



*Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale*  
*Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica*  
*Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia*

Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia

# **Personalizzazione del trattamento antivirale nel paziente affetto da epatite C grazie allo studio della dinamica dell'infezione con modello biomatematico**

Relatore: *Chiar.ma Dott.ssa*  
**Maurizia Rossana Brunetto**

Candidato:  
**Nicholas Bardi**

*Anno Accademico 2013 / 2014*

# INDICE

<b>ABSTRACT</b> .....	4
<b>INTRODUZIONE</b> .....	10
<b>1. Epatite cronica C: infezione, malattia e trattamento</b> ....	10
<b>1.1. Biologia del virus</b> .....	10
<b>1.2 Epidemiologia</b> .....	12
<b>1.3 Trasmissione</b> .....	13
<b>1.4 Storia naturale</b> .....	14
<b>1.5 Diagnosi</b> .....	15
<b>1.6 Screening</b> .....	16
<b>1.7 Terapia</b> .....	17
<i>1.7.1 Pazienti con fibrosi severa (F3-F4) e cirrosi</i> .....	18
<i>1.7.2 Pazienti con fibrosi lieve-moderata (F0-F2)</i> .....	19
<b>2. Modelli di studio della cinetica virale</b> .....	21
2.1 Definizione e scopo dei modelli biomatematici .....	21
2.2 Modelli standard .....	22
2.3 Applicazione dei modelli standard nella terapia .....	24
2.4 Modello multifasico .....	28
2.5 Equazioni del modello multifasico .....	32
2.6 Modelli e predizione SVR .....	38
<b>3. Modelli di studio farmaco economico</b> .....	40

3.1	Tipologie di analisi .....	41
3.1.1	<i>Analisi di sensibilità</i> .....	41
3.1.2	<i>Analisi costo-efficacia</i> .....	43
3.1.3	<i>Analisi costo-utilità</i> .....	44
3.2	Sconto di costi e benefici futuri .....	46
<b>STUDIO SPERIMENTALE</b> .....		47
1.	Obiettivi .....	48
2.	Pazienti e Metodi .....	49
2.1	Pazienti .....	49
2.2	Modello biomatematico semplificato .....	50
2.3	Modello analitico-decisionale .....	51
2.3.1	Albero decisionale .....	53
2.3.2	Modello di Markov .....	54
3.	Risultati .....	56
3.1	Validazione del modello semplificato .....	56
3.2	Analisi dei costi .....	62
4.	Conclusioni e Prospettive .....	67
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....		71
<b>APPENDICE</b> .....		77

## **Abstract**

**Premessa:** il virus dell'epatite C (HCV) causa un'epatite cronica con progressivo sviluppo di fibrosi che raggiunge lo stadio di cirrosi in circa il 30% dei pazienti e, in una minoranza, si associa a patologie extraepatiche di tipo ematologico (Crioglobulinemia, Linfomi a cellule B). L'HCV, non essendo in grado di integrarsi nel patrimonio genetico delle cellule infettate, persiste nell'individuo solo grazie alla sua elevatissima capacità replicativa, che alimenta una dinamica virale caratterizzata da un rapido turnover dei virioni circolanti e delle cellule infette. Il trattamento antivirale è quindi potenzialmente in grado di eradicare l'infezione e di bloccare l'evoluzione della malattia epatica prodotta dal tentativo inefficace di eliminazione del virus. In tal modo può esser prevenuto lo sviluppo della cirrosi e delle sue complicanze, in primis l'epatocarcinoma. Per circa 20 anni, caposaldo della terapia antivirale è stato l'interferone (IFN), associato alla ribavirina (RBV), con percentuali di successo limitate (globalmente non superiori al 50%) ed effetti collaterali importanti, causa di peggioramento della qualità di vita dei pazienti. Negli ultimi anni si è assistito a una notevole evoluzione del trattamento antivirale, grazie alla progressiva entrata in commercio dei cosiddetti farmaci antivirali ad azione diretta (DAAs); le prime due molecole di questa classe, il *Telaprevir* (TVR) ed il *Boceprevir* (BOC), sono state utilizzati come terzo farmaco in aggiunta alla classica duplice

terapia (DT) con Peg-IFN e RBV. Con questi nuovi trattamenti la probabilità di ottenere una *Risposta Virologica Sostenuta* (SVR), che corrisponde all'eradicazione del virus, è nettamente aumentata nei pazienti con infezione da HCV di genotipo 1 (70-80%), ma al prezzo di maggiori effetti collaterali e con costi significativamente aumentati. I nuovi farmaci con migliore efficacia e minori effetti collaterali (*Sofosbuvir*, *Simeprevir*, *Daclatasvir*, *Dasabuvir* e *Ombitasvir*), per via del costo elevato saranno prescrivibili, almeno in una fase iniziale, solo nei pazienti con fibrosi avanzata, cirrosi e/o trapianto di fegato.

In questo contesto la capacità di predire quali pazienti possano ottenere una SVR con la sola DT e quali necessitino di una schedula terapeutica più aggressiva, ha assunto un'importanza ancora maggiore. Il verificarsi di una *Risposta Virologica Rapida* (RVR), cioè la riduzione a livelli non rilevabili dell'HCV-RNA nel siero già a 4 settimane dall'inizio del trattamento con Peg-IFN e RBV, si associa una elevatissima probabilità (>90%) di raggiungere la SVR completando il ciclo di terapia programmato. Per questo motivo le Linee Guida hanno imposto la valutazione della RVR dopo 4 settimane di Peg-IFN e RBV nei pazienti con malattia in stadio iniziale, mai trattati in precedenza, prima di associare l'eventuale terzo farmaco (triplice terapia, TT). Tuttavia, solo un terzo circa dei pazienti con SVR presenta una RVR, esiste pertanto ancora una quota cospicua di pazienti a cui sarebbe possibile evitare l'aggiunta dell'inibitore di proteasi. Una più accurata previsione dell'esito finale di un trattamento tradizionale con Peg-IFN e RBV potrebbe esser ottenuta utilizzando modelli

bio-matematici che descrivono la dinamica dell'infezione virale in corso il trattamento grazie ad equazioni differenziali che permettono di analizzare le cinetiche della viremia. In particolare, presso l'UO Epatologia di Pisa è stato sviluppato un modello biomatematico che analizza sia la cinetica dell'HCV-RNA che delle transaminasi (ALT) nelle prime 4 settimane di DT, e, stimando i tempi di rimozione immunomediata degli epatociti infetti, ha dimostrato un'accuratezza diagnostica nettamente superiore a quella della RVR nell'identificare i pazienti SVR (90% vs 70%). Tale modello, nella sua versione originale, necessitava di misure ripetute (7 punti) di HCV-RNA e di ALT nelle prime 4 settimane di terapia limitandone l'applicazione clinica su vasta scala. Ciò ha indotto a sviluppare una versione semplificata del modello che è stata oggetto di validazione e punto di partenza per le analisi farmaco economiche proposte in questa tesi.

**Obiettivi.** Obiettivi dello studio sono:

- Validare una versione semplificata (con un minor numero di misurazioni di HCV-RNA e di ALT) del modello biomatematico originale, più facilmente applicabile nella pratica clinica
- Confrontare gli esiti e i costi della terapia antivirale con DT o TT nei pazienti con epatite cronica C di genotipo 1, fibrosi in stadio iniziale, mai trattati in precedenza, con schedula definita applicando due algoritmi decisionali: il primo basato sulla RVR, come indicato

dalle Linee Guida (guideline-guided, GG), il secondo basato sulla predizione di risposta fornita dal modello biomatematico (model-guided, MG).

**Metodi:** Per la validazione della versione semplificata del modello biomatematico è stata utilizzata una coorte di 150 pazienti affetti da epatite cronica da HCV genotipo 1 [CHC-G1], sottoposti a trattamento antivirale con *Peg-IFN* + *Ribavirina* presso l'UO Epatologia dal 2006 al 2011 e a monitoraggio ravvicinato di HCV-RNA e ALT nel corso delle prime 4 settimane di terapia (giorni 0, 2, 4, 7, 14, 21 e 28).

Per confrontare le strategie GG e MG è stato poi sviluppato uno specifico modello economico analitico-decisionale; questo modello consta di due moduli, un albero decisionale per il primo periodo ed un modello di Markov a lungo termine, per simulare gli anni di vita rimanenti dei pazienti; gli esiti stimati erano il guadagno in termini di anni di vita (*LYs*) e di anni di vita pesati per la qualità (*QALYs*).

**Risultati:** La predizione della risposta antivirale ottenuta applicando il *modello originale*, che per la simulazione considera i valori di HCV-RNA e ALT misurati in 7 punti nel primo mese (giorni 0, 2, 4, 7, 14, 21, 28), è risultata del tutto sovrapponibile a quella ottenuta con il *modello semplificato*, che considera invece un minor numero di dati misurati (HCV-RNA giorni 0 e 28; ALT giorni 0, 7, 14, 28).

Anche il modello semplificato ha dimostrato una capacità di predizione della SVR significativamente superiore rispetto a

quella della RVR, con un rilevante guadagno in termini di sensibilità (87.6% vs 40%) e di accuratezza diagnostica (90.4% vs 69.6%), e a parità di valore predittivo positivo (PPV: 93 % vs 94%).

L'analisi costo-efficacia ha dimostrato che le due strategie di trattamento (GG e MG) raggiungono risultati sovrapponibili in termini di esiti clinici (20.06-20.20 vs 20.09-20.20 LYs, 18.91-19.28 vs 19.14-19.42 QALYs), ma con costi differenti, evidenziando un risparmio netto di 3600-3900€ per paziente con la strategia MG, che è risultata nel complesso marginalmente più efficace e meno costosa (dominante).

**Conclusioni:** Il modello biomatematico (sia in versione originale che semplificata) presenta una capacità di predizione della SVR significativamente superiore a quella della RVR, attualmente in uso nelle linee guida nazionali e internazionali. L'utilizzo del modello biomatematico semplificato ha il potenziale di migliorare il rapporto costo-efficacia del trattamento di HCV, riservando l'uso di TVR o BOC a chi realmente non avrebbe possibilità di raggiungere la SVR con la duplice terapia.

**Prospettive:** nell'anno in corso nuovi DAA sono comparsi sul mercato, su tutti il *Simepravir* (SMV) ed il *Sofosbuvir* (SOF), ed altri sono attesi. La combinazione di *SOF* + *SIM* è al momento la più efficace e la meno gravata da effetti collaterali, ma anche quella caratterizzata dai costi più elevati; conseguentemente le linee guida sono state modificate per

includere questi nuovi farmaci ma solo nei pazienti con fibrosi avanzata, o che hanno urgente indicazione al trattamento per particolari condizioni cliniche (trapianto, malattia extraepatica sintomatica).

In questo contesto, nuovo ed in rapida evoluzione, la *base logica* di questo studio potrebbe trovare ulteriore applicazione, rappresentando il punto di partenza per lo sviluppo di algoritmi decisionali con i nuovi DAA, basati sull'uso del modello biomatematico e finalizzati alla *ottimizzazione del rapporto costo-efficacia*.

# INTRODUZIONE

## 1. Epatite cronica C: infezione, malattia e trattamento

### 1.1 Biologia del virus dell'epatite C

Il virus dell'epatite C (Hepatitis C Virus, HCV) è un virus a RNA appartenente alla famiglia dei Flaviviridae, unico membro del genere Hepacivirus. Il virione presenta un diametro di 55-65 nm ed è costituito da un mantello esterno, il pericapside (“*envelope*”), a composizione prevalentemente lipidica, che riveste il capsid (“*core*”), di forma icosaedrica, all'interno del quale è contenuto l'acido nucleico: una molecola di RNA a filamento singolo con polarità positiva, lungo circa 9.600 nucleotidi. Il genoma virale codifica per un'unica poliproteina di 3010-3033 aminoacidi e presenta alle estremità 3' e 5' terminali due regioni non codificanti. Una volta tradotta, la poliproteina viene processata da proteasi cellulari e virali, dando origine a diverse proteine sia strutturali che non strutturali (NS):

- due glicoproteine che vanno a far parte dell'*envelope*, *E1* e *E2*: nella loro sequenza sono presenti delle regioni ipervariabili che sono responsabili della significativa variabilità antigenica del virus;
- la proteina strutturale del *core* (*C*);
- due proteine transmembrana: *NS1* e *NS2*;
- una proteina, *NS3*, che svolge attività enzimatica (RNA elicasi e proteasi) coadiuvata da due altre due proteine, *NS4A* e *NS4B*;

- la proteina *NS5A*, che è in grado di interagire con altre proteine sia virali che cellulari (si lega al recettore per il TNF e alla proteina chinasi R bloccando l'apoptosi) e di modulare negativamente la risposta cellulare all'interferone
- l'*NS5B*, infine, è la polimerasi virale.

Il virus è in grado di legare il recettore CD81 (tetraspanina), espresso da epatociti e linfociti B, oltre che ai recettori delle lipoproteine a bassa densità (LDL); una volta penetrato nell'epatocita per endocitosi si trasferisce nel citoplasma, rilasciando il proprio RNA a polarità positiva, il quale agisce come un RNA messaggero (mRNA) legandosi ai ribosomi e dando inizio alla traduzione. La poliproteina viene quindi scissa dalle proteasi virali e cellulari. La replicazione del genoma virale a partire dall'RNA a polarità positiva viene effettuata dalla RNA-polimerasi RNA-dipendente, *NS5B*: dapprima viene trascritto una molecola di RNA a polarità negativa che funge poi da stampo per la produzione del genoma. L'assemblaggio dell'acido nucleico con le proteine del capsido avviene a livello del reticolo endoplasmatico; il nucleo capsido viene quindi rivestito dall'envelope, formato da lipidi cellulari e proteine virali (E1, E2) ed infine rilasciato dalla cellula per esocitosi.

L'HCV possiede una notevole variabilità genetica: si distinguono 6 diversi genotipi, caratterizzati da un'omologia di sequenza all'interno di ogni singolo gruppo del 65%, entro i quali si identificano diversi sottotipi per i quali l'omologia è superiore al 90%.

I genotipi 1, 2 e, in misura minore, 3, sono quelli maggiormente diffusi in Europa e negli Stati Uniti (con una prevalenza di oltre il 90% delle infezioni in Italia). Il genotipo 4 è prevalentemente diffuso in Medio Oriente e in Africa, il genotipo 5 in Africa meridionale e il 6 in Asia sudorientale.

## **1.2 Epidemiologia**

L'OMS stima che nel mondo circa 130-150 milioni di persone abbiano un'infezione cronica da HCV, e che ogni anno vi siano 350.000-500.000 morti per patologia epatica causata da HCV; il virus è presente in tutto il mondo, ma vi sono aree in cui prevalenza e incidenza sono più alte, in particolare in Asia centrale ed orientale e Nord Africa

Le stime più accreditate per l'Italia riportano una prevalenza di positività per anticorpi anti-HCV nel siero di circa il 3%, con significative differenze a seconda dell'area geografica considerata: più elevata prevalenza nelle regioni del Sud (sino al 12%) e del Centro rispetto a quelle del Nord.

L'incidenza di nuove infezioni nella popolazione generale è molto difficile da stimare: il registro nazionale SEIEVA (Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta), che raccoglie i dati relativi ai casi di epatite acuta in Italia, riporta tassi di circa 1 per 100.000/anno, con una chiara sottostima dovuta al fatto che gran parte delle infezioni primarie da HCV non è accompagnata da alcuna sintomatologia acuta e non viene pertanto diagnosticata e denunciata alle autorità sanitarie.

### **1.3 Trasmissione**

L'infezione da HCV si trasmette principalmente attraverso la via parenterale; nei paesi occidentali, l'epidemia di HCV da causa iatrogena, trasmessa cioè tramite trasfusioni di sangue e pratiche mediche invasive o chirurgiche, è da considerarsi in fase di conclusione, grazie al miglioramento delle condizioni igienico-sanitarie e, soprattutto, alla disponibilità di test di laboratorio efficaci per la selezione di donatori di sangue a partire dall'inizio degli anni Novanta.

La diffusione tra tossicodipendenti rappresenta ad oggi la principale via di trasmissione del virus, almeno nei paesi sviluppati; oppure a seguito di pratiche come piercing e tatuaggi con strumenti non adeguatamente sterilizzati e, meno comunemente, in ambito ospedaliero in occasione di interventi invasivi.

Il contagio perinatale si verifica in circa il 5% dei nati da madri HCV-RNA positive; il rischio è aumentato in presenza di coinfezione da HIV, mentre non vi è ad oggi alcuna evidenza che le modalità di parto (per via naturale o con taglio cesareo) e il tipo di allattamento (naturale o artificiale) influenzino il rischio di trasmissione.

#### **1.4. Storia naturale**

L'infezione da HCV cronicizza nel 50-85% dei casi; un danno epatico cronico è osservabile nella maggior parte dei soggetti con infezione cronica, tuttavia solo il 20-30% di essi svilupperà la cirrosi epatica nell'arco della propria vita.

Nell'evoluzione della malattia giocano un ruolo fondamentale alcuni elementi legati all'ospite, in particolare diversi sono i cofattori che possono modificarne il decorso, la gravità e la progressione a cirrosi; tra questi i più noti sono:

- l'età più elevata al momento dell'infezione
- la via di trasmissione seguita e quindi la carica virale infettante
- coinfezioni con virus dell'epatite B (HBV) o con HIV
- alterazioni dello stato immunitario
- fattori genetici in parte ancora da identificare
- coesistenza di altri fattori epatolesivi come alcool, farmaci ed il dismetabolismo glico-lipidico.

Ad oggi sappiamo che circa la metà dei soggetti con infezione cronica da HCV presenta livelli di ALT (alanina-aminotrasferasi) che si posizionano ripetutamente nel cosiddetto intervallo di normalità: questi soggetti sono stati per lungo tempo considerati sani o asintomatici; entrambi gli aggettivi sono oramai da abbandonare: infatti, anche se i tempi di progressione della fibrosi sono circa raddoppiati rispetto ai

pazienti con una franca alterazione delle aminotransferasi, una malattia istologicamente significativa è presente in circa il 20-30% dei paziente con livelli normali di ALT

### **1.5. Diagnosi**

La diagnosi dell'infezione da HCV si basa su due tipi di marcatori:

1. *marcatori indiretti* di infezione (test anticorpali)
2. *marcatori diretti* d'infezione (viremia con *ricerca HCV-RNA*, o antigenemia con *ricerca di HCVcore-Ag*)

Nell'ambito dei marcatori indiretti, il *test immunoenzimatico di terza generazione (EIA III)* per il rilevamento degli anticorpi anti-HCV assicura un'ottima performance diagnostica raggiungendo, nei soggetti immunocompetenti, una sensibilità superiore al 99%; ciò lo rende, assieme alla sua economicità, particolarmente idoneo e utile a scopo di screening.

Il test di conferma sierologica utilizza la tecnica *RIBA (recombinant immunoblot assay)*; il *RIBA* trova di fatto una qualche utilità solo nei soggetti risultati negativi alla determinazione di HCV-RNA qualitativo, permettendo di distinguere tra infezione pregressa e falsa positività di laboratorio nel soggetto con positività anti-HCV

I marcatori diretti si basano sulla ricerca del genoma virale nel plasma o nel siero del paziente mediante tecnologie molecolari

molto sensibili, come la *RT-PCR* (*reverse transcriptase-polymerase chain reaction*) e la *TMA* (*transcription-mediated-amplification*)

Nella diagnosi di infezione cronica in soggetti immunocompetenti, la determinazione di *HCV-RNA qualitativo* deve essere richiesta solo in presenza di positività anti-HCV; è da sottolineare però che, in caso di immunosoppressione o qualora si sospetti un'infezione recente, la ricerca dell'*HCV-RNA qualitativo* dovrebbe essere eseguita indipendentemente dal risultato del test anti-HCV.

Il *test per il dosaggio quantitativo dell'HCV-RNA* non è necessario per la conferma della diagnosi di epatite cronica; è invece utile per il monitoraggio della risposta in corso di terapia antivirale.

Il *test HCVcore-Ag* ha applicazioni simili a quelle dell'HCV RNA, ma risulta meno sensibile

## **1.6. Screening**

E' necessario sottoporre ai test diagnostici tutti i pazienti con segni e sintomi di malattia epatica ed indipendentemente da ciò anche:

- chi fa o ha fatto uso di stupefacenti per via endovenosa
- soggetti sottoposti ad emodialisi
- chi ha ricevuto emotrasfusioni o trapianti d'organo prima del 1992

- i conviventi o chi abbia convissuto con individui con infezione da HCV
- i nati da madre anti-HCV positiva
- soggetti con crioglobulinemia mista essenziale
- soggetti con infezione da HIV e/o HBV
- soggetti immigrati provenienti da regioni ad endemia elevata  
[1]

## 1.7. Terapia

Negli ultimi anni, a causa della comparsa sul mercato di nuovi e potenti farmaci ad azione antivirale diretta (DAAs), in particolare gli inibitori di proteasi virale NS3/NS4a di prima generazione *Boceprevir* [BOC] e *Telaprevir* [TVR] e, ultimamente, l'inibitore della polimerasi virale NS5B, il *Sofosbuvir* [SOF] e l'inibitore della proteasi di seconda generazione, il *Simeprevir* [SIM], si è assistito ad una rapida evoluzione delle Linee Guida sulle indicazioni ai trattamenti più appropriati nelle varie tipologie di paziente.

I pazienti con epatite cronica C da sottoporre a terapia antivirale vengono distinti in sottogruppi, differenti per caratteristiche virologiche e cliniche. Le categorie fondamentali per la scelta dello schema terapeutico più appropriato sono:

- il genotipo virale coinvolto nell'infezione (1a, 1b, 2, 3 e 4 sono quelli più diffusi in Italia)

- l'essere o meno già stati trattati (*experienced* o *naive*)
- lo stadio della fibrosi
- la presenza di cirrosi scompensata in attesa di trapianto epatico o di recidiva di epatite C post-trapianto epatico
- l'eventuale presenza di coinfezione con virus HIV.

### ***1.7.1. Pazienti con fibrosi severa (F3-F4) e cirrosi***

Nell'ultimo recentissimo documento pubblicato in materia dall'AISF, i pazienti con stadi avanzati di fibrosi (F3-4 secondo METAVIR) e cirrosi in classe A e B di Child-Pugh, hanno indicazione prioritaria all'uso dei nuovi schemi terapeutici con SOF e SIM in associazione tra loro o con *Peg-IFN + Ribavirina*, in ragione del miglior profilo di sicurezza e di efficacia di tali farmaci.

Per via dell'elevato costo del Sofosbuvir e dell'ampio numero di pazienti in stadi meno avanzati di malattia, tali regimi terapeutici non sono invece stati autorizzati in tutti i pazienti con fibrosi F0-2, ma solamente in un gruppo molto ristretto di quelli con fibrosi F2 che hanno subito un trapianto epatico, o un trapianto di organo solido (non fegato) o di midollo, e in quei pazienti in cui l'epatite cronica è associata a gravi manifestazioni extra-epatiche HCV-correlate (sindrome crioglobulinemica con danno d'organo, sindromi linfoproliferative a cellule B) [2]

### ***1.7.2. Pazienti con fibrosi lieve-moderata (F0-F2)***

Gli studi sulla storia naturale e l'epidemiologia dell'infezione da HCV evidenziano come con il tempo una buona parte dei pazienti con epatite cronica C tenda ad evolvere in forme più severe di danno epatico. Lo sviluppo della fibrosi, inoltre, non ha un andamento sempre lineare, essendo influenzato da svariate condizioni intercorrenti: la comparsa della menopausa nella donna, l'associazione di cofattori di danno dismetabolico e la propensione alle riattivazioni di malattia che aumentano con la durata dell'infezione, in particolare nei pazienti con il genotipo 2 [3]

L'atteggiamento terapeutico preventivo è pertanto auspicabile in tutti quei pazienti in cui sono presenti anche modesti segni di tendenza evolutiva. Inoltre, va considerato che il trattamento dell'epatite cronica C prima dello stadio, eliminando l'infezione in modo definitivo potrebbe ridurre il rischio delle patologie extraepatiche ematologiche e reumatologiche con cui è stato ben documentato il nesso causale. Negli ultimi anni, diversi studi hanno anche evidenziato come HCV sia associato alla patologia cardiovascolare ed al diabete, verosimilmente per via della sua capacità di indurre insulinoresistenza sia a livello epatico che muscolare [4][5][6]

Infine, va sottolineato che l'eradicazione tardiva dell'infezione da HCV nei pazienti con fibrosi avanzata o cirrosi, se da un lato riduce il rischio di scompenso e migliora la funzione epatica residua, non è in grado di portare ad una "restituito ad integrum" dell'organo e non è al momento chiaro quale sia l'impatto reale nella riduzione del rischio di epatocarcinoma (HCC).

Nel paziente con malattia epatica lieve, pertanto, la terapia antivirale troverebbe piena indicazione, ma essendo i trattamenti più efficaci e meglio tollerati (SOF + SIM) anche quelli più costosi, le attuali indicazioni delle Linee Guida AISF consigliano di seguire questi pazienti con attenzione in assenza di trattamento o di utilizzare i trattamenti disponibili con *Peg-IFN + RBV* con l'eventuale associazione di inibitore di proteasi di I generazione (*Boceprevir*) in funzione della risposta virologica dopo le prime 4 settimane di *Peg-IFN + RBV*.

In particolare, il trattamento con *Peg-IFN + RBV* resta valido nel sottogruppo di pazienti con predittori positivi di risposta:

- genotipo 1, *naive*, con elevata probabilità di guarigione (IL28 CC e bassa carica virale) [48 settimane]
- genotipo 2, *naive* (tutti quelli di questa categoria, cioè con fibrosi lieve-moderata; alcuni dati indicherebbero una buona efficacia persino nei pazienti F3) [24 settimane]
- genotipo 3, *naive* (come per genotipo 2) [24 settimane]
- genotipo 4, *naive* (come per genotipi 1) [48 settimane] [3]

Nei pazienti con genotipo 1, in cui sia stata intrapreso il trattamento con *Peg-IFN + RBV*, resta fondamentale la valutazione della risposta virologica alla 4a settimana di terapia, in quanto l'assenza di risposta virologica rapida (RVR: HCV-RNA non rilevabile) identifica una condizione di minor probabilità di risposta virologica sostenuta (SVR) dopo la fine del trattamento e quindi permette di selezionare quel sottogruppo di pazienti a cui si potrebbe associare un inibitore di proteasi di I generazione (*Boceprevir*)

## 2. Modelli di studio della cinetica virale

### 2.1 Definizione e scopo dei modelli biomatematici

Un *modello* descrive in modo semplificato e con grado variabile di approssimazione un processo complesso del quale non si conoscono in modo pienamente esaustivo le modalità di sviluppo e rappresenta uno strumento di descrizione e previsione degli eventi che il processo stesso determina. I fenomeni analizzati sono descritti con *espressioni matematiche* costituite da equazioni differenziali che stabiliscono una relazione fra variabili di ingresso e di uscita in base ad assunti elaborati partendo dalle conoscenze disponibili. Misurando le variabili in entrata è possibile analizzare quantitativamente la dinamica del processo e fornire una stima delle variabili in uscita, che, usualmente non misurabili, sono pertanto stimate. La rappresentazione analitica di cui il modello si avvale permette la misura della divergenza fra i dati sperimentali e i dati previsti dal modello stesso, e pertanto eventuali discrepanze ricorrenti inducono a modificare il modello introducendo nuove ipotesi in grado di giustificarle.

La disponibilità di tecniche di laboratorio per la quantificazione della carica virale e le maggiori conoscenze sulla biologia dei virus epatitici, assieme alla necessità di migliorare l'efficacia della terapia antivirale, ha indotto, già sul finire degli anni '90, ad elaborare modelli bio-matematici in grado di simulare l'interazione virus/ospite e di descrivere la dinamica virale in corso di terapia; i modelli che hanno descritto la cinetica della carica virale dell'HCV in corso di

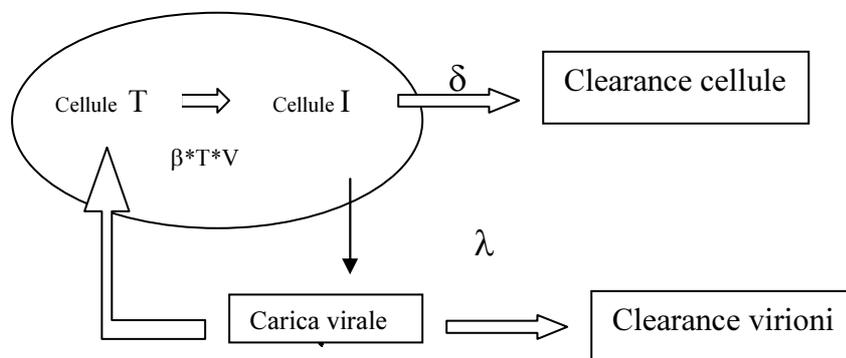
terapia sono stati ispirati da precedenti lavori su HBV ed HIV ed hanno come presupposto comune quello di considerare la *viremia* (parametro misurabile e quantizzabile) come la risultante finale delle interazioni che caratterizzano il ciclo biologico del virus e la risposta immune dell'ospite; l'utilizzo di *farmaci antivirali* va a modificare questo equilibrio virus/ospite che si trova in uno stato quasi stazionario prima della terapia generando di conseguenza una variazione della viremia; la cinetica con cui si verificano le variazioni della viremia porta a formulare delle ipotesi sui meccanismi che le generano, compatibili con le conoscenze biologiche (*modello biologico*) e a rappresentarle con equazioni differenziali (*modello matematico*) per poter confrontare i valori di carica virale calcolati dal modello con quelli misurati sperimentalmente (simulazione del modello): minore è la differenza fra dati misurati sperimentalmente e dati previsti dal modello e maggiore sarà l'accuratezza con cui il modello descrive il processo oggetto di studio.

## ***2.2. Modelli Standard***

I modelli standard che spiegano l'infezione cronica virale si basano sulla definizione di un sistema *a due compartimenti*: in uno si ha la replicazione virale (epatociti) e nell'altro la circolazione dei virioni liberi (circolo sanguigno); all'interno di questo sistema distinguiamo tre variabili strettamente correlate: le *cellule target* (T), che sono epatociti sani

suscettibili all'infezione, le *cellule infette* (I) e la *carica virale* (V), che indica la quantità di virioni circolanti.

Tale modello standard assume che le cellule T vengano generate ad un tasso di produzione  $s$  e che muoiano secondo una costante  $d$ ; una volta venute a contatto con il virus (V), le cellule T divengono infette (I), la produzione di I è proporzionale a  $T \cdot V$  e ad un coefficiente  $\beta$  che indica la suscettibilità delle cellule target ad infettarsi; le cellule infette I vengono eliminate dall'attività immune citotossica secondo un tasso costante  $\delta$ , analogamente i virioni sono prodotti ad un tasso costante  $\psi$  ed eliminati ad un tasso costante  $\lambda$  (vedi schema sottostante)



Sperimentalmente notiamo che durante l'infezione cronica da HCV esistono minime oscillazioni della viremia, espressione di una condizione di *equilibrio dinamico* fra la produzione virale (intesa come numero medio di virioni prodotto nell'unità di tempo da ciascun epatocita infetto per il numero totale delle cellule infette) e rimozione di particelle virali dal circolo (clearance virale); quando iniziamo la

somministrazione di una terapia antivirale questo equilibrio viene perturbato così che produzione ed eliminazione virale non rimangono più nella condizione di partenza: si nota infatti che l'azione antivirale diretta dell'IFN porta ad una riduzione della viremia che si manifesta in *due fasi*: una iniziale, più rapida, che si verifica nelle prime 48 ore ed una successiva, più lenta.

### ***2.3. Applicazione dei modelli standard nella terapia***

1. Zeuzem et al. (1996) furono i primi ad applicare il modello standard allo studio della cinetica di HCV-RNA durante la terapia con IFN- $\alpha$ ; il loro modello descrive con semplici equazioni differenziali le dinamiche degli epatociti infetti e del carico virale; con le elaborazioni (*fitting*) dei dati sperimentali ottenuti dalle misure non molto frequenti della carica virale nelle prime settimane di terapia sono riusciti a descrivere una singola caduta esponenziale della viremia in risposta alla terapia (assumendo alternativamente il 100% di blocco nella produzione virale, o il 100% di blocco nell'infezione di nuove cellule), mentre la maggior parte dei pazienti mostrava un declino virale bifasico [7]

2. Neumann et al. (1998) hanno ulteriormente esteso il modello, includendo un compartimento separato per le cellule sane suscettibili di essere infettate; nel loro studio furono esaminati 23 pazienti affetti da epatite cronica da HCV, genotipo virale 1 in trattamento con IFN somministrato

giornalmente ai dosaggi di 5MU, 10MU, 15 MU; tutti i pazienti arruolati sono stati sottoposti a prelievi ematochimici ravvicinati nei primi 14 giorni di cura per poter analizzare accuratamente le variazioni della carica virale.

In questi pazienti è stata osservata nelle prime 48 ore una prima fase rapida di riduzione della carica virale (fase I), la cui entità è strettamente correlata alla dose di IFN somministrata, seguita da una caduta più lenta non correlata con la dose di IFN somministrata (fase II), che interpretarono come espressione dei meccanismi di eliminazione delle cellule infette da parte del sistema immunitario; la caduta bifasica è stata particolarmente evidente nei soggetti responsivi.

Applicando con successo il modello bifasico, Neumann et al. hanno dedotto che dopo la somministrazione di IFN si realizza una riduzione drastica ma non completa della produzione di virioni che, essendo rapidamente rimossi dal circolo, porta ad un significativo abbattimento (>90%) della carica virale circolante e quindi anche delle infezioni “de novo” delle cellule target; ne consegue che il numero degli epatociti infetti eliminati supera il numero di quelli infettati portando al progressivo esaurimento dell'infezione.

La diversa velocità di caduta della viremia nelle due fasi si spiega col fatto che la vita media delle cellule infette (giorni) è significativamente maggiore di quella dei virioni liberi (ore); secondo Neumann l'azione principale dell'IFN si esplica essenzialmente in fase I con un meccanismo antivirale diretto dose dipendente ma che non è mai efficace in modo completo: infatti, se l'IFN avesse un'efficacia del 100% ( $\epsilon = 1$ ), si avrebbe solo una caduta monofasica della viremia.

Pur non studiando la cinetica delle transaminasi, Neumann evidenzia che la caduta della viremia in fase II correla in modo positivo con i livelli di ALT, indicando che la maggiore necrosi epatocitaria è verosimilmente l'espressione di una risposta immune più vigorosa; al contrario la cinetica virale nella fase I è totalmente indipendente dalle ALT [8]

3. Per approfondire questo aspetto Ribeiro et al. (2003) ampliarono il modello bifasico già esistente introducendo una nuova equazione differenziale che analizza la cinetica della ALT durante il primo mese di terapia in pazienti sottoposti a somministrazione giornaliera di alte dosi di IFN allo scopo di confrontarla con la cinetica virale: dallo studio emerge una stretta correlazione fra la caduta della viremia e la caduta delle ALT.

Inoltre, la cinetica di discesa delle ALT giustifica l'assunzione che la fase II sia attribuibile alla clearance degli epatociti infetti: infatti dal momento che le ALT sono espressione del tentativo del sistema immune di eliminare l'infezione virale con meccanismo citotossico, la clearance degli epatociti comporta una riduzione del pool di cellule infette responsabili del rilascio del suddetto enzima con la conseguente riduzione delle ALT [9]

4. La necessità di sviluppare ulteriormente tale modello standard per meglio descrivere le cinetiche virali nei pazienti trattati con la combinazione *IFN + RBV*, è stata sottolineata da uno studio di Hermann et al. (2003); essi hanno infatti

osservato un più rapido declino del carico virale, durante la fase II (giorni 7-28) in questi pazienti, rispetto a quanto osservato in caso di terapia con solo IFN; questo più rapido declino è stato associato al raggiungimento di una viremia non rilevabile a fine terapia e con un più alto tasso di SVR; essi spiegarono il fenomeno assumendo che la Ribavirina sia in grado di aumentare il tasso di morte delle cellule infette [10]

Comunque, Pawlotsky et al. (2004) hanno notato, in pazienti trattati anche con RBV, un transitorio effetto additivo nel declino virale, che può essere attribuito ad un effetto antivirale diretto di RBV: nel loro modello matematico, essi hanno assunto che la *Ribavirina* renda non produttivi una parte degli epatociti appena infettati, in accordo con l'evidenza disponibile, da studi su un poliovirus, degli effetti mutageni di RBV in grado di indurre la produzione di virioni non infettanti (Crotty et al. , 2001) [11] [12]

Considerando l'efficacia addizionale di RBV come termine separato, Dixit et al. (2004) sono stati in grado di analizzare tale effetto, dose-dipendente, in numerose diverse situazioni; tale assunzione potrebbe spiegare perché RBV è inefficace in mono terapia e non è necessariamente richiesta per un'alta efficacia di IFN [13]

In ogni caso, i risultati di questi studi hanno portato alla conclusione che i modelli di analisi degli effetti antivirali durante il primo mese di terapia con *Peg-IFN + RBV* possono predire l'outcome, aiutando pertanto a modellare, personalizzare, la terapia per ogni singolo paziente; Ciononostante, l'uso del modello bifasico per decidere la durata della terapia non si è dimostrato in grado di migliorare

l'outcome in un ampio studio clinico randomizzato (Zeuzem S, 2005) [14]

Un aspetto fondamentale e un limite di tale modello bifasico è quello di ritenere che l'azione del sistema immunitario responsabile della eliminazione delle cellule infette in fase II (che è strettamente correlato con l'esito finale) sia costante nel corso della terapia con IFN e RBV; analizzando però l'outcome di pazienti sottoposti ad una medesima durata di terapia e con stessa velocità di riduzione della viremia nella fase II, notiamo che non è sempre possibile distinguere coloro che sono definitivamente guariti dall'infezione da coloro che recidivano, a dimostrazione del fatto che è necessario introdurre altri parametri correlati all'interazione virus/ospite per interpretare i risultati ottenuti sperimentalmente.

#### ***2.4. Modello Multifasico***

Colombatto et al. (2003) hanno pertanto sviluppato un modello fisico-matematico più complesso in cui si pone come condizione fondamentale che la clearance immunomediata degli epatociti infetti sia funzione del loro numero e quindi il coefficiente  $\delta$ , espressione dell'azione del sistema immunitario, non vada considerato costante nel corso della terapia, postulando pertanto la presenza di una terza fase in cui si verifica un rallentamento dell'attività di eliminazione delle cellule infette quando esse sono in numero nettamente ridotto (progressivamente dopo 4 settimane di terapia). Gli epatociti infetti, infatti, rappresentano contemporaneamente il bersaglio e lo stimolo del sistema immunitario, ed è ragionevole

supporre che quando si riduce il numero di epatociti infetti presenti nel fegato, venga anche meno sollecitata l'azione immune contro di essi.

In questo studio sono stati esaminati 31 pazienti con epatite cronica da HCV sottoposti a trattamento con *IFN- $\alpha$ -2b* al dosaggio di 3-5 MU/die a giorni alterni in monoterapia o in associazione a *Ribavirina* per una durata di 6-12 mesi in relazione al genotipo virale; tutti i pazienti sono stati sottoposti a ripetuti prelievi ematochimici per studiare la cinetica virale e delle ALT nel corso del primo mese di terapia.

Il modello si avvale dell'utilizzo delle transaminasi assumendo come ipotesi che le ALT presenti nel siero siano principalmente espressione della danno citolitico sugli epatociti infetti e quindi della capacità di clearance del sistema immunitario; ne consegue che le cellule infette presenti sono proporzionali al valore delle ALT misurate meno il valore nominale posto uguale a 20 UI/ml.

La ragione della scelta di calcolare  $\delta_0$  dalla cinetica di caduta delle ALT e non da quella dell'HCV-RNA nella fase II, derivava dall'analisi di confronto delle discese logaritmiche delle ALT e della viremia nei primi 28 giorni di terapia; veniva infatti riscontrata una discrepanza inattesa: se, come Neumann assume nel modello standard, il valore di  $\delta$  (tasso costante di eliminazione degli epatociti infetti) ed  $(1-\varepsilon) \cdot \psi$  (coefficiente di produzione virale residuo dopo la fase di blocco) rimangono

invariati nel corso del trattamento, dopo 48 ore dall'inizio della terapia il Log della caduta della viremia e il Log della caduta di (ALT-20) dovrebbero decrescere in modo parallelo; Colombatto et al. osservano invece che nei pazienti che presentano una brusca riduzione della viremia nelle prime 48 ore di terapia ad opera dell'effetto di blocco dell'IFN, la pendenza del  $\text{Log } V(t)$  è maggiore di quella del  $\text{Log } (\text{ALT}-20)$ , ossia l'inverso della costante di tempo della caduta della viremia  $1/\pi$  è minore di quella delle cellule infette espressa da  $1/\delta$  in accordo a quanto osservato nella pratica clinica in cui la riduzione della viremia spesso anticipa la normalizzazione delle transaminasi.

Questa divergenza può essere spiegata supponendo che il coefficiente di produzione virale  $\psi$ , ridotto dopo il blocco dovuto all' IFN al valore di  $(1-\varepsilon) \cdot \psi$ , continui a diminuire in modo esponenziale durante le settimane successive di trattamento avvicinandosi ad un valore asintotico uguale a  $\gamma \cdot (1-\varepsilon) \cdot \psi$  ; questo modello introduce pertanto una nuova variabile misurata, le ALT, per la determinazione della quota degli epatociti infetti presenti all'inizio della terapia ed assume che dopo la fase I le cellule infette mantengono una produzione virale residua suscettibile di un'ulteriore riduzione che si realizza in fase II in cui l'abbattimento della carica virale è imputabile ad un duplice fenomeno: l'eliminazione degli epatociti infetti da parte del sistema immunitario e l'ulteriore calo della produzione di virioni liberi da parte delle cellula infetta secondo una costante di caduta pari a  $1/\varphi$  .

Quando il coefficiente di produzione virale si avvicina al valore asintotico (tempo  $t_f$ ), il Log della caduta di  $V(t)$  decresce più lentamente perché da questo momento in poi la riduzione della viremia dipende esclusivamente dalla eliminazione delle cellule infette [15]

A questo riguardo, comparando le cinetiche di inibizione virale predette da questo modello in pazienti trattati con duplice terapia con quelle osservate in pazienti trattati anche con un antivirale diretto, come un inibitore della proteasi, è interessante notare come la più rapida e profonda inibizione della replicazione virale indotta, ad esempio, da *Telaprevir* (Levin et al. EASL Conference, Vienna, 2006) porti il coefficiente di produzione virale al suo valore asintotico già dopo pochi giorni, facendo in modo che la seconda fase di declino del carico virale rifletta realmente il lento tasso di clearance delle cellule che sostengono la residua produzione virale [16]

Applicando il modello alla casistica sopra descritta, Colombatto et al. sono riusciti a dimostrare l'esistenza di due parametri, ovvero il numero di cellule infette e la carica virale stimati a fine terapia (rispettivamente  $I_{eot}$  e  $V_{eot}$ ), che correlano in modo significativo con l'esito finale del trattamento; infatti il numero di  $I_{eot}$  risulta significativamente più basso nei pazienti SVR rispetto ai Relapser (Rel) e ai Non Responder (NR).

Tale modello si è quindi dimostrato in grado di individuare precocemente quei pazienti in cui, realizzandosi una insufficiente riduzione del numero delle cellule infette e della carica virale, risulteranno poi non responsivi o recidivanti alla terapia

## ***2.5. Equazioni del modello multifasico***

**Punto 1:** l'equazione che descrive la *dinamica delle cellule Target* è la seguente:

$$dT(t)/dt = \xi(T,I) - \Theta \cdot T(t) - (1 - \eta) \cdot \beta \cdot T(t) \cdot V(t) \quad \#1$$

dove indichiamo con:

t il tempo, T le cellule non infette (target),  $dT(t)/dt$  la variazione del numero delle cellule target nell'intervallo di tempo dt,  $\xi(T,I)$  il numero di cellule target prodotte giornalmente dal fegato,  $\Theta \cdot T(t)$  le cellule target che muoiono giornalmente a causa del turnover epatico,  $(1-\eta) \cdot \beta \cdot T(t) \cdot V(t)$  la quantità di cellule target infettate giornalmente dai virioni circolanti  $V(t)$ ; il parametro  $\beta$  rappresenta la suscettibilità delle cellule target ad infettarsi,  $(1-\eta)$  indica invece la riduzione di questa suscettibilità per effetto dell'INF; il numero delle cellule target che muoiono giornalmente a causa di processi non indotti da HCV è posto uguale a zero e quindi in condizioni stazionarie  $dT(t)/dt$  vale zero.

Data l'elevata capacità rigenerativa del fegato in grado di compensare la ridotta vita media degli epatociti infetti, la somma  $T(t)+I(t)$  è costante ed uguale al numero di epatociti presenti nel fegato di un soggetto sano ( $H_0=2.5 \cdot 10^{11}$ ); se esprimiamo i parametri  $T(t)$  e  $I(t)$  in funzione del volume di distribuzione extracellulare stimato in 13.500 ml, allora  $T(t)+I(t)= H_0/13.500$  e l'equazione finale che descrive la dinamica delle cellule target diviene:

$$T(t)=:18.5 \cdot 10^6 \text{ cell.} - I(t) \quad \#2$$

**Punto 2** : per studiare la *dinamica delle cellule infette* sono state introdotte le seguenti ipotesi:

- l'azione del sistema immunitario  $\delta$  è variabile durante la terapia in funzione del numero delle cellule infette presenti e risente di tale variazione con un ritardo temporale  $\sigma$  pari a 28 giorni; il parametro  $\kappa$  esprime la correlazione fra l'azione di clearance del sistema immune e la riduzione delle cellule infette è assunto uguale a 0.2
- l'azione del sistema immunitario persiste anche dopo l'infezione da HCV e dopo la terapia con IFN; il parametro  $\alpha$  rappresenta l'azione antivirale residua del sistema immune quando il numero delle cellule infette tende a zero.

Con queste premesse la variazione del numero delle cellule infette  $dI(t)/dt$  è espressa da:

$$dI(t)/d(t) = (1 - \eta) \cdot \beta \cdot T(t) \cdot V(t) - [\delta_0 \cdot (I(t-\sigma) / I_0)^k + \Theta + \alpha] \cdot I(t)$$

#3

dove  $(1 - \eta) \cdot \beta \cdot T(t) \cdot V(t)$  rappresenta il numero di epatociti infettati al giorno e  $[\delta_0 \cdot (I(t-\sigma) / I_0)^k + \Theta + \alpha] \cdot I(t)$  il numero di epatociti infetti rimossi quotidianamente dal sistema immune;  $I \cdot (t-\sigma)$  esprime il numero di cellule infette al tempo  $t-\sigma$ ,  $\delta_0$  descrive l'azione del sistema immunitario al tempo zero e durante i primi  $\sigma$  giorni di terapia,  $\theta$  rappresenta la percentuale di epatociti che muoiono ogni giorno per il naturale turnover epatico ( $\tau$ ) che nel soggetto sano è stimato essere completo in 300 giorni; il valore di  $\theta$  in assenza di malattie epatiche riferito ad 1 ml di fluido extracellulare è  $18.5 \cdot 10^6 \text{ cell}/\tau$ .

Le ALT sono l'unico parametro indipendente misurabile che correla con la morte degli epatociti secondo un coefficiente di proporzionalità  $\phi$  e, considerando il valore medio delle ALT nel soggetto sano uguale a 20 U/L, risulta:

$$20 \text{ U/L} = \phi \cdot 18.5 \cdot 10^6 \text{ cell}/\tau \quad \#4$$

$$\text{Dunque } \phi = 20 / (18.5 \cdot 10^6 \text{ cell}/300) = 3.24 \cdot 10^{-4} \quad \#5$$

In presenza di epatite da HCV la morte degli epatociti infetti è imputabile sia al turnover epatico che all'azione del sistema immunitario, quindi le cellule infette e le ALT misurate sono legate dalla seguente equazione:

$$ALT(t) = \phi \cdot [\delta_0 \cdot [I(t-\sigma)/I_0]^k + \theta + \alpha] \cdot I(t) + 20 \text{ U/L} \quad \#6a$$

e dato che  $\theta + \alpha$  è trascurabile,  $I(t-\sigma)/I_0$  nei primi 28 giorni di terapia è uguale a 1, l'equazione si semplifica in:

$$ALT(t) = \phi \cdot \delta_0 \cdot I(t) + 20 \text{ U/L} \quad \#6b$$

Considerando poi che IFN nelle prime 48 ore determina un drastico abbattimento della carica virale,  $(1-\eta) \cdot \beta \cdot T(t) \cdot V(t)$  può essere ignorata e l'equazione #3 può essere semplificata in:

$$dI(t)/dt = - \delta_0 \cdot I(t) \quad \#7$$

L'unica variabile incognita nelle equazioni (6b) e (7) è  $\delta_0$  e possiamo calcolarla utilizzando i valori delle ALT misurati basalmente,  $ALT_0$ , e nei primi 28 giorni di terapia,  $ALT(t)$ , attraverso la seguente equazione:

$$\ln[(ALT(t)-20)/(ALT_0-20)] = - \delta_0 \quad \#8$$

Ottenuto il valore di  $\delta_0$  possiamo calcolare anche il numero di cellule infette presenti in condizioni basali ( $I_0$ ):

$$I_0 = (ALT_0 - 20) / \delta_0 \cdot \phi \quad \#9$$

e la percentuale di epatociti infetti rispetto al numero totale di epatociti  $H_0$  che è data da  $I_0 / H_0$ .

**Punto 3:** la *dinamica dei virioni circolanti* è rappresentabile dalla seguente equazione:

$$dV(t)/d(t) = (1 - \varepsilon) \cdot \gamma \cdot \Psi(t) \cdot I(t) - \lambda \cdot V(t) \quad \#10$$

dove  $\Psi$  rappresenta il numero di virioni prodotti e rilasciati giornalmente da ciascun epatocita infetto; con l' inizio della terapia con IFN tale coefficiente subisce una riduzione divenendo  $(1 - \varepsilon) \cdot \Psi$ , dove  $(1 - \varepsilon)$  indica l'efficacia dell'IFN nell' abbattere la viremia nelle prime 48 ore di trattamento ed è uguale a  $V(t48)/V_0$ ; il coefficiente  $\lambda$  descrive la velocità di decadimento dei virioni liberi ed ha un valore pari a 6 giorni<sup>-1</sup> già calcolato da Neumann et al.

Per giustificare la più rapida riduzione di  $V(t)$  rispetto a  $I(t)$ , poniamo che il coefficiente di produzione virale  $\Psi_0$  dopo le prime 48 ore di terapia continui a diminuire in modo esponenziale secondo una costante  $1/\varphi$  fino a raggiungere un nuovo valore asintotico al tempo  $tf$  uguale a  $(1-\varepsilon)\cdot\gamma\cdot\Psi$  ; l'equazione che descrive l'andamento nel tempo del coefficiente di produzione virale diviene:

$$\Psi(t) = (1-\gamma)\cdot\Psi\cdot\exp(-\varphi t) + \gamma\cdot\Psi_0 \quad \#11$$

Il valore di  $\varphi$  viene calcolato utilizzando l'equazione:

$$\varphi = \pi - \delta_0 \quad \#12$$

dove  $\pi$  rappresenta la costante di caduta di  $V(t)$  e può essere calcolato utilizzando i valori della viremia tra il giorno 2 ed il giorno 28 di terapia

Il valore di  $\gamma$  invece si ottiene dall'equazione:

$$\gamma = \Psi(tf) / [(1-\varepsilon)\cdot\Psi_0] \quad \#13$$

## 2.6. Modelli e predizione SVR

Usando l'approccio con modello multifasico sviluppato a Pisa, la buona correlazione osservata tra i parametri del modello e la risposta virologica a lungo termine ha consentito l'applicazione di questo modello a livello di trattamento del singolo paziente nella pratica clinica; in particolare, la stima del numero di epatociti infetti a fine terapia (*Ieot*), calcolata dopo sole 4 settimane, rappresenta un parametro virtuale in grado di riassumere gli effetti antivirali complessivi (diretti ed immunomediati) dovuti alle interazioni farmaco-virus-ospite che avvengono durante la terapia; infatti, l'analisi di *regressione logistica*, ha evidenziato come il valore di *Ieot* avesse la miglior correlazione con l'esito della terapia nei 28 pazienti trattati con *Peg-IFN + RBV* dello studio originale (Colombatto et al., 2003).

In seguito, il valore di *Ieot* è stato calcolato in una più ampia coorte di 78 pazienti (16 Non Responder, 12 Relapser e 50 SVR) trattati con *Peg-IFN + RBV* seguendo il protocollo e la durata indicate dalle Linee Guida; questo studio ha confermato che il numero di *Ieot* era nettamente più basso nei pazienti SVR che nei Relapser e nei Non Risponder, con valore mediano, rispettivamente, di 31, 2190 e 1090000 (Colombatto et al., 2008). A livello predittivo, il raggiungimento di un livello di  $Ieot < 250$ , associava ad una probabilità di SVR molto elevata (93%).

Usando il tempo di raggiungimento di un livello inferiore a 250 *Ieot*, al fine di identificare quale sarebbe stata la durata

teorica di terapia sufficiente a produrre la SVR, si è visto come 60 dei 78 pazienti analizzati (3/16 NR, 8/12 Rel e 49/50 SVR) avrebbero raggiunto tale livello in un periodo compreso tra i 3 ed i 18 mesi; è interessante notare che, nei genotipi 1 e 4, il raggiungimento del livello soglia di Ieot < 250 mostrava un chiaro profilo *bimodale*: un primo picco di frequenza cadeva intorno ai 5-6 mesi, similmente a quello osservato per i genotipi 2 e 3; il secondo picco cadeva intorno ai 12 mesi; la spiegazione biologica dell'esistenza di due distinte popolazioni in termini di sensibilità all'IFN tra i pazienti genotipo 1 venne dalla scoperta del polimorfismo dell' IL28B (Ge et al., 2009); degno di nota, un'ampia maggioranza (76%) dei pazienti per i quali il modello multifasico aveva indicato come sufficiente una terapia di durata ridotta (3-9 mesi) si sono rivelati portatori del favorevole allele CC dell'IL28B [17][18]

Nello stesso periodo, diversi Autori (Dahari et al., 2007 / Snoeck et al., 2010) hanno tentato di ottenere una precoce predizione dell'esito del trattamento estendendo l'originario modello di Neumann per includere la proliferazione degli epatociti infetti e di quelli non infetti, e tenendo anche conto delle già citate nuove acquisizioni circa gli effetti di RBV; questo modello non lineare è stato usato per descrivere simultaneamente le cinetiche virali di 2100 pazienti trattati con Peg-IFN da solo o in combinazione con RBV; a differenza che nel modello multifasico, principio basilare era per loro la completa eliminazione, su base stocastica, del virus dall'organismo una volta raggiunta una viremia < 1; tramite questo approccio sono stati in grado di simulare con successo

le dinamiche virali nei pazienti poi dimostratisi Relapser (ripresa di produzione virale dopo la fine della terapia) o Breakthrough (ripresa di produzione virale, dopo il raggiungimento di una viremia negativa, ancora durante la terapia): le loro simulazioni hanno mostrato che i trattamenti individuali possono essere ottimizzati, aumentando le dosi di IFN o, meglio, aggiungendo un antivirale diretto come TVR o BOC, nei pazienti predetti come Relapser o Breakthrough dal modello; comunque le interrelazioni tra durata di terapia, dosi e protocolli differenti non sono state chiarite in questo modello, e soprattutto esso non è mai stato testato in uno studio clinico [19][20][21][22]

### **3. Modelli di studio farmacoeconomico**

Fino a qualche decina di anni fa, molte persone, in primis la maggioranza dei medici, pensavano che il concetto di scarsità delle risorse non dovesse avere cittadinanza nel mondo sanitario; oggi, invece, esso è ampiamente accettato, visto che i fondi destinati alla sanità non sono illimitati ed è irrealistico pensare ad una dilatazione incontrollata della spesa.

Per questo motivo, insieme all'efficacia di un intervento sanitario ed ai rischi che esso può comportare, viene data sempre più rilevanza ad una terza variabile, cioè al suo costo: in altri termini, oltre all'utilità di un intervento, ne viene anche valutata la convenienza economica

Da queste considerazioni si è dunque via via sviluppato un nuovo campo di ricerca, al confine tra farmacia, medicina ed economia, detto appunto farmacoeconomia; come tutte le

discipline, essa ha metodiche peculiari descritte in un suo proprio linguaggio tecnico, che cerchiamo qui di descrivere a fini applicativi nel contesto del trattamento dell'epatite C [23]

### **3.1. Tipologie di analisi**

Negli anni settanta gli economisti iniziarono ad applicare le tecniche della valutazione economica classica, come *l'analisi costo-beneficio (CBA)* e *l'analisi costo-efficacia (CEA)* al sistema sanitario; alla fine degli anni settanta fu creata una unità di misura sintetica capace di combinare la quantità e la qualità della vita denominata *QALY* [Quality Adjusted Life Year] che ha portato alla nascita dell'*analisi costo-utilità (CUA)*

#### ***3.1.1. Analisi di sensibilità***

Tutti i calcoli degli input e delle conseguenze usati nelle analisi economiche sono dominati dall'incertezza dei risultati, in quanto le nostre conoscenze sulla storia naturale delle malattie e sull'efficacia degli interventi sanitari sono solitamente imperfette; inoltre molti limiti derivano proprio dalla scarsa trasferibilità dei risultati da un contesto economico ad un altro; spesso le variabili economiche non possono essere misurate con certezza, pertanto si formulano ipotesi o si stimano cifre.

L'*analisi di sensibilità* è il metodo per rimediare all'incertezza e verificare la robustezza dei risultati di un'analisi variando

quei valori dei parametri stimati in modo incerto; questi parametri vengono di solito fatti variare uno alla volta tra due livelli estremi di valori possibili: se le conclusioni fondamentali dello studio non vengono modificate, i risultati aumenteranno la propria attendibilità.

Fondamentale in queste analisi è il concetto di *ICER* (rapporto incrementale costo efficacia): esso è appunto il rapporto tra la differenza di costo di un dato programma rispetto ad un altro e la differenza di efficacia degli stessi

$$ICER = (\text{costo A} - \text{costo B}) / (\text{efficacia A} - \text{efficacia B})$$

L'*analisi di sensibilità* può essere:

- *ad una via*, se la si esegue modificando il valore di una sola variabile
- *a due vie*, se la si esegue modificando il valore di due variabili

Può inoltre essere eseguita:

- con *metodo statistico*, variando l'efficacia del denominatore di un *ICER* (all'interno di un intervallo di confidenza del 95%), tenendo fissi i costi del numeratore
- con *metodo deterministico*, ricalcolando l'*ICER* dopo aver variato uno alla volta (one way) o più di uno contemporaneamente (multi-way) i parametri in gioco.

L'*analisi di sensibilità* è indispensabile per tutte le variabili che non sono note con certezza

### ***3.1.2. Analisi costo-efficacia***

Terapie farmacologiche diverse tra di loro possono essere rivolte allo stesso problema e tendenti al medesimo obiettivo anche se possono produrre effetti differenziati sia qualitativamente che quantitativamente; se l'effetto principale sulla salute può però essere definito e misurato in modo univoco, ad esempio in termini di mortalità, i vari interventi alternativi possono essere confrontati tra loro utilizzando l'*analisi costo-efficacia (CEA)*.

La decisione di intervenire su di un determinato problema è già stata presa e lo studio valutativo viene realizzato solo allo scopo di identificare il modo più efficiente di raggiungere l'obiettivo X (*analisi di efficienza X*).

Nell'*analisi costo-efficacia* i costi (inputs) di una terapia sono espressi in termini monetari mentre le conseguenze (outcomes) in unità naturali.

Permette di individuare quale trattamento farmacologico raggiunge uno specifico risultato terapeutico al costo più basso ed altresì di conoscere quale sarà l'aumento dei costi per unità di effetto guadagnato.

Perciò gli obiettivi delle *CEA* sono: (1) raggiungere uno specifico risultato terapeutico nel modo più conveniente possibile; e (2) conoscere quale aumento di costi comporta l'aumento di efficacia che si sta misurando

Spesso l'analisi, anziché valutare il rapporto tra i costi e l'efficacia complessivi di due o più trattamenti che raggiungono il medesimo obiettivo terapeutico, valuta soltanto

il rapporto tra l'incremento dei costi e l'incremento di efficacia; tale analisi si chiama allora *CEA incrementale*, ed il rapporto tra incremento dei costi ed incremento di efficacia prende, come abbiamo già visto, il nome di *ICER* (Incremental Cost Effectiveness Ratio).

A causa della natura delle domande a cui tipicamente risponde, la *CEA* rappresenta il tipo di studio che più frequentemente viene realizzato contemporaneamente alle, o che viene addirittura incorporato nelle, sperimentazioni cliniche controllate (RCT: Randomized Clinical Trial), con benefici per entrambi i tipi di studi; un modo frequentemente utilizzato per rappresentare le alternative considerate in un'analisi *CEA* è quello di tracciare un *albero decisionale* che illustra le varie scelte ed i vari possibili risultati ad esse conseguenti.

### ***3.1.3. Analisi costo-utilità***

Quando gli interventi modificano sia la quantità che la qualità della sopravvivenza si ricorre ad una analisi che utilizza delle misure di utilità; può essere considerata un particolare tipo di analisi costo-efficacia dove gli effetti rivestono particolari valori per la società o per i singoli pazienti; nelle *analisi costo-utilità (CUA)* i risultati, anziché essere espressi in unità di misura naturali, sono espressi, come già detto, in *utilità*, ossia il beneficio che una persona si aspetta di ottenere dal consumo di un bene o di un servizio.

Questo concetto, applicato in campo sanitario, identifica lo stato di benessere individuale derivante dall'uso di un

intervento sanitario o, nel campo specifico della farmacoeconomia, di una terapia farmacologica.

La *CUA* confronta quindi interventi che possono essere diversi in termini di tipologia di esito poiché ne misura l'utilità; per *utilità* si intende l'auspicabilità e/o preferenza per un determinato *stato di salute* e corrisponde al valore che il soggetto attribuisce al proprio stato di salute; l'utilità viene valutata interrogando direttamente il paziente con diverse tipologie di interviste e scale di misurazione delle risposte, e viene espressa con valori che variano da 0 a 1.

Frequentemente l'utilità si esprime in *QALY*, che rappresenta la *quantità di vita* (cioè i dati di mortalità) prevista per una certa categoria di pazienti, *aggiustata* per la *qualità della vita rilevata* (cioè la morbilità), ed il suo valore si ottiene dal prodotto della durata di vita, espressa in numero di anni, per il valore numerico attribuito all'utilità tra 0 e 1.

Pertanto nell'*analisi costo-utilità*, l'unità di misura degli outcome è il *QALY* e si dovrà individuare il costo specifico per *QALY*, ovvero per *QALY* guadagnato; il *QALY* è l'espressione di una duplice valutazione degli esiti, sia sotto l'aspetto quantitativo (sopravvivenza), che sotto l'aspetto qualitativo [24]

## **2.2 Sconto di costi e benefici futuri**

Una considerazione rilevante per tutti i metodi di valutazione economica brevemente esposti sopra è il *problema dello sconto*, basato sul *principio della preferenza temporale*, derivato direttamente dai fondamenti dell'economia. Tale

principio, posto in termini semplici, stabilisce che, anche se non ci fossero costi bancari o dovuti all'inflazione, la gente preferirebbe comunque ricevere quanto gli è dovuto il più presto possibile.

Il processo di sconto implica di determinare il valore attuale dei costi e degli esiti di metodi alternativi di intervento, scegliendo un appropriato *tasso di sconto*; anche se non c'è un accordo generale su cosa costituisca un *tasso di sconto appropriato*, esiste in linea di principio un accordo sul fatto che i costi devono essere ridotti; tuttavia c'è stata molta discussione sul fatto che debbano o meno essere scontati anche i benefici sanitari.

Negli ultimi anni, come testimoniano alcune Linee Guida nazionali, è abbastanza concorde che la soluzione migliore sia, almeno negli *studi di sensibilità*, applicare un *tasso di sconto* sia ai costi sia agli esiti, anche se bisogna osservare come l'applicazione dello sconto agli esiti futuri riduca il *valore apparente* di qualsiasi programma sanitario che abbia una forte componente di prevenzione [25]

## Studio Sperimentale

L'analisi delle cinetiche dell'HCV-RNA e delle transaminasi (ALT) con il modello biomatematico sviluppato presso l'UO Epatologia di Pisa permette di simulare la risposta al trattamento antivirale in soggetti con epatite cronica C sottoposti a duplice terapia (DT: *PEG-IFN* + *Ribavirina*) e di predire la risposta virologica sostenuta (SVR: negativizzazione dell'HCV-RNA mantenuta a 6 mesi dal termine della terapia) con elevata accuratezza al primo mese di trattamento. Il modello richiede tuttavia la misurazione dei due parametri bioumorali in 7 punti (giorni 0, 2, 4, 7, 14, 21, 28) nell'arco del primo mese di trattamento: tale frequenza di monitoraggio ne limita l'applicazione nella pratica clinica.

Nei pazienti con infezione sostenuta da genotipo 1, l'associazione al Peg-IFN e RBV di un terzo farmaco ad azione antivirale diretta (*Boceprevir* o *Telaprevir*) permette di incrementare l'efficacia del trattamento, che tuttavia presenta effetti collaterali significativamente maggiori e un costo più elevato. La capacità di identificare i pazienti che possono raggiungere la SVR con DT, permetterebbe un'ottimizzazione terapeutica limitando la triplice terapia (TT) ai pazienti che realmente necessitano di una schedula più aggressiva.

I pazienti trattati con DT che presentano la negativizzazione della viremia (HCV-RNA non rilevabile) dopo 4 settimane (risposta virologica rapida, RVR) hanno una elevata probabilità di ottenere la SVR completando il ciclo terapeutico; per tale motivo le Linee Guida hanno adottato la valutazione della RVR per identificare quali pazienti dopo il

primo mese possano continuare la DT o debbano associare il terzo farmaco. Tuttavia solo un terzo circa dei pazienti che raggiungono la SVR con DT presenta una RVR; i rimanenti 2/3 secondo le Linee Guida andrebbero quindi incontro ad un trattamento con TT.

Una più accurata previsione dell'esito finale di un trattamento con Peg-IFN e RBV può esser ottenuta utilizzando il modello bio-matematico sviluppato presso l'UO Epatologia di Pisa che analizza sia la cinetica dell'HCV-RNA che delle transaminasi (ALT) nelle prime 4 settimane di DT. Tale modello, stimando i tempi di rimozione immunomediata degli epatociti infetti, ha dimostrato un'accuratezza diagnostica superiore a quella della RVR nell'identificare i pazienti SVR (90% vs 70%). Al fine di superare la necessità di effettuare misure ripetute (7 punti) di HCV-RNA e di ALT nelle prime 4 settimane di terapia è stata sviluppata una versione semplificata del modello originale che potrebbe permettere di ottimizzare il trattamento e ridurre i costi.

## 1. Obiettivi

- 1) Valutare, in pazienti con epatite cronica da HCV di genotipo 1 [CHC-G1] trattati con duplice terapia (DT: *Peg-IFN* + *RBV*) la capacità di predire la risposta antivirale con una versione modificata del *modello multifasico*, detta da qui in avanti *modello semplificato*, che utilizza un minor numero di valori di ALT e di HCV-RNA e risulta quindi di più facile applicazione nella routine clinica rispetto al modello originale.

2) Confrontare gli esiti e i costi della terapia antivirale con DT o triplice terapia (TT: DT + *Boceprevir* o *Telaprevir*) nei pazienti con epatite cronica C di genotipo 1, fibrosi in stadio iniziale (F0-F2), mai trattati in precedenza, con scheda definita applicando due algoritmi decisionali: il primo basato sulla RVR, come indicato dalle Linee Guida (guideline-guided, GG), il secondo basato sulla predizione di risposta fornita dal modello biomatematico (model-guided, MG).

## 2. Pazienti e Metodi

### 2.1. Pazienti

La valutazione delle performance predittive ottenute con *modello originale* e con *modello semplificato* è stata effettuata su una coorte di 150 pazienti G1-CHC arruolati negli studi di cinetica virale effettuati dal 2006 al 2011 nell'UO Epatologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Pisana. L'età media era di 49.9 anni; il 76% erano maschi; il 57% non aveva ricevuto precedenti trattamenti antivirali; il 47% aveva uno stadio di fibrosi iniziale (F0-F2 secondo METAVIR); il 17% era infettato con il sottotipo 1a. La durata del trattamento con *Peg-IFN + RBV* era stata definita secondo Linea Guida in 101 (67.3%) pazienti e sulla base delle previsioni del modello in 49 (32.7%) pazienti.

La sottocoorte composta dai 64 pazienti con fibrosi lieve-moderata (F0-F2) che non aveva mai effettuato trattamenti antivirali in precedenza è quella su cui è stato applicato il

modello analitico-decisionale per la valutazione dei costi della terapia. In questo sottogruppo l'età media era di 46.0 anni; il 54.7% erano maschi; il 18.8% era infettato con il sottotipo 1a. La distribuzione della fibrosi mostrava che il 10.9%, era nello stadio F0, il 18.8% nello stadio F1 e il 70.3% nello stadio F2.

## 2.2. Modello biomatematico semplificato

Come già precedentemente descritto nell'introduzione, la dinamica dell'infezione virale può essere descritta, attraverso lo studio della cinetica di decremento del virus nel sangue e nel fegato, a livello del singolo paziente tramite un modello biomatematico, usando misure ripetute dei livelli viremici e di ALT durante il primo mese di terapia. I meccanismi sottostanti l'infezione cronica da HCV e gli effetti antivirali che possono portare ad ottenere una SVR sono matematicamente espressi nelle equazioni che seguono:

Dinamica delle *cellule target*:

$$dT(t)/dt = \xi(T, I) - \Theta \cdot T(t) - (1 - \eta) \cdot \beta \cdot T(t) \cdot V(t)$$

Dinamica delle *cellule infette*:

$$dI(t)/dt = (1 - \eta) \cdot \beta \cdot T(t) \cdot V(t) - [\delta_0 \cdot (I(t-s)/I_0)^k + \Theta + a] \cdot I(t)$$

Dinamica dei *virioni circolanti*:

$$dV(t)/dt = (1 - \varepsilon) \cdot \gamma \cdot \Psi(t) \cdot I(t) - \lambda \cdot V(t)$$

A queste tre equazioni fondamentali del modello originale sono state apportate delle modifiche per permettere la semplificazione: il *valore di*  $\delta_0$  (coefficiente di eliminazione immunomediata degli epatociti infetti durante il primo mese di terapia) è stato ottenuto con lo stesso *metodo dei minimi quadrati* sui quattro soli valori di ALT considerati (giorni 0-7-14-28), usando l'equazione  $\ln[(ALT(t) - ALN)/(ALT_0 - ALN)]/t$ . Inoltre, non avendo a disposizione il valore di HCV-RNA del giorno 2, non è stato possibile calcolare *il valore di*  $\varepsilon$  (coefficiente di riduzione della produzione virale per cellula infetta) dovuto all'effetto antivirale diretto dell'IFN che si evidenzia nella rapida discesa della viremia della fase I (0-48 ore). Di conseguenza gli effetti antivirali diretti della terapia non sono più separati in due fasi come nel modello originale, ma valutati complessivamente con quelli della fase II nel calcolo del valore del coefficiente di produzione virale asintotico  $(1-\varepsilon)\cdot\gamma\cdot\Psi$  alla settimana 4, assumendo  $\varepsilon = 0$ .

### **2.3. Modello analitico-decisionale**

Per quanto concerne la parte di questo studio volta a dimostrare la riduzione dei costi a cui può portare l'applicazione del modello da noi descritto, è stato sviluppato un *modello economico analitico-decisionale* (in Microsoft Excel 2011 – Microsoft, Redmond, WA); l'analisi è stata effettuata dalla prospettiva del sistema sanitario nazionale italiano, e con orizzonte temporale fissato a tutta l'aspettativa di vita dei pazienti; un *tasso di sconto* del 3.5% è stato applicato sia agli outcomes che ai costi; gli outcomes stimati

sono gli anni di vita (*LYs*) e gli anni di vita pesati per la qualità (*QALYs*) guadagnati.

Sono state confrontate due strategie di approccio terapeutico: una basata sulle linee guida (guideline-guided, GG) e una basata sul modello (model-guided, MG); per entrambe le strategie sono state considerate due situazioni in base all'aggiunta o meno dell'antivirale diretto (TVR o BOC) dopo il primo mese di DT, delineando in tal modo un totale di quattro strategie tra loro comparate [GG-TVR, GG-BOC, GM-TVR, GM-BOC]. La differenza tra GG e MG risiede nel criterio utilizzato per decidere il passaggio a TT; rispettivamente, al mancato raggiungimento di una RVR o di un valore stimato di  $I_{eot} \cdot V_{eot} < 400$  entro 48 settimane di terapia [vedi *Tabella 1*]

	<b>Strategia GG</b>	<b>Strategia MG</b>
Dopo 4 settimane di DT	1. HCV-RNA non rilevabile nel siero (RVR) → <i>continuare DT</i> per altre 44 settimane	1. $I_{eot} \cdot V_{eot} < 400$ → <i>continuare DT</i> per altre 44 settimane
	tra questi coloro che non raggiungono una SVR: se F0-F1 → <i>non ritrattare</i> ; se F2 → <i>ritrattare</i> con specifici protocolli	tra questi coloro che non raggiungono una SVR: se F0-F1 → <i>non ritrattare</i> ; se F2 → <i>ritrattare</i> con specifici protocolli
Dopo 4 settimane di DT	2. HCV-RNA rilevabile, riduzione da giorno 0 > 1 log → <i>passare a TT</i>	2. $I_{eot} \cdot V_{eot} > 400$ → <i>passare a TT</i>
Dopo 4 settimane di DT	3. HCV-RNA rilevabile, riduzione da giorno 0 < 1 log (NR) → <i>interrompere terapia</i>	

*DT: duplice terapia Peg-IFN + Ribavirina; TT: triplice terapia DT + inibitore di proteasi (BOC o TVR); NR, no response; SVR, sustained virologic response; F0-F1-F2: stadi fibrosi epatica*

*Tabella 1: differenze tra strategia GG e strategia MG*

In accordo con le Linee Guida AISF, che suggerivano la prosecuzione della DT in presenza di RVR solo nei pazienti F0-F2 mai trattati, il modello di valutazione dei costi è stato applicato alla sottocoorte dei 64 pazienti che si trovavano in tale condizione. In questi pazienti, inoltre, il rischio di errore nella stima della loro aspettativa e qualità di vita è minore, trovandosi in una fase iniziale e stabile di malattia.

Il modello economico è stato pensato per incorporare due moduli, un *albero decisionale* per il primo periodo (minimo 28, massimo 96 settimane dall'inizio della terapia) ed un *modello di Markov* a lungo termine, per simulare gli anni di vita rimanenti dei pazienti; l'albero decisionale ha simulato l'adozione della strategia GG e MG per identificare la proporzione di pazienti adatti a continuare DT; le caratteristiche iniziali e la distribuzione degli stadi di fibrosi della popolazione simulata sono state dedotte dai dati osservati nella coorte dei pazienti trattati, ed, essendo breve il periodo di tempo considerato dall'albero decisionale, è stato assunto che il livello di fibrosi non cambi durante questa prima fase.

Tutti i dati utilizzati in questo modello economico sono riportati in *Appendice, Tabella Supplementare*

### ***2.3.1. Albero Decisionale***

Una descrizione ed una rappresentazione schematica dell'albero sono presentate in *Appendice, Figure Supplementari 1.1-1.4*; in particolare, dopo le prime quattro

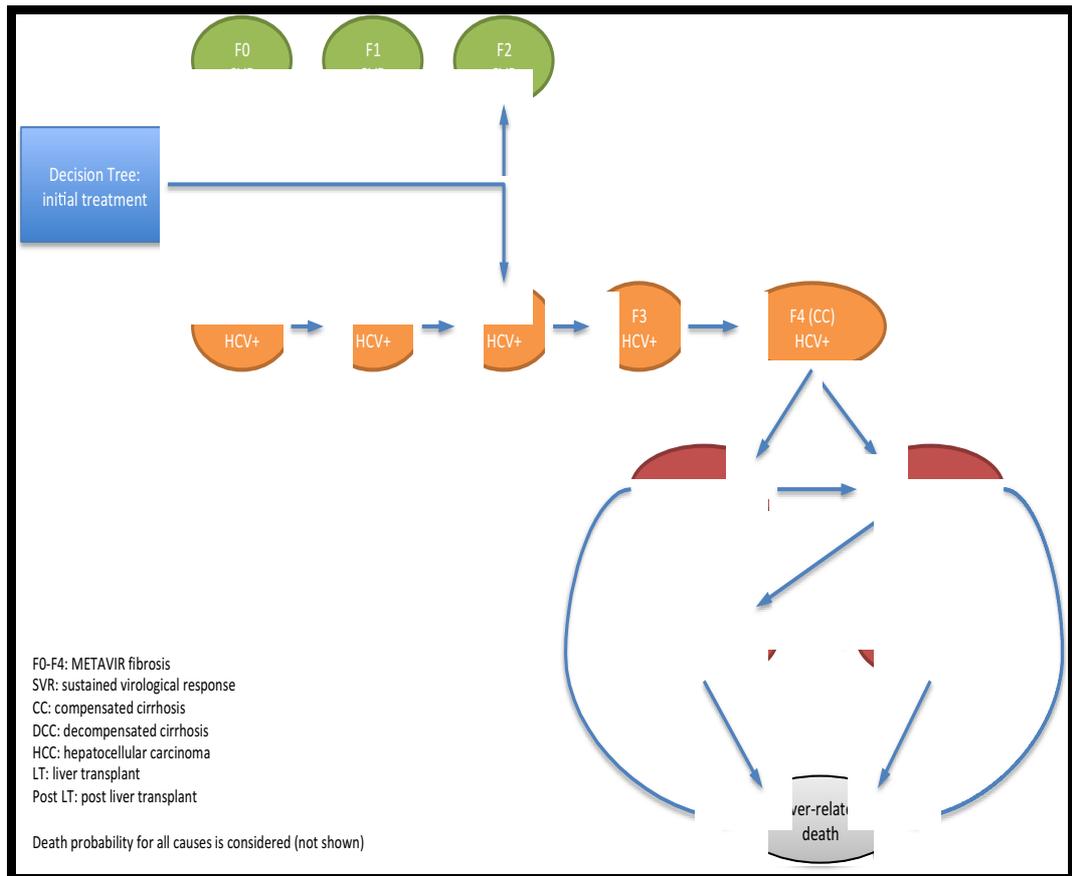
settimane di DT, i pazienti sono stati testati per la presenza di RVR [strategia GG] o per l'indice di SVR ( $I_{eot} \cdot V_{eot} < 400$ ) del modello bio-matematico [strategia MG]; i tassi di RVR e di risposte positive al test del modello sono stati ottenuti dall'osservazione della sottocoorte specifica dei 64 pazienti con Fibrosi F0-F2 mai trattati; per questi pazienti è stata simulata la prosecuzione della DT per altre 44 settimane, ed il tasso finale di SVR, anche in questo caso, è stato ottenuto dall'osservazione dei dati nella coorte validata. I pazienti che non hanno raggiunto una SVR sono stati virtualmente gestiti in base allo stadio della loro fibrosi: i pazienti F0-F1 non ritrattati, i pazienti F2, invece, risottoposti ad un trattamento TT con specifici protocolli derivati dagli studi RESPOND-2 e REALIZE, con BOC e TVR rispettivamente [26][27]

I pazienti che non hanno ottenuto una RVR o una positività al test del modello dopo le prime quattro settimane di DT sono passati a TT; i protocolli risposta-guidati seguiti fanno riferimento allo studio SPRINT-2 per BOC e allo studio ADVANCE per TVR; complessivamente, la durata della prima parte della simulazione definita dall'albero decisionale è stata di 24, 48, 52 o 96 settimane, a seconda dello specifico pattern di trattamento [28][29]

### **2.3.2. Modello di Markov**

Questo modello a lungo termine ha permesso la stima dei costi nel lungo periodo, della sopravvivenza e dei *QALYs* in funzione della proporzione di pazienti che hanno raggiunto

una SVR al termine del periodo iniziale di trattamento; gli *stati di salute* rappresentano la progressione della patologia epatica, dalla cirrosi compensata, alla cirrosi scompensata, al carcinoma epatocellulare, al trapianto di fegato, sino alla morte [vedi la sottostante *Fig. 1*]



*Fig. 1:* rappresentazione schematica del modello di Markov

Le probabilità di progressione attraverso questi stadi sono state derivate dalle pubblicazioni in letteratura descriventi la storia naturale dell'epatite cronica C, o da assunzioni validate in precedenti pubblicazioni di modelli economici; l'utilità dell'utilizzo di tali *stati di salute* è stata già dimostrata in una

precedente *analisi costo-efficacia* italiana in pazienti CHC [vedi in *Appendice, Tabella Supplementare* ]

In base all'adozione della prospettiva del Sistema Sanitario Nazionale italiano, sono stati considerati solo i *costi medici diretti*: questi consistono nel costo dei farmaci, nei costi per i test strategia-correlati (alla settimana 4) e nei costi di gestione a lungo termine della patologia e delle sue complicanze; il costo dei farmaci è stato calcolato sulla base delle dosi raccomandate e dei prezzi “*ex factory*”.

I costi della gestione della patologia associati con la progressione della CHC sono stati calcolati su un insieme di costi annuali (includenti ospedalizzazioni, visite specialistiche e indagini diagnostiche o di follow-up) correlati alla differente gravità dei diversi stadi dell'epatite cronica C, come riportato in una recente pubblicazione dell' AISF (Associazione Italiana per lo Studio del Fegato) [30]

### **3. Risultati**

#### ***3.1. Validazione del modello bio-matematico semplificato***

Un'accurata analisi della convergenza tra dati sperimentali e dati calcolati dal modello (*fitting*) del declino di ALT, necessario per la previsione di SVR, è stato ottenuto in 135 dei 150 pazienti analizzati (90%). Il fallimento del *fitting* negli altri 15 casi è dovuto ad un aumento di ALT ai giorni 7 e 14,

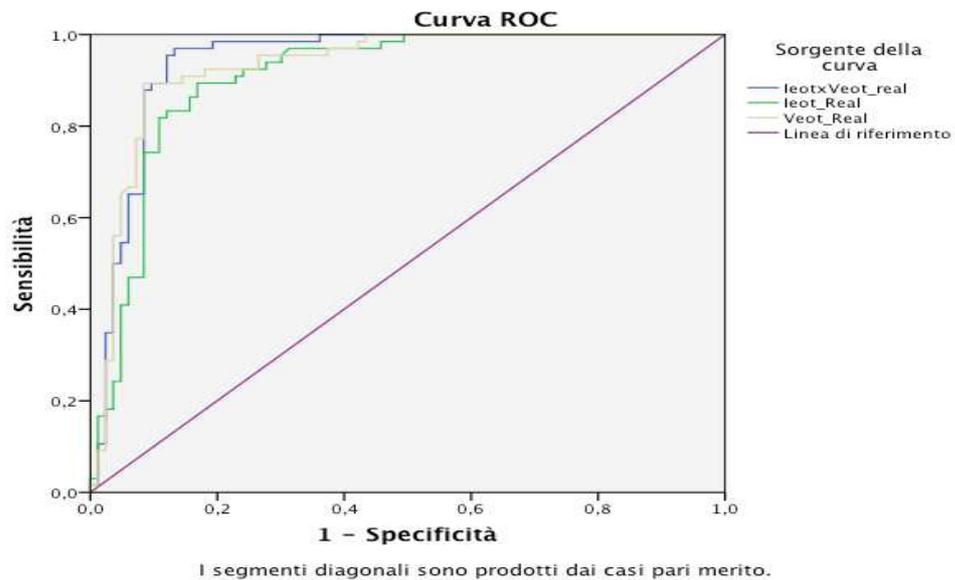
fatto osservatosi con più frequenza in pazienti con parziale o assente risposta al trattamento (10 pazienti), piuttosto che tra i Relapser (3) o gli SVR (2). La risposta virologica durante la terapia e gli esiti finali del trattamento, nell'intera coorte e nel sottogruppo di 64 pazienti con fibrosi lieve-moderata (stadio METAVIR F0-F2), sono riassunti in *Tabella 2*.

Parametri basali	Tutti i pazienti (135)		F0-F2 (64)	
	n	%	n	%
Età media ± DS	50 ± 11		46 ± 11	
Uomini	100	74.1%	35	54.7%
Naïve	77	57.0%	41	64.1%
IL28B CC	56	41.5%	28	43.8%
HCV 1a	22	16.3%	12	18.8%
HCV 1b	111	82.2%	52	81.3%
Log HCV-RNA media ± DS (IU/ml)	6.24 ± 0.62		6.11 ± 0.70	
ALT media ± DS (U/L)	126 ± 119		112 ± 112	
<b>Grado fibrosi (METAVIR)</b>				
F0	7	5.2%	7	10.9%
F1	12	8.9%	12	18.8%
F2	45	33.3%	45	70.3%
F3	24	17.8%		
F4	47	34.8%		
<b>Terapia</b>				
Peg-INF-2a	92	68.1%	43	67.2%
Peg-INF-2b	43	31.9%	21	32.8%
Dose mod >20%	18	13.3%	6	9.4%
RVR	28	20.7%	22	34.4%
cEVR	75	55.6%	41	64.1%
EVR	115	85.2%	56	87.5%
<b>Outcome</b>				
NR	19	14.1%	8	12.5%
PR	16	11.9%	6	9.4%
REL	35	25.9%	16	25.0%
SVR	65	48.1%	34	53.1%

*ALT, alanine aminotransferase; c EVR, complete early virologic response; HCV, hepatitis C virus; NR, no response; PR, partial response; REL, relapse; SD, standard deviation; SVR, sustained virologic response*

*Tabella 2 : caratteri generali della coorte osservata*

Nel *modello originale* i due parametri che mostravano una più alta capacità predittiva di SVR con DT erano la *stima del numero di cellule infette a fine terapia (Ieot)* e la *stima del valore della viremia a fine terapia (Veot)*, con un ulteriore aumento di capacità predittiva quando veniva valutato il loro prodotto ( $Ieot \cdot Veot$ ) (AUROC  $Ieot$  = 0.906; AUROC  $Veot$  = 0.93 e AUROC  $Ieot \cdot Veot$  = 0.941); le relative curve ROC sono mostrate nella sottostante *Fig. 2*



*Fig. 2: curve ROC, modello originale*

Nel confronto tra modello originale e modello semplificato il prodotto  $Ieot \cdot Veot$ , mostra una altissima correlazione tra le due modalità di calcolo ( $R = 0.94$ ) [vedi sottostante *Fig. 3*]

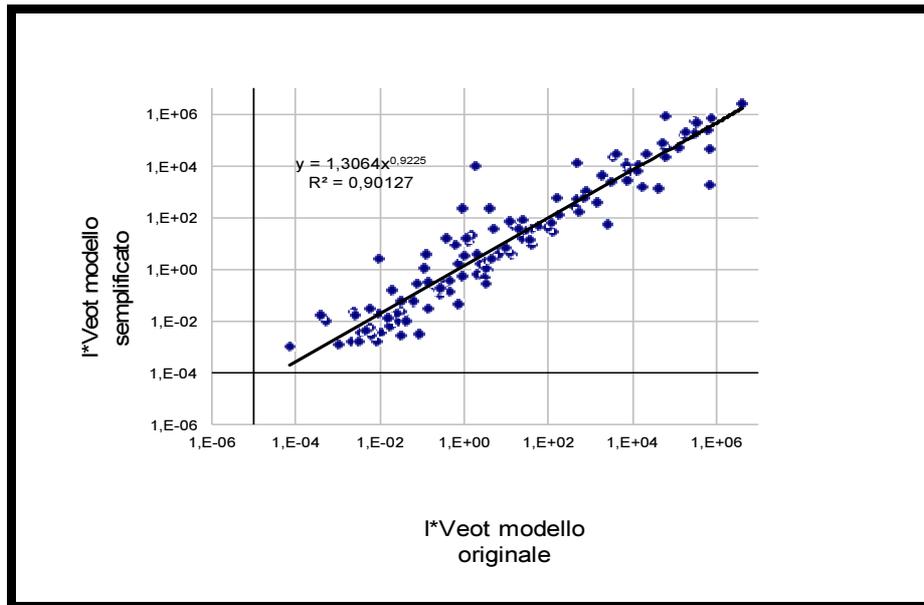
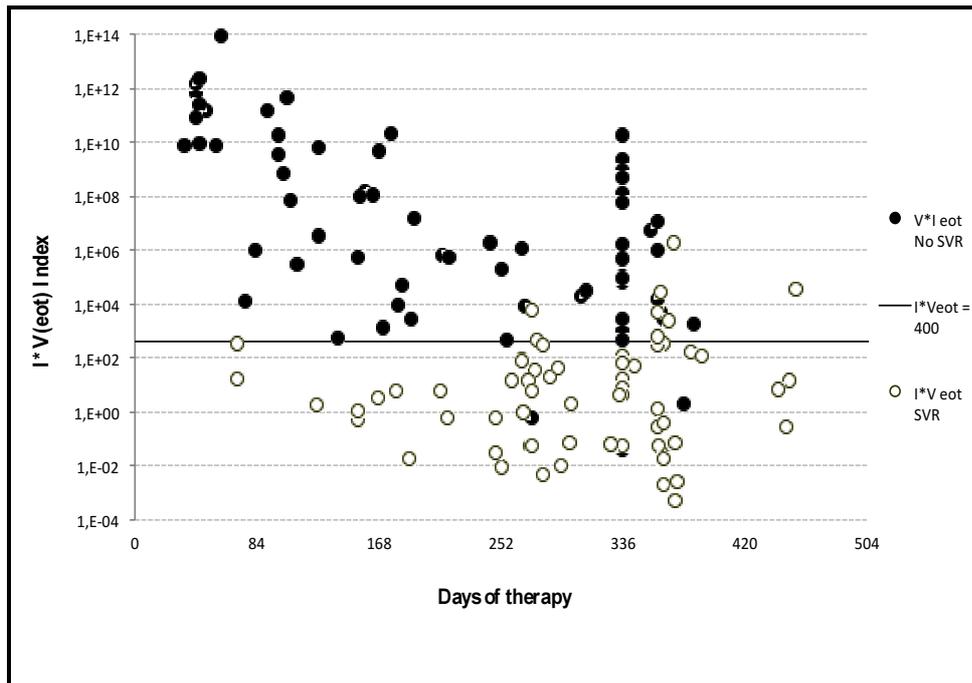


Fig. 3: correlazione del parametro  $Ieot \cdot Veot$  tra modello originale e modello semplificato

La miglior predizione di SVR è stata ottenuta usando un livello soglia di  $Ieot \cdot Veot = 400$ , che ha identificato gli SVR con 91.9% *PPV* e 87.7% di *sensibilità* nella coorte completa dei 135 pazienti analizzabili. Nella coorte dei 64 pazienti F0-F2 la stessa soglia di  $Ieot \cdot Veot = 400$  ha identificato gli SVR con 93.8% *PPV* e 88.2% di *sensibilità* [vedi Fig. 4]



*Figura 4:* la miglior predizione degli SVR nell'intera coorte è stata ottenuta usando il livello soglia  $I_{eot} \cdot V_{eot} = 400$

La capacità predittiva dell'indice  $I_{eot} \cdot V_{eot} = 400$ , comparata con quella della RVR, nell'intera coorte e nel sottogruppo F0-F2, è riportata nella sottostante *Tabella 3*

<b>Tutti i pazienti</b>	SVR	No SVR	Sensit	Spec	PPV	NPV	DA
<i>V*<i>Ieot</i> &lt; 400</i>	57	5	<b>87.7%</b>	92.9%	<b>91.9%</b>	89.0%	<b>90.4%</b>
<i>V*<i>Ieot</i> &gt; 400</i>	8	65					
RVR sì	26	2	<b>40.0%</b>	97.1%	<b>92.9%</b>	63.6%	<b>69.6%</b>
RVR no	39	68					
<b>Pazienti F0-F2</b>							
<i>V*<i>Ieot</i> &lt; 400</i>	30	2	<b>88.2%</b>	93.3%	<b>93.8%</b>	87.5%	<b>90.6%</b>
<i>V*<i>Ieot</i> &lt; 400</i>	4	28					
RVR sì	20	2	<b>58.8%</b>	93.3%	<b>90.9%</b>	66.7%	<b>75.0%</b>
RVR no	14	28					

*SVR: sustained virologic response; RVR: rapid virologic response; Sensit: sensitività; Spec: specificità; PPV: valore prognostico positivo; NPV: valore prognostico negativo; DA: accuratezza diagnostica; F0-F2: stadi fibrosi epatica; eot: end of therapy (Ieot, Veot, Iveot)*

*Tabella 3 : performance predittiva dell'indice  $Ieot \cdot Veot = 400$ , comparato con quella di RVR, nell'intera coorte e nel sottogruppo F0-F2*

### ***3.2. Analisi dei costi basata sul modello analitico-decisionale***

Nell'analisi dello scenario mediano (*base case analysis*), le quattro strategie hanno mostrato outcomes molto simili in termini di anni di vita (*LYs: Live Years*) [GG-BOC: 20.06; GG-TVR: 20.20; MG-BOC: 20.09; MG-TVR: 20.20] che di anni di vita pesati per la qualità (*QALYs: Quality Adjusted Live*

Years) [GG-BOC: 18.91; GG-TVR: 19.28; MG-BOC: 19.14; MG-TVR: 19.42].

La media calcolata dei costi complessivi (*per-patient lifetime*) è stata di € 28.800 e € 29.900 con le strategie GG-BOC e GG-TVR, rispettivamente, e di € 25.200 e € 26.000 con MG-BOC e MG-TVR [Tabella 4]

	<i>Lys</i>	<i>QALYs</i>	Costi (€)
GG-BOC	20.06	18.91	28,773
GG-TVR	20.20	19.28	29,861
MG-BOC	20.09	19.14	25,154
MG-TVR	20.20	19.42	26,021

*GG: guideline-guided strategy; MG: model-guided strategy; TVR: Telaprevir; BOC: Boceprevir; Lys: Life of years; QALY: Quality-adjusted life of years*

*Tabella 4 : outcomes mediani delle quattro strategie di analisi*

L'analisi costo-efficacia è stata inizialmente effettuata in termini di costi per *QALY* guadagnati, per confrontare le due strategie (mantenendo fisso l'inibitore delle proteasi, BOC o TVR): la strategia MG, sia con BOC che con TVR, si è dimostrata più efficace e meno costosa della GG, e pertanto risultata *dominante*, in accordo con la definizione farmaco-economica [Tabella 5]

Sono poi state eseguite sia *analisi di sensibilità deterministica ad una via (OWSA: One Way Sensitivity Analysis)*, che *analisi di sensibilità probabilistica (PSA: Probabilistic Sensitivity Analysis)*, entrambe condotte raffrontando MG-TVR con GG-

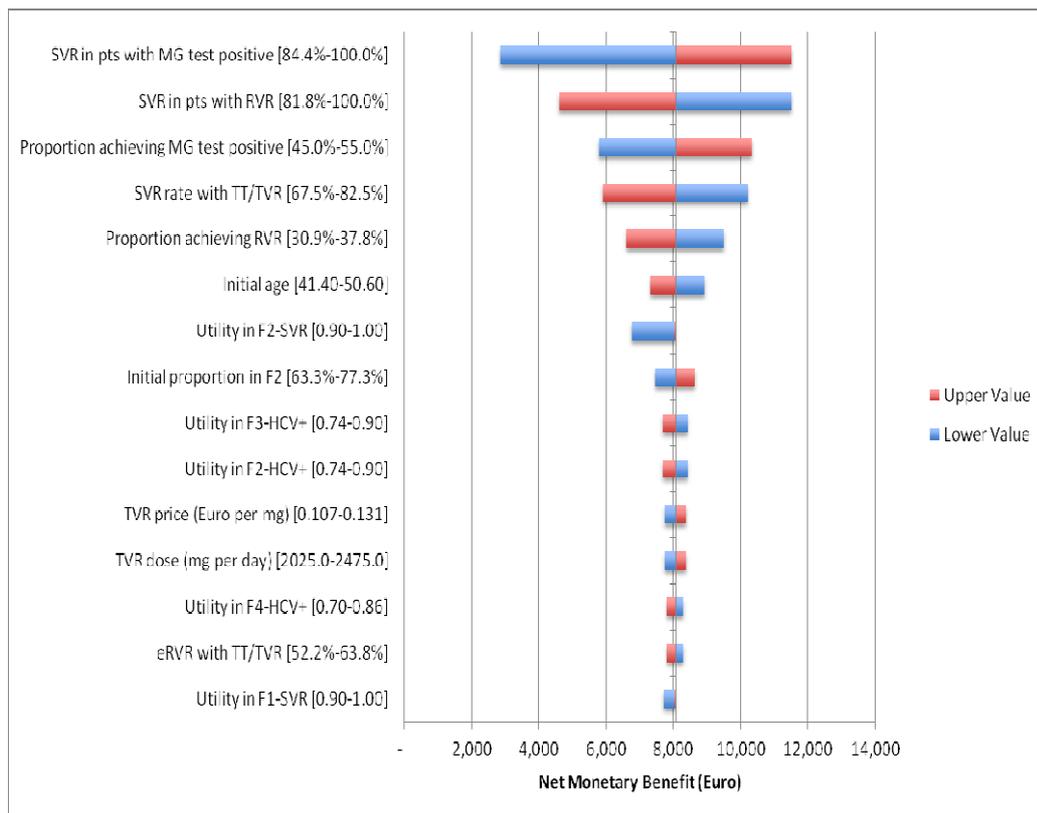
TVR, avendo TVR mostrato un maggior *rapporto incrementale costo-efficacia (ICER)* rispetto a BOC sia in MG che in GG [Tabella 5]

	$\Delta QALYs$	$\Delta costs (\text{€})$	$ICER (\text{€}/QALY)$
MG-TVR vs GG-TVR	0.14	-3,839	<i>Dominant</i>
MG-BOC vs GG-BOC	0.23	-3,618	<i>Dominant</i>
MG-TVR vs MG-BOC	0.29	867	3,035
GG-TVR vs GG-BOC	0.37	1,088	2,936

*GG: guideline-guided strategy; MG: model-guided strategy; TVR: Telaprevir; BOC: Boceprevir; QALY: Quality-adjusted life of years; ICER: rapporto incrementale costo efficacia*

*Tabella 5 : analisi incrementali e costo-efficacia per i risultati osservati*

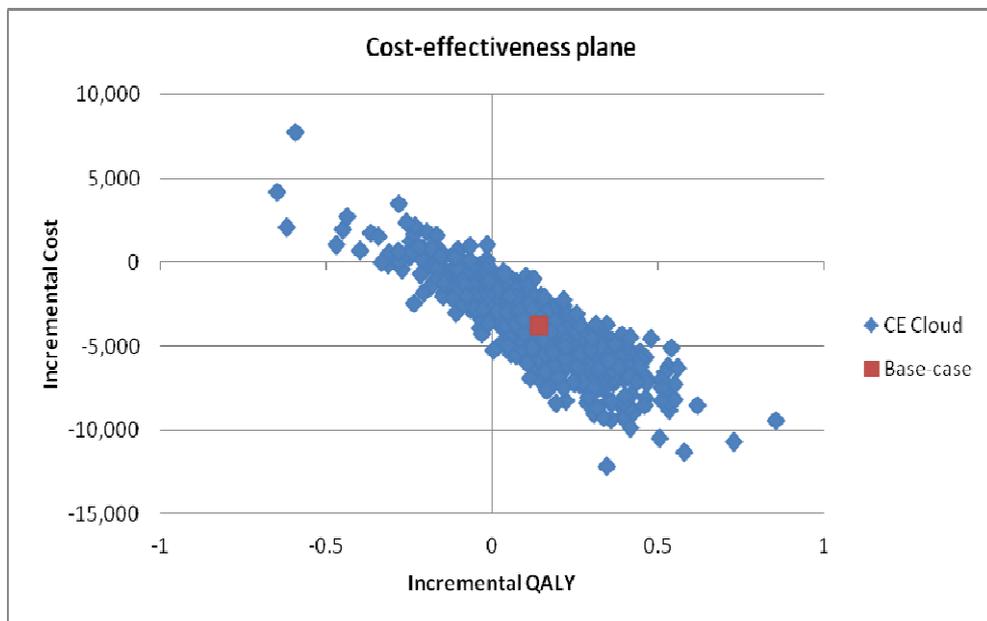
In particolare, l'*OWSA* è stata eseguita variando un parametro alla volta in un range di  $\pm 10\%$  del suo valore mediano e valutando il suo impatto sul *guadagno monetario netto (NMB)*, il quale, assumendo una soglia di spesa sostenibile di € 30.000 per *QALY guadagnato*, era in media di € 8.502; di seguito, in Fig. 5, i risultati dell'*OWSA* sono presentati con un *diagramma a tornado*, rappresentante i primi 15 parametri che causano le maggiori variazioni di *NMB*; il modello ha dimostrato di essere sensibile soprattutto a variazioni nelle proporzioni di SVR alla fine della terapia in entrambe le strategie.



*Figura 5: analisi di sensibilità ad una via, comparazione tra MG-TVR e GG-TVR; nell'analisi dello scenario mediano MG-TVR era dominante; l'NMB, calcolato assumendo una spesa massima tollerabile di € 30.000 per QALY, era di € 8.502*

La *PSA* è stata eseguita assegnando a ciascun parametro del modello una distribuzione probabilistica, calcolata assumendo deviazioni standard del 10% del valore medio; sotto, in *Fig. 6*, il risultato della *PSA*, calcolata con 1.000 ripetizioni, è presentato come un *diagramma sparso* sul piano costo-efficacia: nel 4.2% dei casi i punti cadevano nel quadrante di nord-ovest, a significare che in quei casi MG-TVR era meno efficace e più costoso che GG-TVR (cioè MG-TVR è dominato); in nessun caso i punti sono caduti nel quadrante di

nord-est (avrebbero indicato una maggior efficacia e un maggior costo di MG-TVR); in tutti i restanti casi veniva indicato MG-TVR come meno costoso di GG-TVR, in particolare: nell'85% dei casi i punti cadevano nel quadrante di sud-est, a significare una maggior efficacia e un minor costo (cioè MG-TVR è *dominante*), mentre nel rimanente 10.8% dei casi i punti cadevano nel quadrante di sud-ovest (minor costo e minor efficacia).



*Figura 6:* risultati del PSA, calcolato con 1.000 ripetizioni, riportati nel piano costo-efficacia; ciascun punto rappresenta una ripetizione; il punto rosso rappresenta il valore mediano del modello.

In conclusione, la *PSA* mostra che, quando si introducono variazioni in tutti i parametri del modello, il risultato in cui MG-TVR è *dominante* comparato a GG-TVR, è confermato con alta probabilità.

## 4. Conclusioni e Prospettive

In questo studio abbiamo valutato e confrontato il *rapporto costo-efficacia* di due differenti approcci alla terapia antivirale nei pazienti con epatite cronica C (CHC) con fibrosi assente o moderata (stadi F0-F2), mai trattati, nei quali la triplice terapia (TT) con *Boceprevir* (BOC) o *Telaprevir* (TVR) può essere impiegata in funzione della risposta alla duplice terapia (DT) con *Peg-IFN* + *RBV*. Per evitare l'aggravio di effetti collaterali e di costi legati all'aggiunta dell'inibitore delle proteasi, i pazienti che hanno elevate probabilità di risposta virologica sostenuta (SVR) con la DT hanno indicazione a proseguire tale trattamento. In questo studio il confronto ha riguardato due diverse modalità di identificazione dei pazienti con elevata probabilità di risposta alla DT: la risposta virologica rapida (RVR), valutata con una singola misura di HCV-RNA a 4 settimane di terapia, e il calcolo con modello biomatematico dell'indice  $I_{eot} \cdot V_{eot} < 400$ , effettuato misurando il decremento di HCV-RNA a 4 settimane e delle ALT a 1, 2 e 4 settimane.

Il vantaggio che deriva dall'uso predittivo del modello biomatematico rispetto alla RVR, è il consistente aumento di sensibilità nell'identificazione dei pazienti SVR alla DT (da 58.8% a 88.2%), essendo il modello in grado di identificare anche buona parte dei pazienti SVR che non hanno una RVR.

Un limite pratico nell'applicazione clinica del modello biomatematico era rappresentato dal maggior numero di esami richiesti nelle prime 4 settimane di DT per calcolare i parametri fondamentali alla simulazione della dinamica virale. In questo lavoro abbiamo verificato e validato l'uso di un

modello semplificato, in cui le misure delle variabili sperimentali necessarie all'analisi sono ridotte al minimo: rispetto alla pratica clinica standard, che prevede prelievi a 0, 2 e 4 settimane dall'inizio della terapia, si aggiunge solo un prelievo per la misura delle ALT a una settimana dall'inizio del trattamento.

Il parametro più accurato per la previsione della SVR mediante modello nei pazienti con CHC-G1 con fibrosi F0-F2 mai trattati è risultato esser l'indice ottenuto dalla moltiplicazione della viremia ( $V$ ) per le cellule infette ( $I$ ) che residuano alla fine del trattamento ( $I_{eot} \cdot V_{eot}$ ). Grazie alla capacità di simulazione della dinamica virale durante l'intero corso della terapia, tale indice è calcolabile già dopo 4 settimane dall'inizio, un tempo che coincide esattamente con quello richiesto per la valutazione della RVR. La correlazione tra il valore di  $I_{eot} \cdot V_{eot}$  ottenuto con il modello originale e quello semplificato è molto elevata ( $R = 0.94$ ). Utilizzando la soglia di  $I_{eot} \cdot V_{eot} < 400$ , si ottiene una sensibilità nell'identificare i pazienti SVR dell'88.2% con un valore predittivo positivo del 93.8%, ed un'accuratezza diagnostica del 90.6%.

Per valutare i potenziali vantaggi del trattamento basato sull'indice  $I_{eot} \cdot V_{eot}$  (model guided, MG) rispetto a quello basato sulla semplice valutazione della RVR secondo linea guida (guideline guided, GG), è stato implementato un *modello analitico-decisionale* (costituito da un *albero decisionale* a breve termine e da un *modello di Markov* a lungo termine) che ha permesso il confronto del *rapporto costo-efficacia* tra le due differenti strategie, sia in termini di esiti clinici (*QALYs*), che dei costi complessivi per paziente in tutti

gli anni di vita restanti. La media complessiva calcolata di tali costi *per-patient lifetime* è stata di € 25.200 e € 26.000 con le strategie MG-BOC e MG-TVR, mentre con GG-BOC e GG-TVR i costi aumentavano a € 28.800 e € 29.900, rispettivamente. Comparando la strategia MG e la GG, sia con BOC che TVR, la prima si è dimostrata più efficace e meno costosa, e pertanto definita *dominante* secondo la terminologia farmaco-economica.

Il risultato del nostro studio, dunque, dimostra che il nuovo algoritmo modello-guidato per la terapia antivirale personalizzata è *dominante*; in particolare, il suo miglior rapporto costo-efficacia si traduce in un risparmio netto di € 3.600 – 3.900 nei *costi complessivi lifetime per paziente*

Le *analisi di sensibilità* hanno mostrato la solidità della conclusione in un ampio intervallo di variazioni dei parametri considerati; complessivamente, risulta evidente che l'algoritmo proposto ha il potenziale di produrre un significativo risparmio per il Sistema Sanitario Nazionale, senza peggiorare in alcun modo la qualità degli esiti ottenuta con l'applicazione dell'approccio standard che valuta la RVR

In conclusione, nella personalizzazione della terapia antivirale dei pazienti con epatite cronica da HCV di genotipo 1, con fibrosi iniziale (F0-F2), non precedentemente trattati, la sostituzione del criterio standard (di tipo *probabilistico*) basato su una singola misura di efficacia a 4 settimane (RVR), con una analisi bio-matematica delle dinamiche del virus e delle cellule infette (di tipo *deterministico*), permette una più accurata identificazione dei pazienti che possono effettivamente essere guariti con DT, riducendo l'uso

improprio dei farmaci antivirali inibitori di proteasi. L'*analisi costo-efficacia* di questa strategia MG, comparata con quella della strategia GG, dimostra che la sua adozione risulterebbe positiva, sia sotto il profilo degli esiti clinici che sotto quello del contenimento dei costi.

Il trattamento dell'epatite cronica C è in rapida evoluzione, grazie alla disponibilità sempre crescente di nuovi farmaci antivirali ad azione diretta (DAAs) sempre più efficaci. Tali farmaci, tuttavia, hanno costi molto elevati e, quantomeno nello scenario italiano, una platea di potenziali candidati al trattamento (si stima una prevalenza dell'epatite C in Italia vicina al 2%) tale da mettere in crisi la sostenibilità economica del sistema sanitario pubblico. Nell'attesa di trovare nuovi paradigmi di gestione economica sanitaria dei trattamenti con finalità preventiva, la possibilità di modulare l'intensità delle terapie in funzione della risposta potrebbe rappresentare una valida opzione per dare soddisfazione ai bisogni di trattamento del singolo paziente ottimizzando le risorse disponibili. La predizione dell'SVR mediante modello bio-matematico semplificato, che si è dimostrata in grado di migliorare il rapporto costo-efficacia della cura con gli inibitori di proteasi di I generazione, potrebbe quindi trovare applicazione anche con i farmaci antivirali di nuova introduzione.

## Bibliografia

[1]Documento intersocietario SIMG-AISF-SIMIT sul virus dell'epatite C. *Rivista della Società Italiana di Medicina Generale*, Agosto 2009; 16-27

[2]Documento di indirizzo dell'Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF) per l'uso razionale di antivirali diretti di seconda generazione nelle categorie di pazienti affetti da epatite C cronica ammesse alla rimborsabilità in Italia; pubblicato online in data 17 dicembre 2014

[3]Indicazioni e gestione dei trattamenti anti-HCV nei pazienti con epatite cronica: linee di indirizzo dell'Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF); pubblicato online in data 31 marzo 2014, aggiornato il 20 giugno 2014

[4]Ishizaka N, Ishizaka Y, Yamkado M. Atherosclerosis as a possible extrahepatic manifestation of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Med Insights Cardiol*, 2014;8(3):1-5

[5]Perticone M, Maio R, Tassone EJ, Tripepi G, Di Cello S, Miceli S, Caroleo B, Sciacqua A, Licata A, Sesti G, Perticone F. Insulin-resistance HCV infection-related affects vascular stiffness in normotensives. *Atherosclerosis*,2015;238(1):108-112

[6]Pothineni NV, Delongchamp R, Vallurupalli S, Ding Z, Dai Y, Hagedorn CH, Mehta JL. Impact of hepatitis C seropositivity on the risk of coronary heart disease events. *Am J Cardiol*, 2014;114(12):1841-1845

[7]Zeuzem S, Schmidt JM, Lee JH, Ruster B, Roth WK et al.: *Effect of interferon alfa on the dynamics of hepatitis C virus turnover in vivo. Hepatology, 1996; 2: 366-371*

[8]Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ, Perelson AS: *Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. Science, 1998; 282(5386):103-107*

[9]Ribeiro RM, Layden-Almer J, Powers KA, Layden TJ, Perelson AS. *Dynamics of alanin –aminotransferasi during hepatitis C virus treatment. Hepatology, 2003; 38(2):509-517*

[10]Hermann E, Lee JH, Marinos G, Modi M, zeuzem S. *Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. Hepatology, 2003; 37(6):1351-1358*

[11]Pawlotsky JM, Dahari H, Neumann AU, Hezode C, Germanidis G, Lonjon I, Castera L, Dhumeaux D. *Antiviral action of ribavirin in chronic hepatitis C. Gastroenterology, 2004; 126(3):703-714*

[12]Crotty S, Cameron CE, Andino R. *RNA virus error catastrophe: direct molecular test by using ribavirin. Proc Natl Acad Sci USA, 2001; 98(12):6895-6900. Epub 2001 May 22*

[13]Dixit NM, Layden-Almer JE, Layden TJ, Perelson AS. *Modelling how ribavirin improves interferon response rate in hepatitis C virus infection. Nature, 2004;432(7019):922-924*

[14]Zeuzem S, Pawlotsky JM, Lukasiewicz E, von Wagner M, Goulis I, Lurie Y, Gianfranco E, Vrolijk JM, Esteban JI, Hezode C, Lagging M, Negro F, Soulier A, Verheij-Hart E, Hansen B, Tal R, Ferrari C, Schalm SW, Neumann AU;

*DITTO-HCVStudy Group. International, multicenter, randomized, controlled study comparing dynamically individualized versus standard treatment in patients with chronic hepatitis C. J Hepatol, 2005; 43(2):250-257*

[15]Colombatto P, Civitano L, Olivieri F, Coco B, Ciccorossi P, Flichman D, Campa M, Bonino F, Brunetto MR. Sustained response to interferon-ribavirin combination therapy predicted by a model of hepatitis C virus dynamics using both HCV RNA and alanine aminotransferase. *Antivir Ther, 2003;8(6):519-530*

[16]Levin J. New HCV drugs: protease inhibitors and polymerase inhibitors and drug resistance. *EASL, May 1, 2006, Vienna, Austria*

[17]Colombatto P, Ciccorossi P, Maina AM, Civitano L, Olivieri F, Coco B, Romagnoli V, Bonino F, Brunetto MR. Early and accurate prediction of Peg-IFNs/ribavirin therapy outcome in the individual patient with chronic hepatitis C by modelling the dynamics of the infected cells. *Clin Pharmacol Ther, 2008;84(2):212-215*

[18]Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, Heinzl EL, Qiu P, Bertelsen AH, Muir AJ, Sulkowski M, McHutchison JG, Goldstein DB. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature, 2009;461(7262):399-401*

[19]Dahari H, Lo A, Ribeiro RM, Perelson AS. Modeling hepatitis C virus dynamics: liver regeneration and critical drug efficacy. *J Theor Biol, 2007;247(2):371-381*

[20]Dahari H, Perelson AS. Hepatitis C virus RNA kinetics: drugs efficacy and the rate of HCV infected cells loss. *World J Gastroenterol*, 2007;13(21):3020-3021

[21]Dahari H, Ribeiro RM, Perelson AS. Triphasic decline of hepatitis C virus RNA during antiviral therapy. *Hepatology*, 2007;46(1):16-21

[22]Snoeck E, Chanu P, Lavielle M, Jacqmin P, Jonsson EN, Jorga K, Goggin T, Grippo J, Jumbe NL, Frey N. A comprehensive hepatitis C viral kinetic model explaining cure. *Clin Pharmacol Ther*, 2010;87(6):706-713

[23]Farmacoeconomia: una disciplina in cerca di identità. AIFA –Agenzia Italiana del Farmaco. BIF 1/2001, editoriale

[24]Farmacoeconomia e Farmacoepidemiologia, Dott. G Papadia, Trieste, 2011

[25]Farmacoeconomia, prescrizione dei farmaci e industria farmaceutica; Cap. 10, P.G. Dawey, M. Malek, T. Dodd, T. MacDonald, da [www.area-c54.it](http://www.area-c54.it)

[26]Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, Marcellin P, Vierling JM, Zeuzem S, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *The New England journal of medicine* 2011;364:1207-1217.

[27]Zeuzem S, Andreone P, Pol S, Lawitz E, Diago M, Roberts S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *The New England journal of Medicine*, 2011;364:2417-2428

[28]Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, et al. Boceprevir for untreated chronic

*HCV genotype 1 infection. The New England journal of medicine 2011;364:1195-1206*

[29] *Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, Di Bisceglie AM, Reddy KR, Bzowej NH, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. The New England journal of medicine 2011;364:2405-2416*

[30] *Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF). Libro bianco AISF 2011. 2011 [cited 03 June 2014]; Available from: [www.webaisf.org/media/13891/libro-bianco-aisf-2011.pdf](http://www.webaisf.org/media/13891/libro-bianco-aisf-2011.pdf)*

[31] *Thein HH, Yi Q, Dore GJ, Krahn MD. Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression. Hepatology, 2008; 48(2):418-431*

[32] *Expert Consensus Conference: “Lo screening per infezione da virus dell’epatite c negli adulti in Italia”. Istituto Superiore di Sanità; Roma, 5-6 maggio 2005, a cura di Alfonso Mele, Andrea Mariano, Letizia Sampaolo e Franca D’Angelo, Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute*

[33] *Bruno S, Crosignani A, Maisonneuve P, Rossi S, Silini E, Mondelli MU. Hepatitis C virus genotype 1b as a major risk factor associated with hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a seventeen-year prospective cohort study. Hepatology, 2007;46(5):1350-1356*

[34] *Hartwell D, Jones J, Baxter L, Sheperd J. Peginterferon alfa and ribavirin for chronic hepatitis C in patients eligible for shortened treatment, re-treatment or in HCV/HIV co-*

*infection: a systematic review and economic evaluation.*  
*Health Technol Assess, 2011;15(17):1-210*

[35]Lang JP, Michel L, Melin P, Schoeffler M, Gauchet A, Rousseaux C, Cartier V, Henry C. Management of psychiatric disorders and addictive behaviors in patients with hepatitis C in France. *Gastroenterol Clin Biol, 2009;33(1):1-7*

[36]Sullivan SD1, Craxi A, Alberti A, Giuliani G, De Carli C, Wintfeld N, Patel KK, Green J. Cost effectiveness of peginterferon alpha-2a plus ribavirin versus interferon alpha-2b plus ribavirin as initial therapy for treatment-naive chronic hepatitis C. *Pharmacoeconomics, 2004;22(4):257-265.*

## Appendice (Figure e Tabella Supplementare)

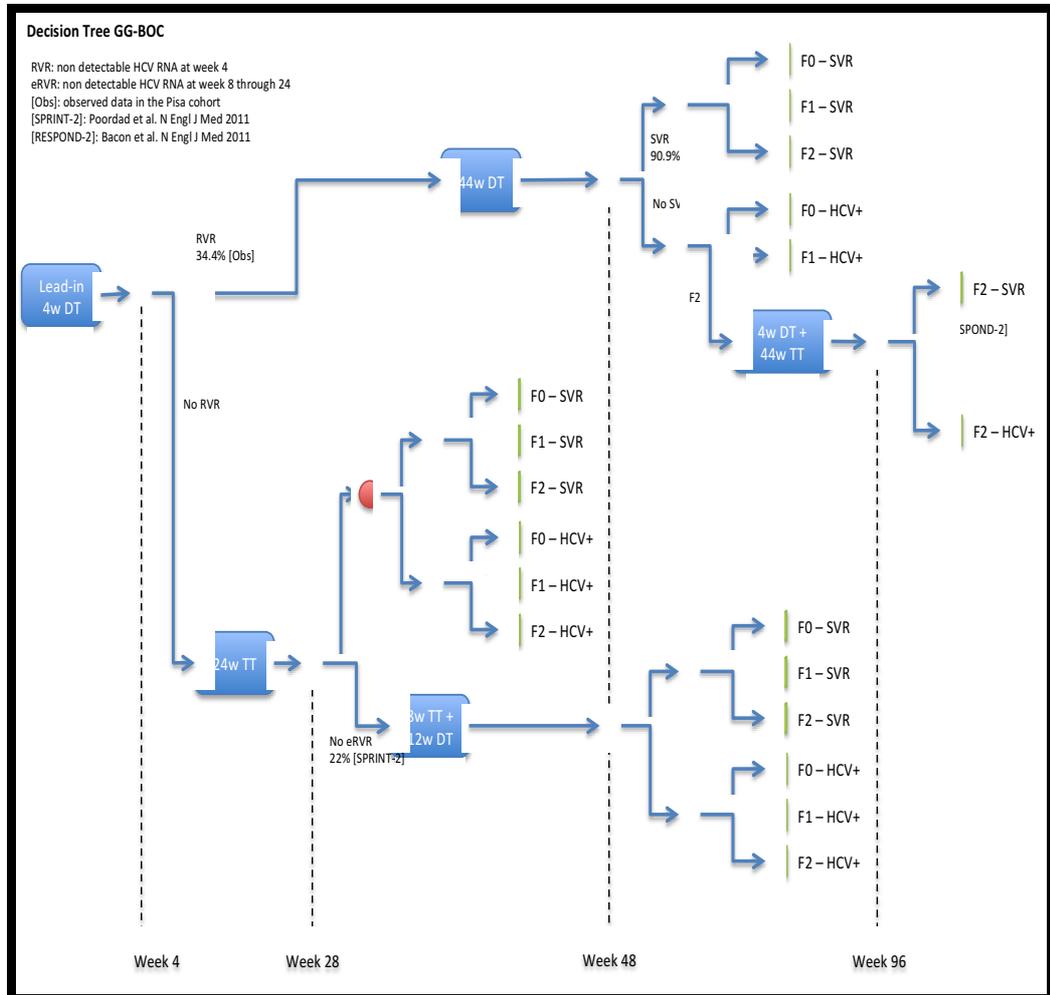


Fig. 1.1: Flow chart per albero decisionale; strategia GG-BOC

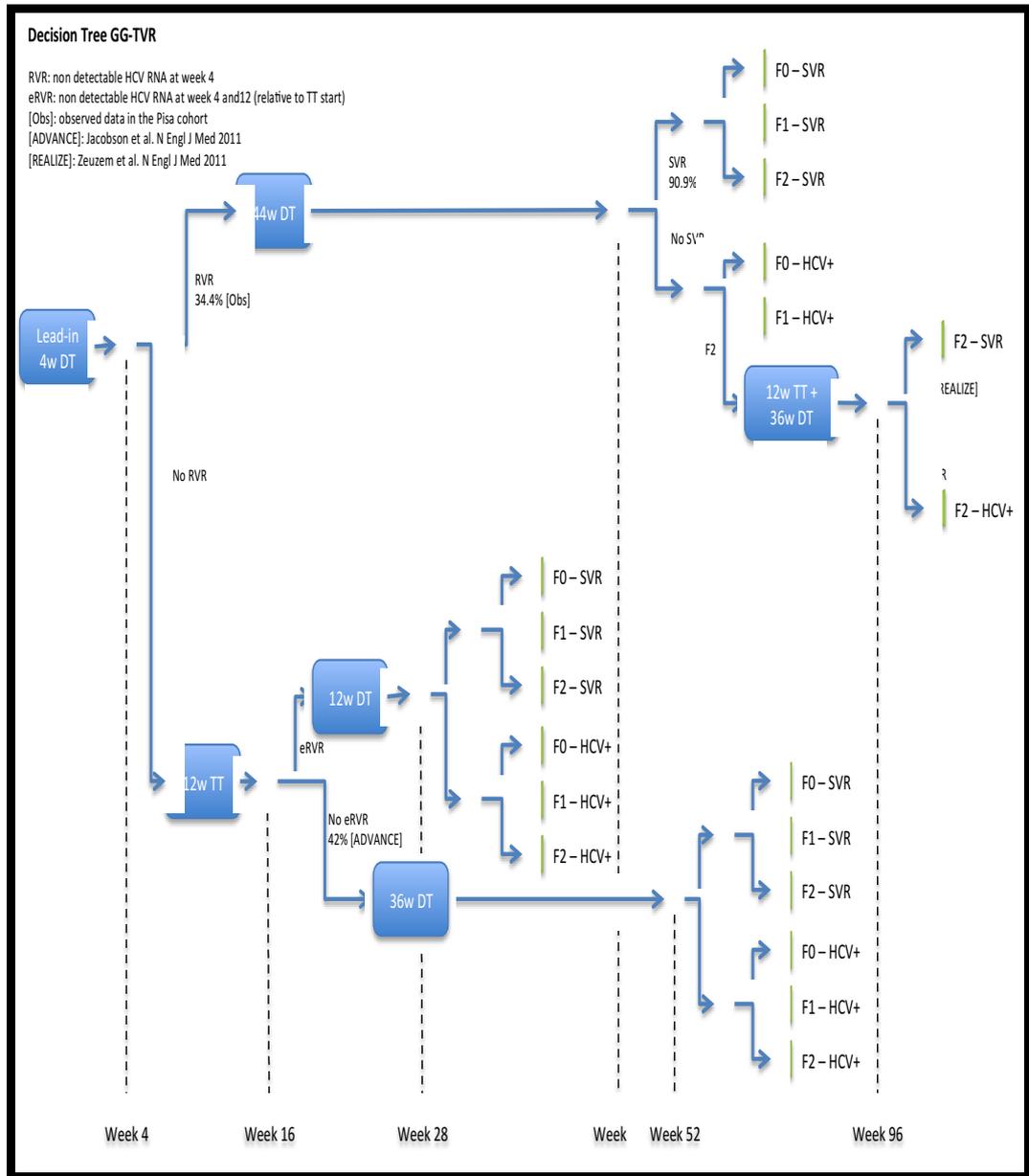


Fig. 1.2: strategia GG-TVR

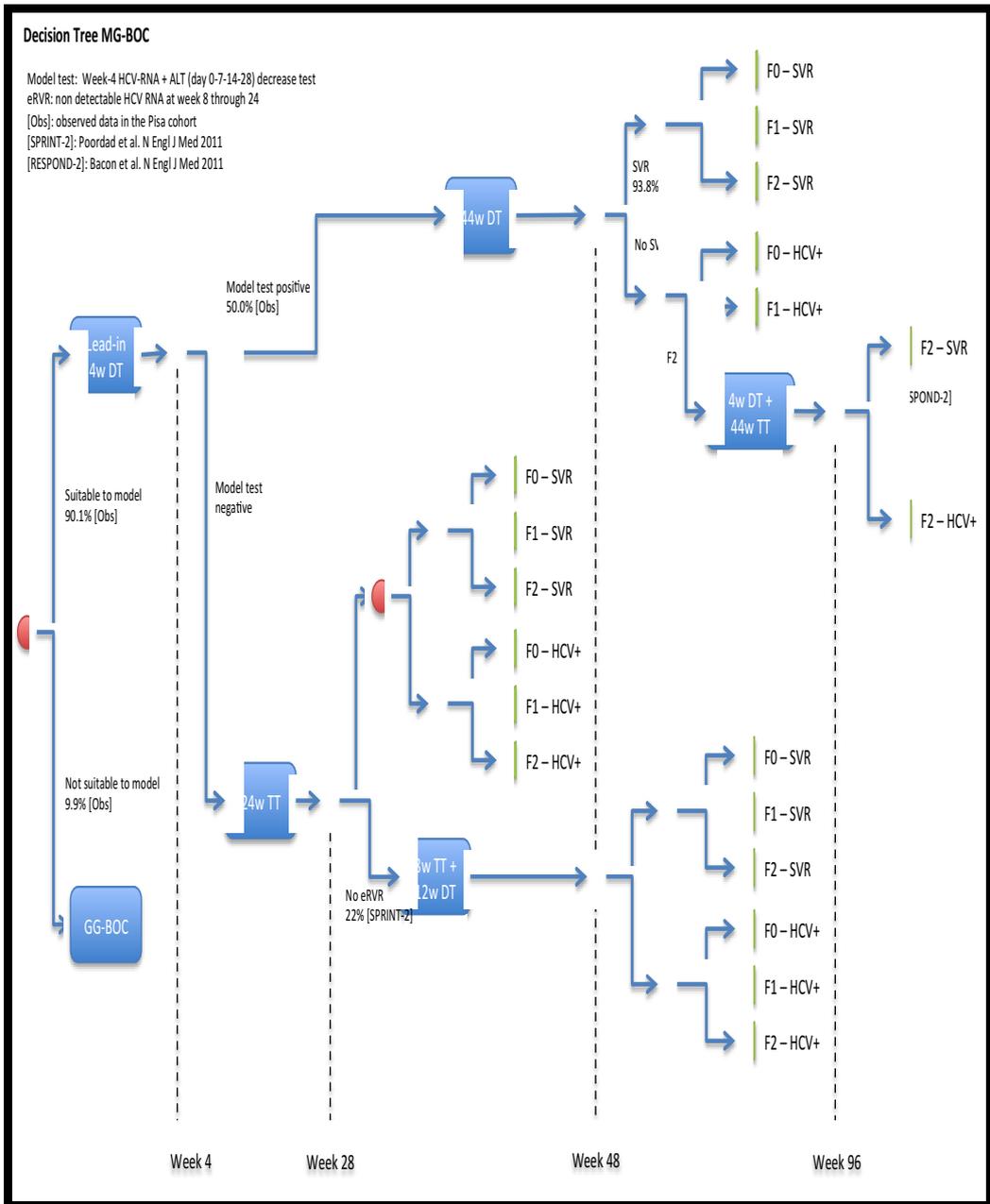


Fig. 1.3: Strategia MG-BOC

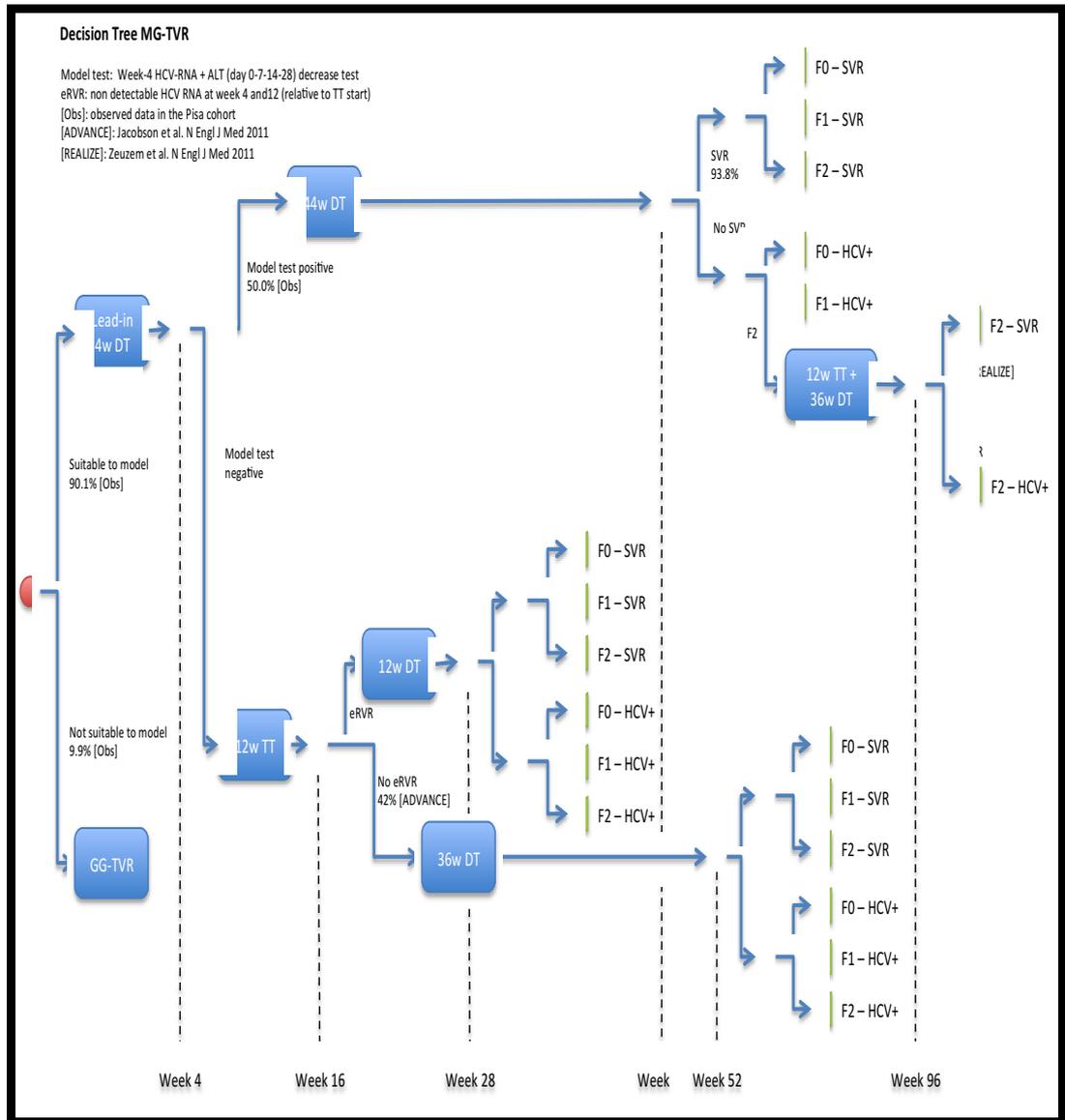


Fig. 1.4: Strategia MG-TVRR

## *Tabella Supplementare*

<b>Parametri</b>	<b>Valori analisi base case</b>	<b>Distribuzione PSA</b>	<b>Riferimenti</b>
<i>Generalità</i>			Distribuzione PSA
Tasso di sconto – costi	3.5%		
Tasso di sconto – benefici	3.5%		
Età iniziale (media)	46	Gamma	Dato osservato
Uomini	54,7%	Beta	Dato osservato
F0	10.94%	Dirichlet	Dato osservato
F1	18.75%	Dirichlet	Dato osservato
F2	70.31%	Dirichlet	Dato osservato
<i>Albero decisionale, probabilità</i>			
Strategia Gg: RVR	34.4%	Beta	Dato osservato
Strategia GG: SVR in pazienti RVR	90.9%	Beta	Dato osservato
Strategia MG: HCV-RNA + ALT (day 0-7-14-28), settimana 4, decremento positivo	50.0%	Beta	Dato osservato
Strategia MG: SVR in pazienti con HCV-RNA + ALT (day 0-7-14-28) decremento positivo	93.8%	Beta	Dato osservato
Strategia MG: modello non applicabile	9.9%	Beta	Dato osservato
eRVR con TT/BOC	44.0%	Beta	SPRINT-2 [28]
SVR con TT/BOC	67.0%	Beta	SPRINT-2 [28]
SVR con TT/BOC re-treatment	66.0%	Beta	RESPOND-2 [26]
eRVR con TT/TVR	58.0%	Beta	ADVANCE [29]
SVR con TT/TVR	75.0%	Beta	ADVANCE [29]
SVR con TT/TVR re-treatment	64.0%	Beta	REALIZE [27]

<i>Probabilità di evoluzione</i>			
Da F0 a F1 - HCV+	0.1170	Beta	Thein [31]
Da F1 a F2 - HCV+	0.0850	Beta	Thein [31]
Da F2 a F3 - HCV+	0.1200	Beta	Thein [31]
Da F3 a F4 - HCV+	0.1160	Beta	Thein [31]
Da F4 a cirrosi scompensata	0.0670	Beta	D'Amico [32]
Da F4 a epatocarcinoma (HCC)	0.0426	Beta	Bruno [33]
Da cirrosi scompensata a HCC	0.0426	Beta	Bruno [33]
Da cirrosi scompensata a trapianto	0.0200	Beta	Hartwell [34]
Da cirrosi scompensata a morte fegato-correlata	0.0247	Beta	Bruno [33]
Da HCC a trapianto	0.0400	Beta	Lang [35]
Da HCC a morte fegato-correlata	0.0714	Beta	Bruno [33]
Da trapianto a morte fegato-correlata	0.21	Beta	Hartwell [34]
Da post- trapianto a morte fegato-correlata	0.0570	Beta	Hartwell [34]
<i>Qualità di vita salute-correlata</i>			
Utilità F0 - HCV+	0.82	Beta	Sullivan [36]
Utilità F1 - HCV+	0.82	Beta	Sullivan [36]
Utilità F2 - HCV+	0.82	Beta	Sullivan [36]
Utilità F3 - HCV+	0.82	Beta	Sullivan [36]
Utilità F4 - HCV+	0.78	Beta	Sullivan [36]
Utilità F0 – SVR	1	Beta	Sullivan [36]
Utilità F1 – SVR	1	Beta	Sullivan [36]
Utilità F2 – SVR	1	Beta	Sullivan [36]
Utilità cirrosi scompensata	0.65	Beta	Sullivan [36]
Utilità HCC	0.25	Beta	Sullivan [36]
Utilità trapianto (primo anno)	0.5	Beta	Sullivan [36]

Utilità Post-trapianto	0.7	Beta	Sullivan [36]
<i>Costi</i>			
Dose Peg-INF alpha-2a (mcg per sett)	180	Gamma	ADVANCE [29]
RBV + Peg-INF alpha-2a (mg per giorno)	1,066	Gamma	ADVANCE [29]
Dose Peg-INF alpha-2b (mcg per sett)	105	Gamma	SPRINT-2 [28]
RBV + Peg-INF alpha-2b (mg per giorno)	1,064	Gamma	SPRINT-2 [28]
Dose BOC (mg per giorno)	2,400	Gamma	
Dose TVR (mg per giorno)	2,250	Gamma	
Prezzo Peg-INF alpha-2a (Euro per mcg)	0.93	Gamma	
Prezzo Peg-INF alpha-2b (Euro per mcg)	1.33	Gamma	
Prezzo RBV (Euro per mg)	0.009	Gamma	
Prezzo BOC (Euro per mg)	0.04	Gamma	
Prezzo TVR (Euro per mg)	0.12	Gamma	
Costo annuale F0 - HCV+	246.03	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale F1 - HCV+	246.03	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale F2 - HCV+	246.03	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale - HCV+	246.03	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale F4 - HCV+	347.19	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale F0 – SVR	0.00	Gamma	Assunto
Costo annuale F1 – SVR	0.00	Gamma	Assunto
Costo annuale F2 – SVR	0.00	Gamma	Assunto
Costo annuale cirrosi scompensata	5,465.88	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale HCC	6,075.46	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale trapianto (primo anno)	150,000.00	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo annuale post-trapianto	4,729.29	Gamma	Libro bianco AISF [30]
Costo test RVR	162.10	Gamma	Tariffario Nazionale
Costo totale HCV-RNA (giorni 0-28) + ALT (giorni 0-7-14-28)	169.26	Gamma	Tariffario Nazionale