Jensen DM FB, Andreone P, Di Bisceglie AM, Brandao-Mello CE, Reddy KR et al. . Pegylated interferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin (RBV) in prior non-responders to pegylated interferon alfa-2b (12KD)/RBV: final efficacy and safety outcomes of the REPEAT study. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;46:291A.
24. Di Bisceglie AM SM, Everson G, Lindsay KL, Everhart JE, Wright EC et al. . Prolonged Antiviral Therapy With Peginterferon to Prevent Complications of Advanced Liver Disease Associated With Hepatitis C: Results of the Hepatitis C Antiviral Long-term Treatment against Cirrhosis (HALT-C) Trial. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;46:290A.
25. Afdhal N et al. Cholchicine versus Peg-Interferon alfa-2b long term therapy: results of the 4 year Copilot trial. *Journal of hepatology* 2008;Vol.48(Suppl.2):S4.

26. Poynard T et al. Platelet Count predicts sustained viral response (SVR) in the re-treatment of previous interferon/ribavirin non-responders (NR): Results from the EPIC3 program. *Journal of hepatology* 2008;48(Supplement 2):S308.
27. Gish RG, Arora S, Rajender Reddy K, et al. Virological response and safety outcomes in therapy-naive patients treated for chronic hepatitis C with taribavirin or ribavirin in combination with pegylated interferon alfa-2a: a randomized, phase 2 study. *Journal of hepatology* 2007;47(1):51-9.
28. Poordad F et al. Treatment week 12 results of weight-based Taribavirin versus weight-based ribavirin, both with Peginterferon alfa-2b, in naive chronic Hepatitis C, Genotype 1 patients. *Journal of hepatology* 2008;48(Supplement 2):S373.
29. Sarrazin C, Kieffer TL, Bartels D, et al. Dynamic hepatitis C virus genotypic and phenotypic changes in patients treated with the protease inhibitor telaprevir. *Gastroenterology* 2007;132(5):1767-77.
30. Kieffer TL, Sarrazin C, Miller JS, et al. Telaprevir and pegylated interferon-alpha-2a inhibit wild-type and resistant genotype 1 hepatitis C virus replication in patients. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;46(3):631-9.
31. Forestier N, Purdy S, McNair L, Jansen P, Zeuzem S, Reesink H. Current Status Of Subjects Receiving Peg-Interferon-Alfa-2A (Peg-IFN) And Ribavirin (RBV) After A 14-Day Study Of The Hepatitis C Protease Inhibitor Telaprevir (VX-950), With Peg-IFN. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2006;44(S1):Abstract 1142.
32. Forestier N, Susser S, Welker MW, Weegink CJ, Reesink H, Zeuzem S, Sarrazin C. Telaprevir resistance mutations in patients with hepatitis C who relapsed after sequential therapy with telaprevir, peg-interferon alfa-2a and ribavirin. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;Oct., 46, Suppl 1(Abstract 50).
33. Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ, et al. Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a phase Ib, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology* 2006;131(4):997-1002.
34. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *The New England journal of medicine* 2000;343(23):1666-72.
35. Lindsay KL, Davis GL, Schiff ER, et al. Response to higher doses of interferon alfa-2b in patients with chronic hepatitis C: a randomized multicenter trial. Hepatitis Interventional Therapy Group. *Hepatology (Baltimore, Md)* 1996;24(5):1034-40.
36. Khunvichai A GV, Ette E, Zeuzem S, Reesink H, Chu H-M. Viral dynamic and exposure-response relationship in subjects with hepatitis C virus (HCV) receiving VX-950 monotherapy. *Rev Antiviral Ther* 2006;2006; 3:99-100.
37. Dusheiko G.M, Hezode C et al. Treatment of chronic Hepatitis C with Telaprevir in Combination with Peginterferon alfa-2a with or without Ribavirin. *Journal of hepatology* 2008;48, Suppl.2:S26.

38. McHutchison JG, Everson G et al. PROVE1: Results from a Phase 2 Study of Telaprevir with Peginterferon alfa-2a and Ribavirin in Treatment-Naive Subjects with Hepatitis C. *Journal of hepatology* 2008;48, Suppl.2:S4.
39. Lamarre D, Anderson PC, Bailey M, et al. An NS3 protease inhibitor with antiviral effects in humans infected with hepatitis C virus. *Nature* 2003;426(6963):186-9.
40. Lu L, Pilot-Matias TJ, Stewart KD, et al. Mutations conferring resistance to a potent hepatitis C virus serine protease inhibitor in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2004;48(6):2260-6.
41. Reiser M, Hinrichsen H, Benhamou Y, et al. Antiviral efficacy of NS3-serine protease inhibitor BILN-2061 in patients with chronic genotype 2 and 3 hepatitis C. *Hepatology* (Baltimore, Md 2005;41(4):832-5.
42. Hinrichsen H, Benhamou Y, Wedemeyer H, et al. Short-term antiviral efficacy of BILN 2061, a hepatitis C virus serine protease inhibitor, in hepatitis C genotype 1 patients. *Gastroenterology* 2004;127(5):1347-55.
43. Sarrazin C, Rouzier R, Wagner F, et al. SCH 503034, a novel hepatitis C virus protease inhibitor, plus pegylated interferon alpha-2b for genotype 1 nonresponders. *Gastroenterology* 2007;132(4):1270-8.
44. Kwo P et al. HCV SPRINT-1: Boceprevir plus Peginterferon alfa-2b/Ribavirin for treatment of genotype 1 chronic hepatitis C in previously untreated patients. *Hepatology* (Baltimore, Md 2008;48(Number 4 (Suppl)):LB 16.
45. Seiwert S et al. Preclinical characteristics of ITMN-B, an orally active inhibitor of the HCV NS3/4A protease nominated for preclinical development. *Journal of hepatology* 2006;44(Suppl. No. 2):A 750.
46. Bradford W et al. A phase 1 study of the safety, tolerability, and pharmacokinetics (pk) of single ascending oral doses of the NS3/4A protease inhibitor ITMN-191 in healthy subjects. *Hepatology* (Baltimore, Md 2008;48(Number 4 (suppl)):A 1871.
47. Pierra C, Amador A, Benzaria S, et al. Synthesis and pharmacokinetics of valopicitabine (NM283), an efficient prodrug of the potent anti-HCV agent 2'-C-methylcytidine. *Journal of medicinal chemistry* 2006;49(22):6614-20.
48. Zhou X et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of valopicitabine (NM283), a new nucleoside HCV polymerase inhibitor: results from a phase I/II dose-escalation trial in patients with HCV-1 infection. *Journal of hepatology* 2005;42(Suppl.2):229A.
49. Lawitz E et al. Clearance of HCV-RNA with valopicitabine plus peginterferon in treatment-naive patients with HCV-1 infection. *Journal of hepatology* 2007;46:9A.
50. Afdhal N et al. Valopicitabine (NM283), alone or with peginterferon, compared to peginterferon/ribavirin retreatment in patients with HCV-1 infection and prior nonresponse to peginterferon/ribavirin: one-year results. *Journal of hepatology* 2007;46(Suppl.1):S5.

51. Ludmerer SW, Graham DJ, Boots E, et al. Replication fitness and NS5B drug sensitivity of diverse hepatitis C virus isolates characterized by using a transient replication assay. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2005;49(5):2059-69.
52. Coelmont L, Paeshuyse J, Windisch MP, De Clercq E, Bartenschlager R, Neyts J. Ribavirin antagonizes the in vitro anti-hepatitis C virus activity of 2'-C-methylcytidine, the active component of valopicitabine. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2006;50(10):3444-6.
53. Klumpp K, Leveque V, Le Pogam S, et al. The novel nucleoside analog R1479 (4'-azidocytidine) is a potent inhibitor of NS5B-dependent RNA synthesis and hepatitis C virus replication in cell culture. *The Journal of biological chemistry* 2006;281(7):3793-9.
54. Roberts SK, Cooksley G, Dore GJ, et al. Robust antiviral activity of R1626, a novel nucleoside analog: a randomized, placebo-controlled study in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2008;48(2):398-406.
55. Pockros PJ, Nelson D, Godofsky E, et al. R1626 plus peginterferon Alfa-2a provides potent suppression of hepatitis C virus RNA and significant antiviral synergy in combination with ribavirin. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2008;48(2):385-97.
56. Le Pogam S et al. A high barrier to resistance may contribute to the robust antiviral effect demonstrated by R1626 in HCV genotype 1-infected treatment-naive patients. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;46(Suppl.1):813A.
57. Rajender Reddy et al. Antiviral activity, pharmacokinetics, safety, and tolerability of R7128, a novel nucleoside HCV RNA polymerase inhibitor, following multiple, ascending, oral doses in patients with HCV genotype 1 infection who have failed prior interferon therapy. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;46(Suppl.1):LB9.
58. Lalezari J et al. Potent antiviral activity of the HCV nucleoside polymerase inhibitor R7128 with Peg-IFN and ribavirin: interim results of R7128 500 mg bid for 28 days. *Journal of hepatology* 2008;48(Suppl.2):S29.
59. Kukolj G, McGibbon GA, McKercher G, et al. Binding site characterization and resistance to a class of non-nucleoside inhibitors of the hepatitis C virus NS5B polymerase. *The Journal of biological chemistry* 2005;280(47):39260-7.
60. Villano S et al. Analysis of HCV NS5B genetic variants following monotherapy with HCV-796, a non-nucleoside polymerase inhibitor, in treatment-naive HCV-infected patients. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2006;44(Suppl.1):607-8.
61. Villano S et al. Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, HCV-796, in combination with pegylated interferon alfa-2b in treatment naive patients with chronic HCV. *Journal of hepatology* 2007;46(Suppl.1):S24.
62. Bavisotto et al. Antiviral, pharmacokinetics and safety data for GS-9190, a non-nucleoside HCV NS5B polymerase inhibitor, in a phase 1 trial in HCV genotype 1 infected subjects. *Hepatology (Baltimore, Md)* 2007;46(Suppl.1):255A.

63. Cooper C et al. Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, VCH-759, in chronic hepatitis C patients: results from a randomized, doubleblind, placebo-controlled, ascending multiple dose study. *Hepatology* (Baltimore, Md 2007;46(Suppl.1):864A.

64. Nicolas O et al. Genotypic analysis of HCV NS5B variants selected from patients treated with VCH-759. *Journal of hepatology* 2008;48(Suppl.2):LB11.

Schriftliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel „Antivirale Kombinationstherapie mit einem Protease-Inhibitor (Telaprevir, TVR) und pegyliertem Interferon Alfa-2a bei Patienten mit chronischer Hepatitis C Infektion, Genotyp 1“ in der Medizinischen Klinik 1 der J. W. Goethe Universität Frankfurt am Main und der Medizinischen Klinik II des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg/Saar unter der Betreuung und Anleitung von Herrn Prof. Dr. med. S. Zeuzem ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Nicole Forestier, Hendrik W. Reesink, Christine J. Weegink, Lindsay McNair, Tara L. Kieffer, Hui-May Chu, Susan Purdy, Peter L. M. Jansen, and Stefan Zeuzem: Antiviral Activity of Telaprevir (VX-950) and Peginterferon Alfa-2a in Patients with Hepatitis C. *Hepatology* 2007; 46(3):640-8.

Frankfurt, 02.04.2009