

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE BIOMEDICHE**

Ciclo XXX

**Settore Concorsuale di afferenza: 06/B1
Settore Scientifico disciplinare: MED/09**

**TERAPIA CON ANTIVIRALI AD AZIONE DIRETTA
NEI PAZIENTI ANZIANI
CON EPATITE CRONICA HCV-RELATA**

Presentata da: **Dr. Fabio Conti**

Coordinatore Dottorato
Prof. Lucio Cocco

Supervisore
Dr.ssa Annagiulia Gramenzi

Esame finale anno 2018

INDICE

1. INTRODUZIONE	pag. 3
1.1 Storia naturale dell'infezione da HCV	pag. 3
1.2 Epidemiologia	pag. 5
1.3 Terapia farmacologica	pag. 8
1.4 Farmaci antivirali ad azione diretta di II generazione	pag. 10
2. BACKGROUND E SCOPO DEGLI STUDI	pag. 17
3. MATERIALI E METODI	pag. 19
4. RISULTATI	pag. 25
5. DISCUSSIONE	pag. 42
BIBLIOGRAFIA	pag. 47

INTRODUZIONE

Storia naturale dell'infezione da HCV

L'infezione da virus dell'epatite C (HCV) è una delle principali cause di malattia cronica del fegato nel mondo [1]. Solo circa il 20-25% va incontro a risoluzione spontanea dopo una epatite acuta. Nella maggior parte dei pazienti infatti (60-85%), l'infezione cronicizza con conseguente quadro di infiammazione. Nel 10-20% dei casi, l'epatite può evolvere in cirrosi (in 10-20 anni) e portare allo sviluppo di complicanze come l'epatocarcinoma (HCC) con un tasso di incidenza dell'1-4% annuo nel paziente con cirrosi HCV-relata. L'epatopatia terminale secondaria ad HCV è, inoltre, la più comune indicazione per il trapianto di fegato nel mondo occidentale [2]. Fino all'85% dei pazienti infetti sviluppa un'infezione cronica che può rimanere del tutto asintomatica per decenni; così nella maggior parte dei casi, la diagnosi viene fatta in maniera del tutto accidentale mediante esami ematici eseguiti per altri motivi che rivelano un incremento delle transaminasi e/o le stigmate laboratoristiche di epatopatia evoluta. L'infezione cronica è associata a gradi variabili di infiammazione epatica e progressione della fibrosi, indipendentemente dal genotipo e dalla carica virale. Il 25% mantiene livelli di transaminasi persistentemente normali, nonostante la positività dell'HCV-RNA; il 75% presenta, invece, un'alterazione degli indici di epatocitonecrosi. I primi hanno solitamente un danno epatico di lieve entità, con prognosi a lungo termine migliore. Per i secondi, invece, una biopsia è la maniera più accurata per verificare quale sia la rilevanza del danno epatico e la relativa prognosi [2]. L'esame istologico valuta due parametri il grading (ovvero l'entità dell'attività necroinfiammatoria) e lo staging (ovvero l'entità della fibrosi).

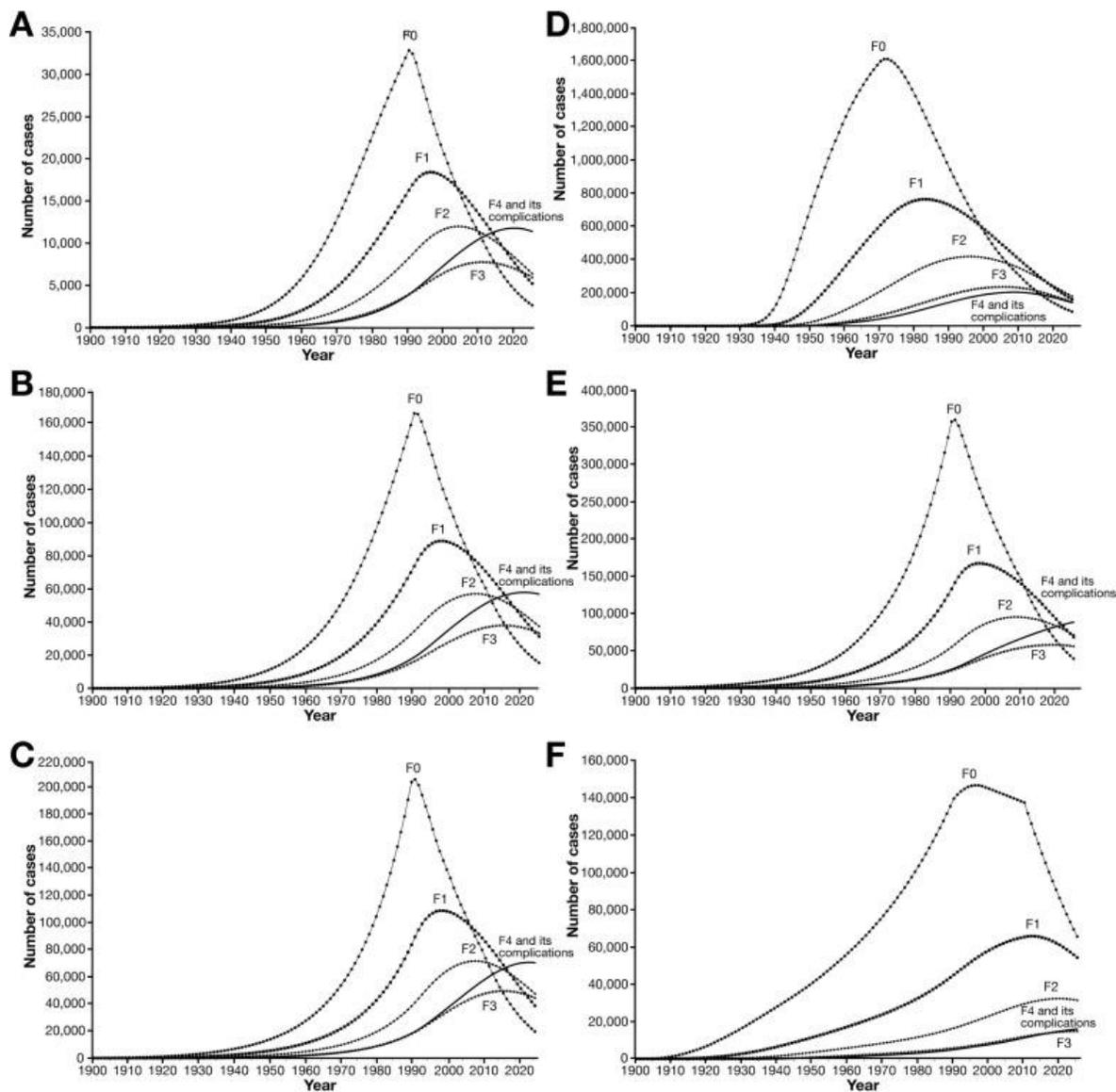
Sebbene la progressione della malattia epatica avvenga nell'arco di diversi decenni, alcuni cofattori ne possono accelerare il decorso: il consumo di alcool, il diabete mellito, l'età avanzata di acquisizione dell'infezione, la coinfezione con altri virus epatotropi o con il virus dell'HIV. A seconda poi della presenza o meno di tali cofattori, una percentuale variabile dal 10% al 40% dei pazienti con infezione cronica da HCV svilupperà cirrosi [2]. In questi, il rischio di sviluppare HCC è stimato intorno allo 0.4% (in caso di basso grado di fibrosi) e al 7.8% (in caso di fibrosi avanzata). Molto comuni nel paziente affetto da epatite cronica C sono, inoltre, le manifestazioni extraepatiche, che interessano fino al 40% di questi pazienti [3]. Si tratta principalmente di patologie su base immunologica probabilmente innescate da meccanismi di mimetismo molecolare quali la crioglobulinemia mista, le glomerulonefriti, le vasculiti sistemiche, la sindrome di Sjogren, il lichen planus e la porfiria cutanea tarda. Vi è, inoltre, un'associazione tra HCV e il linfoma non-Hodgkin [3].

Epidemiologia

L'incidenza e la prevalenza dell'infezione da HCV continuano a diminuire, soprattutto tra gli individui più giovani [4-5]. A differenza di altri paesi europei, dove i casi di cirrosi e le relative complicanze raggiungeranno il picco dopo il 2020, in Italia, a causa di una diffusione epidemica dell'HCV meno recente, hanno già raggiunto il loro picco di prevalenza nel 2008 (**Figura 1**) [6]. Tutti gli studi, condotti nel nostro paese tra il 1994 e il 2002, hanno mostrato che la prevalenza dell'HCV aumenta con l'aumentare dell'età, suggerendo un effetto di coorte, a causa di una diminuzione del rischio di trasmissione dell'infezione secondario al miglioramento delle condizioni sanitarie e socio-economiche [7-11]. Inoltre a causa dell'aumento della speranza di vita e della lunga durata dell'infezione da HCV, è verosimile che nei prossimi 10-20 anni, i medici si troveranno ad affrontare un numero crescente di pazienti anziani con malattie epatiche croniche HCV-relate.

Poiché l'invecchiamento è fortemente associato alla progressione della fibrosi, i pazienti anziani presentano spesso una malattia epatica avanzata ed un elevato rischio di sviluppare complicanze ed in particolare l'HCC [12]. Il tasso di fibrosi epatica dipende da numerosi fattori, tra cui la durata dell'infezione e l'età al momento dell'infezione [13-14], pertanto gli adulti, ed in particolar modo i più anziani, rischiano di sviluppare più precocemente le complicanze. Questo contribuirà in modo significativo ad aumentare la mortalità dei pazienti e l'utilizzo delle risorse, influenzando pesantemente la salute pubblica e l'assistenza sanitaria gestione in tutto il mondo.

Figura 1. Distribuzione degli stadi istologici di fibrosi in assenza di trattamento (storia naturale di HCV) in pazienti con epatite C cronica: (A) Belgio, (B) Francia, (C) Germania, (D) Italia, (E) Spagna e (F) Regno Unito [tratta da 6].



Alla luce delle considerazioni precedenti, ridurre i tassi d'infezione rappresenta una delle necessità principali della sanità pubblica mondiale sia attraverso la prevenzione che attraverso la diagnosi e il trattamento. L'obiettivo più importante è quello della prevenzione primaria ma ad oggi non è ancora disponibile un vaccino efficace. La terapia antivirale rappresenta invece il prototipo della medicina personalizzata ed è in continuo divenire, a causa dei rapidissimi progressi della ricerca in tale ambito.

L'obiettivo della terapia antivirale è la risposta virologica sostenuta (SVR), definita come la persistente assenza di HCV-RNA sierico dopo la fine del trattamento. E' stato dimostrato che nei pazienti con SVR la malattia epatica può essere considerata guarita, senza conseguenze cliniche a medio-lungo termine: l'incidenza di cirrosi, di complicanze della cirrosi, di HCC sono nettamente ridotte nel follow-up dei pazienti con SVR alla terapia rispetto ai pazienti non responsivi o non trattati [15-16].

Molti studi hanno inoltre evidenziato i benefici del trattamento dell'HCV in termini di miglioramento della qualità di vita ed aumento della produttività lavorativa, indipendentemente dalla gravità della malattia epatica [17].

Terapia antivirale

L'HCV è l'unica infezione cronica che può essere eradicata definitivamente con la terapia antivirale poiché, a differenza di quanto accade per HIV e HBV, i suoi acidi nucleici non si integrano con il genoma ospite [2]. Negli ultimi anni si è assistito a un radicale cambiamento delle prospettive terapeutiche per i pazienti affetti da HCV (**Figura 2**) [18].

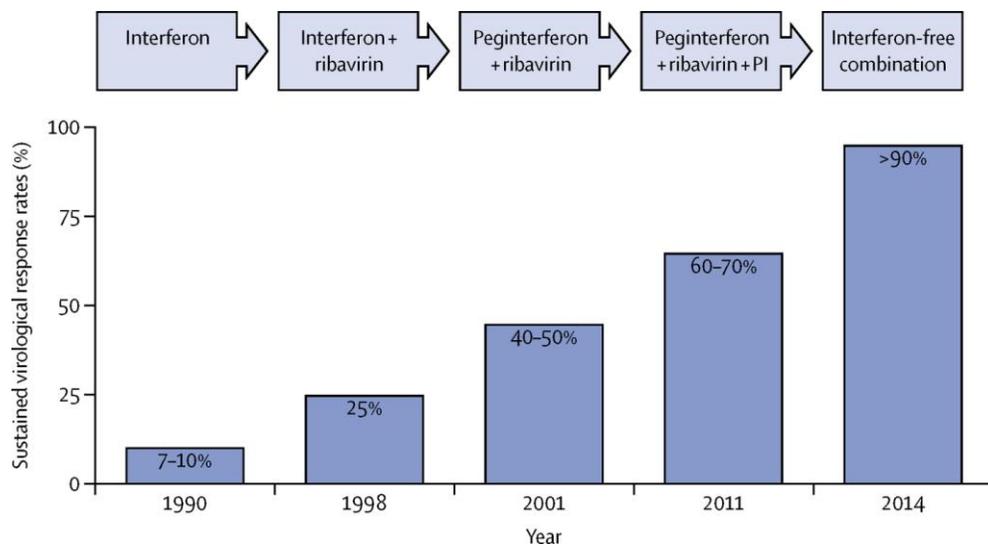
Fino a pochi anni fa lo standard di cura era costituito dalla associazione di interferone (IFN) peghilato e ribavirina (RBV), che, pur consentendo la guarigione in una discreta percentuale di casi, provocava effetti collaterali in una quota non trascurabile di pazienti, tale da comportare la sospensione prematura del trattamento nel 10-20% dei soggetti trattati [19]. Eventi avversi (EA) frequenti sono rappresentati, oltre a quelli citati sopra, da piastrinopenia e leucopenia da mielo-inibizione, sindrome simil-influenzale con cefalea, febbre e artralgie, suscettibilità alle infezioni. Controindicazioni alla terapia interferonica sono rappresentate da epatopatia scompensata, depressione e psicosi non controllate dalle terapie farmacologiche, epilessia, aritmie cardiache, malattie autoimmuni. Questo di fatto escludeva la maggior parte dei pazienti anziani dall'accesso alla terapia antivirale.

Nel 2011 sono stati commercializzati i primi antivirali ad azione diretta (DAA) appartenenti alla classe degli inibitori delle proteasi: boceprevir e telaprevir che inibiscono la proteasi che determina il clivaggio fra i frammenti NS3 e NS4A della poliproteina virale [20-23]. Il loro utilizzo prevedeva l'associazione con IFN e RBV nei pazienti con epatite HCV di genotipo 1 (esclusi i con cirrosi scompensata). La presenza di effetti collaterali importanti che si aggiungevano a quelli dell'IFN e della RBV e la commercializzazione dei DAA ne ha limitato l'utilizzo clinico. Boceprevir non è più commercializzato a partire da agosto 2016 e telaprevir è stato classificato in classe C SSN da marzo 2015. La prima generazione

di DAA, tuttavia, non ha pertanto soppiantato l'uso dell'IFN, mantenendone gli effetti collaterali, la lunga durata di terapia e lo svantaggioso rapporto costo/beneficio, ottenendo un miglioramento dei tassi di SVR senza però raggiungere la totalità dei pazienti. Per questo motivo gli sforzi della ricerca scientifica si sono intensificati, portando alla nascita e all'approvazione su scala mondiale delle generazioni successive di DAA e dei regimi terapeutici interferon-free.

Da gennaio 2014 sono stati introdotti sul mercato nuovi DAA di II generazione che hanno profondamente cambiato il paradigma di trattamento dell'infezione da HCV portando, verosimilmente nel prossimo decennio, ad una profonda trasformazione dell'epidemiologia di questa infezione a livello mondiale [24]. In primo momento il loro impiego è stato limitato dai costi molto elevati facendo nascere un dibattito sulla regolamentazione razionale di questi farmaci. Oggi, con la riduzione dei costi dei farmaci, questa problematica non sussiste.

Figura 2. Storia del trattamento antivirale e rispettivi tassi di SVR [tratta da 18].



Farmaci antivirali ad azione diretta di II generazione

A partire dal 2015 sono divenuti disponibili sul mercato [25]:

- *sofosbuvir (SOF)*, inibitore nucleosidico della RNA polimerasi NS 5B (Gilead Sciences);
- *simeprevir (SMV)*, che appartiene alla stessa classe di boceprevir e telaprevir (Janssen-Cilag);
- *daclatasvir (DCV)*, inibitore della proteina NS 5A (BMS);
- l'associazione precostituita di *SOF+ledipasvir (LDV)*, inibitore della proteina NS 5A (Gilead Sciences);
- l'associazione precostituita di *paritaprevir/ritonavir/ombitasvir (2D)* da associare quando necessario a *dasabuvir (3D)* (AbbVie). Paritaprevir condivide il meccanismo d'azione con simeprevir ed è boosterato con ritonavir; ombitasvir appartiene alla stessa classe di daclatasvir e ledipasvir. Dasabuvir è un inibitore non nucleosidico della RNA polimerasi NS 5B;
- l'associazione precostituita di *elbasvir*, inibitore della proteina NS5A+*grazoprevir*, inibitore delle proteasi (della Merck-Sharp Dome);
- l'associazione precostituita di *SOF+velpatasvir*, inibitore della proteina NS5A (Gilead Sciences). Si tratta del primo farmaco pangenotipico disponibile.
- l'associazione precostituita *glecaprevir+pibrentasvir*, inibitore delle proteasi + inibitore della proteina NS5A (AbbVie). Si tratta di un'ulteriore associazione di farmaci pangenotipica.

La **Figura 3** schematizza la classificazione dei DAA sulla base del loro meccanismo d'azione. In base ai risultati degli studi clinici attualmente disponibili i regimi terapeutici a base di questi farmaci sembrano consentire la SVR in un'alta percentuale di casi (dal 70%

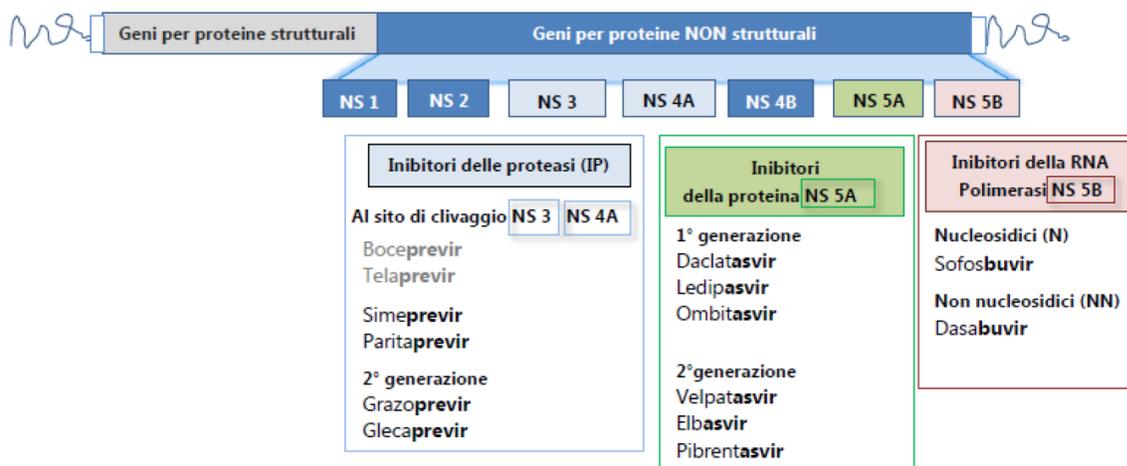
ad oltre il 90%), variabile a seconda del genotipo, del grado di fibrosi e della progressione della epatopatia. Inoltre, tali regimi sembrano essere al tempo stesso più tollerabili e sicuri rispetto a quelli contenenti gli inibitori delle proteasi della precedente generazione (boceprebvir e telaprevir). La possibilità di utilizzare combinazioni di DAA senza l'aggiunta di IFN e in alcuni casi anche di RBV, aumenta sensibilmente le probabilità di guarigione, riduce la tossicità della terapia e ne aumenta la compliance. Ciò consente di trattare efficacemente anche i genotipi più difficili ed i pazienti maggiormente compromessi compresi quelli che non hanno risposto a regimi a base di IFN o che non lo tollerano o non possono assumerlo per la presenza di controindicazioni. I nuovi regimi permettono, inoltre, in alcune categorie di pazienti, trattamenti di durata minore.

Il SOF, il primo DAA commercializzato (GU n. 283 del 5 dicembre 2014), è stato disponibile per l'acquisto dal 7 gennaio 2015 al 1 giugno 2017. A partire dal 15 maggio 2015 è stata commercializzata e rimborsata dal Sistema Sanitario Nazionale anche l'associazione SOF+LDV (GU n. 109 del 13 maggio 2015). Dal 2 giugno 2017 entrambi i farmaci sono stati riclassificati in fascia C e quindi non sono più rimborsati (GU 126 del 1 giugno 2017). Essi continueranno ad essere disponibili sul mercato italiano alle condizioni di vendita descritte successivamente e i relativi registri rimarranno comunque sulla piattaforma web per mantenere attivo il monitoraggio delle future prescrizioni (Comunicazione AIFA del 6 giugno 2017)

Dal 3 marzo 2015 è disponibile per l'acquisto SMV (GU n. 44 del 23 febbraio 2015). A partire dal 15 maggio 2015 è stato commercializzato in regime di rimborsabilità dal Sistema Sanitario Nazionale DCV (GU n. 101 del 4 maggio 2015). A partire dal 29 maggio 2015 il 2D e 3D (GU 118 del 23 maggio 2015) e a partire dal 4 febbraio 2017

elbasvir/grazoprevir (GU 28 del 3 febbraio 2017). A partire dal 12 maggio 2017, l'associazione SOF+velpatasvir (GU n. 96 del 26 aprile 2017) ed infine a partire dal 6 ottobre 2017- glecaprevir+pibrentasvir (GU n. 226 del 27 settembre 2017).

Figura 3. Genoma virale , bersagli terapeutici e DAA approvati [tratta da 26].



Di seguito verranno brevemente descritti solo i farmaci utilizzati in questo studio:

1. Sofosbuvir

E' stato il primo dei DAA ad entrare in scena a livello mondiale nella pratica clinica. E' analogo nucleotidico pangenotipico inibitore della polimerasi RNA dipendente. Ha mostrato un alto tasso di SVR in pazienti con infezioni da genotipi differenti sia con malattia epatica di differente gravità, sia nel pre- che nel post-trapianto [26]. Può essere utilizzato in associazione a peg-IFN e RBV o in regime interferon-free in combinazione ad altri DAA. La dose è di 400 mg in monosomministrazione giornaliera. Oltre l'80% del

farmaco viene escreto per via renale, mentre il 15% viene eliminato nelle feci. Pertanto dovrebbe essere evitato in pazienti con insufficienza renale grave (velocità di filtrazione glomerulare <30 ml/min). La durata del trattamento è di 12-24 settimane in base al genotipo e allo schema di trattamento. SOF non viene metabolizzato dal citocromo P450, ma è trasportato dalla glicoproteina-P (P-gp). I farmaci potenti induttori della P-gp diminuiscono significativamente le concentrazioni plasmatiche del farmaco e possono causarne un ridotto effetto terapeutico.

2. *Simeprevir*

È un inibitore della proteasi NS3/4A attivo contro i genotipi 1 e 4. Anch'esso può essere somministrato con peg-IFN e RBV o utilizzato in regimi interferon-free in associazione con SOF [27]. Ha mostrato un alto tasso di SVR, tuttavia va sottolineato che in pazienti con genotipo 1a la presenza del polimorfismo Q80K è associata ad una riduzione significativa della SVR [27]. Giunto in circolo, SMV si lega nella sua quasi totalità all'albumina e subisce metabolismo ossidativo da parte del CYP3A epatico. L'eliminazione avviene tramite escrezione biliare, mentre l'escrezione renale è trascurabile, motivo per cui non è necessario alcun aggiustamento del suo dosaggio nei pazienti con insufficienza renale lieve, moderata o grave. In virtù del suo metabolismo esclusivamente epatico, non va prescritto in pazienti in classe C di Child-Turcotte-Pugh (CTP). Le principali reazioni avverse riportate sono state rash cutaneo (incluso fotosensibilità), prurito e nausea. Poiché è un inibitore dei trasportatori OATP1B1 e MRP2, può provocare una iperbilirubinemia transitoria nel 10% dei casi [28]. Poiché l'enzima primario coinvolto nel metabolismo di SMV è il CYP3A4, la

co-somministrazione di SMV con induttori o inibitori di tale citocromo non è raccomandata in quanto ciò potrebbe portare a una minore o maggiore esposizione al farmaco stesso.

3. *Daclatasvir*

E' un potente e selettivo inibitore pan-genotipico del complesso NS5A essenziale per la replicazione dell'HCV, ed inibisce l'assemblaggio dei virioni. Si è dimostrato efficace nel trattamento dei pazienti affetti da epatite cronica C anche in evoluzione cirrotica in associazione a peg-IFN e RBV nei genotipi 1 e 4 [29] ed in associazione a SOF o SMV, in regime interferon-free, nei genotipi 1 e 4 [30-31]. Deve essere somministrato alla dose di 60 mg o 30 mg quando è necessaria una riduzione della dose, in monosomministrazione. Circa il 90% del farmaco viene escreto per via fecale e meno del 10% viene escreto nelle urine (principalmente come molecola immodificata). Può essere somministrato anche a pazienti in classe CTP-C. Gli effetti indesiderati più frequentemente riportati sono stati affaticamento, cefalea e nausea. Essendo un substrato del CYP3A4 e substrato-inibitore della P-gp, la co-somministrazione con forti induttori di CYP3A4 e P-gp deve essere evitata. La dose andrebbe ridotta a 30 mg se co-somministrato con potenti inibitori del CYP3A4 e aumentata a 90 mg in caso di co-somministrazione con potenti induttori.

4. *Sofosbuvir + Ledipasvir*

Questa associazione è disponibile in una dose fissa, contenente 400 mg di SOF e 90 mg di LDV in una singola compressa da assumere per via orale, una volta al giorno con o senza cibo. L'escrezione è principalmente biliare. Può essere utilizzato in pazienti con insufficienza renale lieve-moderata. Entrambe le molecole sono trasportate dalla P-gp e la

loro co-somministrazione con potenti induttori della stessa andrebbe evitata. Andrebbe inoltre evitata l'associazione con digossina, dabigatran, amlodipina, buprenorfina, ciclosporina, rosuvastatina e carvedilolo. Poiché la solubilità del LDV decrementa al diminuire del pH, gli antiacidi, gli inibitori di pompa protonica e gli antagonisti del recettore H2 ne riducono il suo assorbimento e quindi la sua biodisponibilità. L'utilizzo di questa associazione è approvato per i pazienti con genotipo 1 [32].

5. *Ombitasvir/paritaprevir/ritonavir/dasabuvir*

L'associazione precostituita di paritaprevir/ritonavir/ombitasvir può essere associata quando necessario a dasabuvir. Paritaprevir condivide il meccanismo d'azione con SMV ed è busterato con ritonavir (ciò consente una sola somministrazione giornaliera e una dose più bassa di quanto sarebbe richiesta senza ritonavir); ombitasvir appartiene alla stessa classe di DCV e LDV. Dasabuvir è un inibitore non nucleosidico della RNA polimerasi NS5B. L'utilizzo di questa associazione è approvato per i pazienti con genotipo 1 cirrotici o non cirrotici naive o experienced [33-35]. Paritaprevir e ombitasvir vengono escreti principalmente nelle feci. Dasabuvir viene metabolizzato nel fegato e viene eliminato principalmente tramite la bile con clearance renale minima. Non è richiesto alcun aggiustamento della dose per i pazienti con insufficienza epatica lieve o moderata. E' controindicato nei pazienti con grave insufficienza epatica (CTP-C), proprio in virtù del metabolismo epatico. Nessun aggiustamento del dosaggio è necessario per i pazienti con lieve, moderata o grave insufficienza renale. Paritaprevir è metabolizzato principalmente dal CYP3A4, mentre dasabuvir è metabolizzato principalmente dal CYP2C8 e ombitasvir subisce idrolisi. Paritaprevir, dasabuvir e ritonavir inibiscono la P-gp. Ritonavir, inoltre, è

un potente inibitore del CYP3A4; in tal modo, la co-somministrazione con farmaci metabolizzati da questo enzima può causare un incremento delle concentrazioni plasmatiche dei farmaci stessi. Numerosi farmaci sono pertanto controindicati poiché l'elevata esposizione plasmatica porterebbe a gravi EA.

BACKGROUND E SCOPO DELLO STUDIO

Nell'Europa meridionale, e in particolare in Italia, il trattamento dei pazienti anziani con epatopatia cronica HCV-relata è un problema di grande rilevanza a causa dell'elevata prevalenza dell'infezione in questa coorte di pazienti e dell'età avanzata dei pazienti con infezione HCV, rispetto ad altri paesi europei [6, 36-38]. In assenza di interventi terapeutici efficaci, è prevedibile che nel prossimo decennio il numero delle patologie epatiche complicate (cirrosi scompensata, HCC, etc...) in questa categoria di pazienti possa aumentare significativamente con un impatto significativo sulla spesa pubblica sanitaria [6, 36-38]. Tuttavia, con l'introduzione dei DAA di seconda generazione, il raggiungimento di una percentuale elevata di SVR potrebbe arrestare la progressione della malattia epatica e di conseguenza ridurre il numero di complicanze. Oggi, i nuovi schemi di trattamento con DAA ci stanno offrendo la possibilità di eradicare l'infezione da HCV anche nei pazienti anziani, storicamente considerati pessimi candidati ai trattamenti antivirali basati sull'utilizzo di IFN. Negli studi di fase III l'esperienza con i regimi contenenti DAA in questa categoria di pazienti è molto limitata, poiché sono stati inclusi solo pochi pazienti di età ≥ 65 anni, spesso senza fibrosi avanzata o cirrosi [39].

In considerazione dell'ottimo profilo di sicurezza di questi farmaci, gli enti regolatori nazionali hanno comunque approvato l'uso di questi farmaci in tutti gli individui indipendentemente dall'età. La domanda è se la clearance virale in età avanzata sia cost-effective, considerando il grado di compromissione epatica, comorbilità e aspettativa di vita nel paziente anziano.

Lo scopo di questo studio è stato quello di definire le caratteristiche epidemiologiche, cliniche e virologiche dei pazienti con epatopatia cronica HCV-relata afferenti ad un centro epatologico italiano di terzo livello dal momento dell'entrata in commercio dei nuovi DAA. E' stata successivamente valutata l'efficacia e la sicurezza del trattamento con diversi regimi contenenti DAA nei pazienti di età ≥ 65 anni e gli outcomes (sopravvivenza e sviluppo di HCC) a breve termine.

MATERIALI E METODI

Disegno dello studio

In questo studio di coorte sono stati consecutivamente arruolati tutti i pazienti con epatopatia cronica HCV-relata con attiva replicazione virale afferenti presso il Programma di Implementazione e Coordinamento dell'innovazione terapeutica nelle epatopatie croniche virali (ITEC – Prof. Pietro Andreone) dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria del Policlinico S. Orsola Malpighi di Bologna (Italia) nel periodo compreso tra il 1 Ottobre 2014 e il 30 Settembre 2016.

Per essere inclusi nello studio i pazienti dovevano avere un'età ≥ 18 anni e una epatopatia cronica HCV-relata con attiva replicazione virale definita come positività degli anticorpi anti-HCV e HCV-RNA dosabile utilizzando metodica PCR Real Time con limite di sensibilità di 15 UI/ml. Sono stati esclusi i pazienti con co-infezione da virus da HIV, i pazienti con pregressa infezione HCV (anti-HCV positivi, HCV-RNA negativi) o con SVR dopo un precedente trattamento antivirale.

Il grado di fibrosi epatica è stata determinata mediante biopsia diffusa valutata istologicamente secondo lo score di METAVIR [40] o tramite l'elastometria transepatica (fibroscan, Echosens) [41], effettuati entro i 18 mesi precedenti l'arruolamento.

Nella coorte di pazienti arruolati che veniva sottoposta a terapia antivirale con DAA è stata valutata l'efficacia e la sicurezza del trattamento e le complicanze osservate durante il follow-up successivo. La durata complessiva del follow-up comprendeva il periodo dal 16 Gennaio 2015 (data dell'inizio della terapia antivirale per il primo paziente) al 30 Settembre 2017.

Per gli obiettivi dello studio tutti i pazienti trattati sono stati suddivisi in due gruppi in base all'età < 65 anni e ≥65 anni, allo scopo di confrontare efficacia e sicurezza di impiego. Nel gruppo di età avanzata è stata poi condotta una sottoanalisi nei pazienti più vecchi (≥75 anni).

Nel corso del follow-up i pazienti con epatite cronica sono stati sottoposti a sorveglianza ecografica e laboratoristica annuale mentre i pazienti con cirrosi a sorveglianza semestrale per documentare l'eventuale comparsa di HCC la cui diagnosi veniva confermata radiologicamente con tomografia assiale computerizzata e/o risonanza magnetica.

Nei due gruppi di età sono stati quindi calcolati la mortalità complessiva e correlata alle complicanze della malattia epatica e lo sviluppo di HCC.

Trattamento antivirale

L'eleggibilità di ciascun paziente per il trattamento antivirale con DAA è stata valutata in base ai criteri di priorità di trattamento stabiliti dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) nell'ambito del Piano di eradicazione dell'infezione da HCV in Italia.

Di seguito i criteri AIFA per il trattamento con regimi interferon-free disponibili al momento dello studio [2]:

1. Pazienti con cirrosi in classe di CTP A o B e/o con HCC con risposta completa a terapie resettive chirurgiche o loco-regionali non candidabili a trapianto epatico e nei quali la malattia epatica sia determinante per la prognosi;
2. Pazienti con recidiva di epatite dopo trapianto di fegato con fibrosi METAVIR ≥2 (o corrispondente Ishak) o fibrosante colestatica;

3. Pazienti con epatite cronica con gravi manifestazioni extra-epatiche HCV-correlate (sindrome crioglobulinemica con danno d'organo, sindromi linfoproliferative a cellule B);
4. Pazienti con epatite cronica con fibrosi METAVIR F3 (o corrispondente Ishak);
5. Pazienti in lista per trapianto di fegato con cirrosi Model for End-Stage Liver Disease (MELD)<25 e/o con HCC all'interno dei criteri di Milano con la possibilità di un'attesa in lista di almeno 2 mesi;
6. Pazienti con epatite cronica dopo trapianto di organo solido (non fegato) o di midollo con fibrosi METAVIR ≥ 2 (o corrispondente Ishak).

Lo schema di trattamento con DAA e la sua durata (12/24 settimane) e l'aggiunta della RBV sono stati stabiliti in base al genotipo virale ed allo stadio dell'epatopatia, secondo le linee guida disponibili al momento dell'arruolamento [43]. Il dosaggio della RBV è stato stabilito in base al peso corporeo (1000 mg al giorno somministrati in due dosi divise per i pazienti <75 kg e 1200 mg per i pazienti ≥ 75 kg) [43].

Efficacia e Monitoraggio della Sicurezza del Trattamento

I dati di laboratorio includevano HCV-RNA, emoglobina, piastrine (PLT), alanina amino transferasi (ALT), aspartato amino transferasi (AST), albumina, bilirubina totale, creatinina sierica e rapporto internazionale normalizzato (INR) al basale, dopo 4 e 12 settimane di trattamento, alla fine del trattamento e dopo 12 settimane di follow-up post-trattamento. I punteggi dello score di CTP e del MELD sono stati calcolati e riportati al basale.

L'endpoint primario del trattamento antivirale era la percentuale di pazienti che avevano raggiunto una SVR 12 settimane dopo il completamento del trattamento (SVR12). I risultati di SVR12 sono stati calcolati sulla base dell'analisi intention-to-treat (ITT).

Il breakthrough virologico è stato definito come un aumento ≥ 1 log₁₀ IU/ml di HCV-RNA o HCV-RNA ≥ 15 UI/ml dopo precedente non rilevabile prima della fine della terapia.

La recidiva post-trattamento (relapse) è stata definita come HCV-RNA ≥ 15 IU/ml confermata durante il follow-up in pazienti con HCV-RNA non rilevabile alla fine del trattamento.

Valutazione della sicurezza

Durante tutto il periodo relativo al trattamento antivirale sono state effettuate valutazioni di sicurezza comprendenti esami ematochimici, visita medica, valutazione dei segni vitali e segnalazione di E). I dati sulla sicurezza sono stati raccolti per tutti i pazienti dal momento dell'inizio del trattamento fino a 12 settimane dal termine della terapia. Le visite cliniche sono state condotte a 4 settimane dall'inizio della terapia, al termine del trattamento e 12 settimane dopo il completamento del trattamento.

La valutazione degli EA è stata effettuata utilizzando i criteri stabiliti dalla Division of AIDS Table for Grading the Severity of Adult and Pediatric Adverse (DAIDS), classificando gli EA in base alla gravità, in quattro livelli:

- grado 1 (G1): sintomi che non causano o causano solo lievi interferenze nelle attività sociali e funzionali del paziente;
- grado 2 (G2): sintomi che interferiscono moderatamente nelle attività sociali e funzionali del paziente;

- grado 3 (G3): sintomi che causano disabilità, impedendo di svolgere le attività sociali e funzionali del paziente;
- grado 4 (G4): sintomi che provocano disabilità, impedendo la cura di se stessi, o che richiedono interventi medici operativi atti a prevenire danni permanenti, disabilità persistenti o la morte.

La gestione degli EA, così come l'interruzione della terapia a causa di effetti collaterali, è stata decisa autonomamente del medico che seguiva il paziente.

Un evento avverso è stato considerato di grado severo (EAS) se:

- ha provocato la morte del paziente;
- ha messo a rischio la vita del paziente;
- ha richiesto il ricovero del paziente o un prolungamento di un ricovero in corso;
- ha provocato disabilità significative o persistenti;
- ha determinato anomalie congenite o difetti alla nascita;
- vi è stato il sospetto di un'infezione trasmessa attraverso il farmaco;
- il medico lo ha considerato clinicamente importante.

Gli EAS, comprese le visite cliniche urgenti e/o le ospedalizzazioni, sono stati accuratamente rivisti per identificare la relazione causale con il regime di trattamento e segnalati alle autorità regolatorie locali. In caso di anemia, a discrezione del medico è stata ridotto il dosaggio di RBV e/o sono stati utilizzati fattori di crescita (eritropoietina) e/o trasfusione di emazie concentrate.

Analisi Statistica

Tutti i dati sono stati trattati in modo confidenziale nel rispetto della privacy. I pazienti sono stati identificati nel database attraverso le loro iniziali e la data di nascita. Le variabili continue sono state riportate come mediana e range mentre le variabili categoriche come frequenze (%). Le variabili continue sono state confrontate con test non-parametrici (Mann Whitney). Le variabili categoriche sono state confrontate utilizzando tabelle di contingenza con test del χ^2 secondo Pearson oppure il Fisher's exact test quando appropriati. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato come statisticamente significativo. L'analisi ITT è stata utilizzata per valutare l'efficacia dei trattamenti antivirali e l'insorgenza degli EA durante il trattamento e di complicanze durante il follow-up.

La regressione logistica multipla è stata utilizzata per identificare i parametri clinici e laboratoristici associati all'insorgenza di effetti collaterali in corso di trattamento antivirale. Come variabili indipendenti sono state scelte quelle associate all'insorgenza di effetti collaterali secondo l'analisi uni variata con $p < 0.010$.

I periodi di follow-up e di sopravvivenza sono stati espressi come mediane (range). Le curve di sopravvivenza e la probabilità di insorgenza di HCC dall'inizio del trattamento con DAA tra i pazienti di età \geq e < 65 anni sono state calcolate con il metodo di Kaplan Meier e confrontate con il test Log Rank. Le variabili associate allo sviluppo di HCC dopo l'inizio di trattamento con DAA con $p \leq 0.010$ all'analisi univariata sono state incluse nell'analisi multivariata di regressione di Cox.

Le elaborazioni statistiche sono state effettuate utilizzando il software SPSS per Windows (Statistical Package for the Social Sciences, versione 21.0, Armonk, New York, NY, USA).

RISULTATI

Popolazione dello studio

Nel periodo compreso tra il 1 Ottobre 2014 e il 30 Settembre 2016, sono stati valutati 1150 pazienti con anticorpi anti-HCV positivi. Di questi, 36 (3.1%) avevano una pregressa infezione HCV (1.7% dei pazienti di età <65 anni e 5% dei pazienti con età ≥65 anni; $p=0.001$) e 290 (25.2%) erano risultati responsivi ad un precedente trattamento antivirale con IFN (24.3% dei pazienti di età <65 anni e 26.3% dei pazienti con età ≥65 anni, $p=0.439$). I restanti 824 (71.7%) pazienti avevano una epatopatia cronica HCV-relata con attiva replicazione virale (74% dei pazienti di età <65 anni e 68.7% dei pazienti con età ≥65 anni, $p=0.050$) e venivano arruolati nello studio (**Figura 4**).

Le caratteristiche dei pazienti con attiva replicazione virale sono mostrate nella **Tabella 1**. L'età mediana dell'intera casistica era di 60 anni (range 19-92), di questi il 54.1% aveva un'età ≥65 anni. Il 54.5% era di sesso maschile e il 44.1% all'arruolamento risultava affetto da cirrosi. Poco più della metà dei pazienti (55.3%) era già stata sottoposta ad un precedente trattamento antivirale. Il genotipo virale più rappresentato è risultato 1b (52.1%). Solamente il 44.3% dei pazienti era normopeso, il 26.9% dei pazienti diabetico.

Durante il periodo di arruolamento, 254 pazienti (30.8% dei pazienti con infezione attiva) hanno iniziato la terapia antivirale con DAA (**Figura 4**). Rispetto a quelli non trattati, i pazienti che hanno iniziato la terapia con DAA erano significativamente più anziani (58 versus 65 anni; $p<0.001$) e avevano una malattia epatica avanzata (31.4% versus 71.7%, $p<0.001$). Rispetto ai cirrotici non trattati, i pazienti cirrotici trattati avevano una malattia in buon compenso funzionale (CTP-A) (42.2% versus 87.9%, $p<0.001$). Anche la

distribuzione dei genotipi virali era significativamente differente tra la popolazione trattata e quella non trattata ($p < 0.002$).

Figura 4. Disegno dello studio: i pazienti sono stati stratificati in base all'età < 65 o ≥ 65 anni.

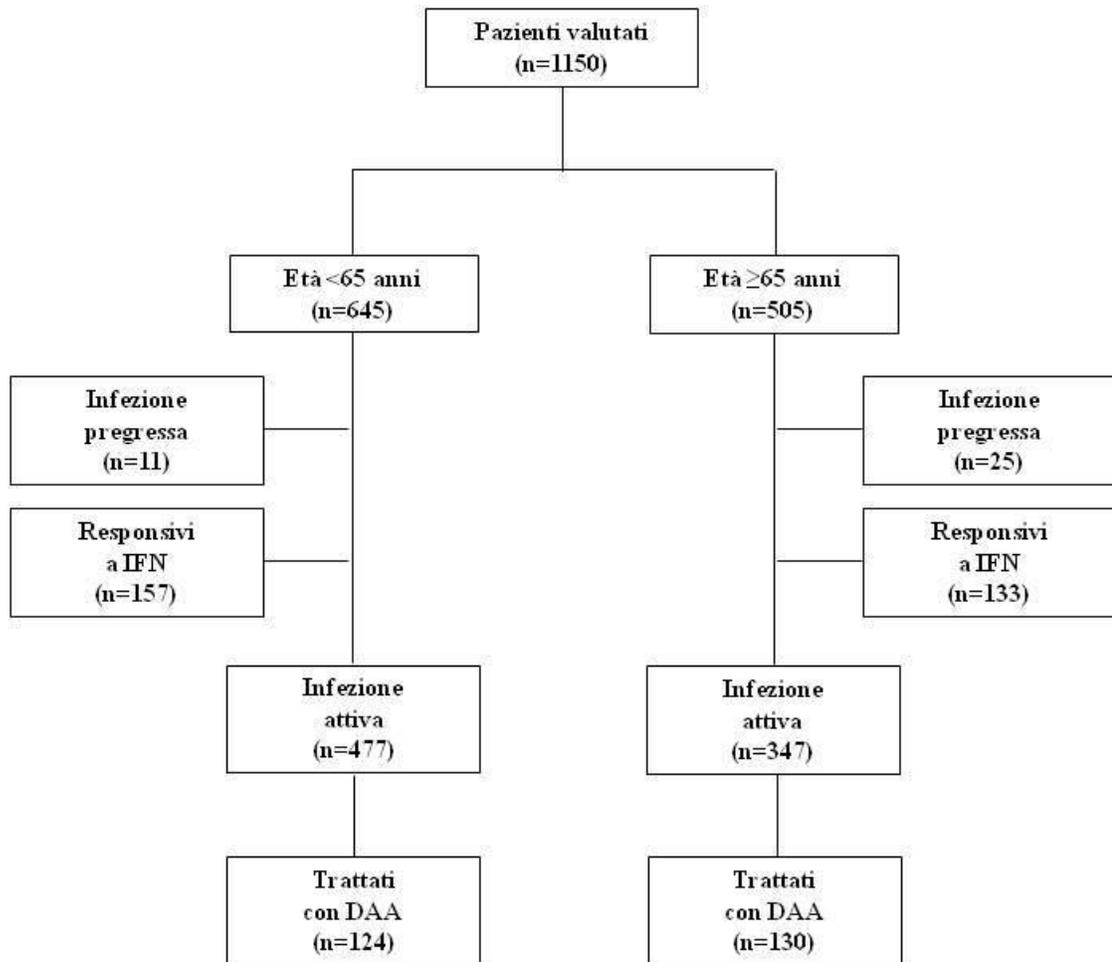


Tabella 1. Caratteristiche al basale dei pazienti con epatopatia cronica HCV-relata con attiva replicazione virale stratificati in base all'inizio o meno del trattamento antivirale con DAA

Variabile	Pazienti con infezione HCV attiva (n=824)	Non trattati (n=570)	Trattati con DAA (n=254)	p
Età, anni	60 (19-92)	58 (19-92)	65 (31-86)	<0.001
Classi di età:				
▪ <65 anni	378 (45.9%)	354 (62.1%)	124 (48.8%)	<0.001
▪ ≥65 anni	346 (54.1%)	216 (37.9%)	130 (51.2%)	
Sesso maschile	449 (54.5%)	301 (52.8%)	148 (58.3%)	0.150
Categorie di BMI:				
▪ Normopeso	365 (44.3%)	243 (42.6%)	122 (48%)	0.171
▪ Sovrappeso/Obesità	459 (55.7%)	327 (47.4%)	132 (52%)	
Fibrosi:				
▪ ≤F3	461 (55.9%)	391 (68.6%)	72 (28.3%)	<0.001
▪ Cirrosi	361 (44.1%)	179 (31.4%)	182 (71.7%)	
Classe di CPT*:				
▪ A	232 (64.3%)	72 (40.2%)	160 (87.9%)	<0.001
▪ B	101 (28%)	79 (44.1%)	22 (12.1%)	
▪ C	28 (7.7%)	28 (15.7%)	0	
Ipertensione arteriosa	492 (59.7%)	356 (62.5%)	136 (53.3%)	0.019
Diabete mellito	222 (26.9%)	172 (30.2%)	50 (19.7%)	0.002
Pregresso trattamento antivirale	456 (55.3%)	328 (57.5%)	128 (50.4%)	0.058
Genotipo HCV:				
▪ 1a	121 (14.7%)	85 (14.9%)	36 (14.2%)	0.002
▪ 1b	429 (52.1%)	276 (48.4%)	153 (60.2%)	
▪ 2	118 (14.3%)	95 (16.7%)	23 (9.1%)	
▪ 3	110 (13.3%)	86 (15.1%)	24 (6.4%)	
▪ 4	46 (5.6%)	28 (4.9%)	18 (7.1%)	

*Calcolato sui 361 pazienti con cirrosi

Pazienti trattati con DAA

Tra i pazienti sottoposti a trattamento con DAA, 130 (51.2%) avevano un'età ≥ 65 anni (di questi 66 avevano ≥ 75 anni) e 124 (49.8%) avevano un'età < 65 anni (**Figura 4**). Le caratteristiche cliniche al basale dei pazienti in base alle classi di età sono evidenziati nella **Tabella 2**. Come previsto, la percentuale di donne era più alta nei pazienti di età ≥ 65 anni rispetto ai pazienti di età < 65 anni ($p=0.031$). La cirrosi epatica era presente nel 78.5% dei pazienti anziani e nel 64.5% dei pazienti giovani ($p=0.017$), ma la distribuzione della classe CTP pre-trattamento e il punteggio MELD erano simili tra i due gruppi. I pazienti anziani avevano più frequentemente una anamnesi positiva per HCC ($p=0.044$). Anche il diabete mellito era più diffuso tra gli anziani anche se non in maniera significativamente diversa rispetto ai giovani (20.8% versus 18.5%, $p=0.753$). Non sono state riscontrate differenze significative nei test sierici di funzionalità epatica (ALT, AST, bilirubina totale) ad eccezione dell'albumina sierica e delle piastrine che era significativamente più basse nella coorte dei pazienti anziani (rispettivamente $p<0.001$ e $p=0.012$). Al basale, i livelli sierici di HCV-RNA non differivano tra i due gruppi. La distribuzione del genotipo virale HCV era significativamente differente tra le due coorti ($p<0.001$), nonostante in entrambi i casi la maggior parte dei pazienti fosse infettata dal genotipo 1. La distribuzione dei genotipi ha influenzato anche la scelta dello schema di trattamento con DAA che è risultato significativamente differente tra le due coorti ($p=0.003$). Da notare che la percentuale di pazienti naive al trattamento antivirale era più alta anziani rispetto ai giovani seppur in maniera non significativa (53.1% versus 46%, $p=0.262$).

Tabella 2. Caratteristiche al basale dei pazienti con epatopatia cronica HCV-relata trattati con DAA e stratificati in base all'età

Variabile	Pazienti trattati (n=254)	Età <65 (n=124)	Età ≥65 (n=130)	p
Età, anni	65 (31-86)	56 (31-64)	75 (65-86)	<0.001
Sesso maschile	148 (58.3%)	81 (65.3%)	67 (51.5%)	0.031
BMI, Kg/m²	25.3 (17.8-40.8)	25.3 (18.8-40.8)	25.1 (17.8-39.8)	0.402
Categorie di BMI:				
▪ Normopeso	122 (48%)	59 (47.6%)	63 (48.5%)	0.055
▪ Sovrappeso	103 (40.6%)	45 (36.3%)	58 (44.6%)	
▪ Obesità	29 (11.4%)	20 (16.1%)	9 (3.5%)	
Fibrosi:				
▪ F1	14 (5.5%)	12 (9.7%)	2 (1.5%)	0.009
▪ F2	5 (2%)	4 (3.2%)	1 (0.8%)	
▪ F3	53 (20.9%)	28 (22.6%)	25 (19.2%)	
▪ Cirrosi	182 (71.7%)	80 (64.5%)	102 (78.5%)	
Classe di CPT*:				
▪ A	160 (87.9%)	67 (83.8%)	93 (91.2%)	0.169
▪ B	22 (12.1%)	13 (16.2%)	9 (8.8%)	
MELD*	8 (6-21)	8 (6-21)	8 (6-15)	0.967
Pregresso scompenso ascitico*	23 (12.6%)	15 (18.8%)	8 (7.8%)	0.042
Pregresso HCC*	30 (16.5%)	8 (10%)	22 (21.6%)	0.044
Ipertensione arteriosa	136 (53.3%)	64 (51.6%)	72 (55.4%)	0.615
Diabete mellito	50 (19.7%)	23 (18.5%)	27 (20.8%)	0.753
Pregresso trattamento antivirale	128 (50.4%)	67 (54%)	61 (46.9%)	0.262
HBsAg+	2 (0.8%)	1 (0.8%)	1 (0.8%)	1
Genotipo HCV:				
▪ 1a	36 (14.2%)	32 (25.8%)	4 (3.1%)	<0.001
▪ 1b	153 (60.2%)	44 (35.5%)	109 (83.8%)	
▪ 2	23 (9.1%)	10 (8.1%)	13 (10%)	
▪ 3	24 (6.4%)	23 (18.5%)	1 (0.8%)	
▪ 4	18 (7.1%)	15 (12.1%)	3 (2.3%)	
Schema di trattamento con DAA:				
▪ SOF/SMV±RBV	51 (20.1%)	17 (13.7%)	34 (26.2%)	0.003
▪ SOF/LDV±RBV	69 (27.2%)	33 (26.6%)	36 (27.7%)	
▪ SOF/DCV±RBV	17 (6.7%)	13 (10.5%)	4 (3.1%)	
▪ SOF+RBV	32 (12.6%)	20 (16.1%)	12 (9.2%)	
▪ 3D±RBV	74 (29.1%)	32 (25.8%)	42 (32.3%)	

▪ 2D±RBV	11 (4.3%)	9 (7.3%)	2 (1.5%)	
Uso di Ribavirina	182 (71.7%)	99 (79.8%)	83 (63.8%)	0.005
HCV-RNA ≥800000 U/ml	145 (57.1%)	71 (57.3%)	74 (56.9%)	1
AST, U/l	64 (15-519)	60 (15-519)	68(18-309)	0.361
ALT, U/l	63 (11-405)	64 (11-405)	32 (15-225)	0.184
Bilirubina totale, mg/dl	0.84 (0.3-18.6)	0.84 (0.3-18.6)	0.84 (0.3-4.1)	0.824
Albumina, g/dl	3.9 (2.5-4.9)	4 (2.5-4.7)	3.9 (2.6-4.9)	<0.001
Creatinina, mg/dl	0.75 (0.3-3.63)	0.72 (0.3-2.33)	0.79 (0.49-3.63)	0.001
Emoglobina, g/dl	14 (9.2-18.2)	14.4 (10.4-17.7)	13.6 (9.2-18.2)	<0.001
PLT, x10³/mmc	128 (22-713)	143 (43-713)	122 (22-356)	0.012

*Calcolato sui 182 pazienti con cirrosi

Sicurezza di impiego dei DAA

Gli EA segnalati durante il trattamento con DAA sono stati riportati nella **Tabella 3**.

Durante l'osservazione, 78 (60%) pazienti di età ≥65 anni hanno presentato almeno un EA.

La frequenza di EA era maggiore nei pazienti di età ≥65 rispetto a quelli di età <65 anni seppur in maniera non statisticamente significativa (p=0.078). Gli EA più frequenti sono risultati l'astenia (36.6%) e le manifestazioni cutanee, tra cui rash e prurito (19.7%) senza differenze significative tra le due coorti di pazienti.

All'analisi multivariata, i fattori associati in maniera indipendente alla comparsa di EA nella popolazione analizzata erano: età ≥65 anni [OR=2.114 (1.197-3.734), p=0.010], l'utilizzo di RBV [OR=2.104 (1.114-3.974), p=0.022] e la durata del trattamento [OR=2.079 (1.154-3.746),p=0.015] (**Tabella 4**).

Un'anemia severa è stata riscontrata nel 12.6% dei pazienti, prevalentemente nella coorte dei pazienti anziani (16.2% versus 8.9%, p=0.091). Una riduzione del dosaggio e/o

sospensione della RBV è stata necessaria in 21 su 182 pazienti trattati con RBV, la maggior parte dei quali di età ≥ 65 anni (16.9% versus 7.1%, $p=0.060$).

Durante il trattamento sono stati registrati EAS in 7 (2.8%) pazienti (4 tra i pazienti anziani e 3 in quelli giovani): anemia severa secondaria a RBV tale da richiedere ospedalizzazione per necessità di emotrasfusione in 2 pazienti, scompenso ascitico in 2 pazienti, episodio sincopale secondaria a stenosi aortica severa in un paziente, emorragia digestiva da rottura di varici esofagee in un paziente, encefalopatia epatica secondaria a frattura vertebrale amielica in un paziente. La maggior parte degli EAS è insorta nei pazienti con cirrosi (6 su 7 pazienti, 85.7%) e 4 su 6 avevano un MELD score >10 al baseline.

L'unico caso di interruzione precoce del trattamento si è verificato alla quinta settimana in un paziente cirrotico di 60 anni in seguito alla comparsa di scompenso ascitico. In nessuno dei due gruppi si sono osservati decessi durante il trattamento.

Tabella 3. Profilo di sicurezza del trattamento antivirale con DAA

Variabile	Pazienti trattati (n=254)	Età<65 (n=124)	Età ≥ 65 (n=130)	p
Eventi Avversi Severi	7 (2.8%)	3 (2.4%)	4 (3.1%)	1
Interruzione dovuta ad Eventi Avversi Severi	1 (0.4%)	1 (0.8%)	0	0.488
Eventi Avversi	138 (54.3%)	60 (48.4%)	78 (60%)	0.078
Eventi Avversi comuni (>2%):				
▪ Astenia	93 (36.6%)	43 (34.7%)	50 (38.5%)	0.603
▪ Manifestazioni cutanee (rash, prurito,...)	50 (19.7%)	20 (16.1%)	30 (23.1%)	0.207
▪ Disturbi gastrointestinali (nausea, dispepsia)	18 (7.1%)	9 (7.3%)	9 (6.9%)	1
▪ Depressione/irritabilità	13 (5.1%)	7 (5.6%)	6 (4.6%)	0.781
Alterazione degli esami di laboratorio:				
▪ Bilirubina totale ≥ 4 mg/dl	7 (2.8%)	2 (1.6%)	5 (3.8%)	0.447
▪ Emoglobina <10 g/dl	32 (12.6%)	11 (8.9%)	21 (16.2%)	0.091
Riduzione/interruzione somministrazione RBV*	21 (11.5%)	7 (7.1%)	14 (16.9%)	0.060

*Calcolato sui 182 pazienti trattati con RBV (99 con età <65 anni, 83 con età ≥ 65 anni).

Tabella 4. Analisi univariata e multivariata dei fattori associati alla comparsa di eventi avversi durante la terapia antivirale con DAA

Variabile	Analisi Univariata		Analisi Multivariata	
	OR	p	OR	p
Età: ≥65 vs <65 anni	1.600 (0.973-2.630)	0.064	2.114 (1.197-3.734)	0.010
Sesso: Femmina vs Maschio	1.171 (0.709-1.933)	0.538		
Fibrosi: Cirrosi vs Non-cirrosi	2.043 (1.174-3.556)	0.011		
Naive vs Precedente trattamento	0.971 (0.593-1.592)	0.908		
Uso RBV: Si vs No	2.043 (1.174-3.556)	0.011	2.104 (1.114-3.974)	0.022
Durata terapia: 24 vs 12 settimane	2.002 (1.191-3.362)	0.009	2.079 (1.154-3.746)	0.015
BMI: Normopeso vs Sovrappeso/obeso	1.232 (0.751-2.021)	0.408		
Genotipo: 1b vs non 1b	1.152 (0.695-1.909)	0.584		

Efficacia

All'analisi ITT, 245 (96.5%) pazienti hanno ottenuto una SVR12. Una relapse virologica è stata osservata in 9 (3.5%) pazienti: 5 con genotipo 1, 2 con genotipo 3, 1 con genotipo 2 e 1 con genotipo 4 (**Tabella 5**). In considerazione del ridotto numero di pazienti non responsivi alla terapia con DAA non è stata eseguita una valutazione dei fattori associati indipendentemente alla risposta ma solo una analisi descrittiva. Nella maggior parte dei casi erano pazienti con cirrosi (77.8%), già sottoposti a trattamento antivirale interferon-based (77.8%) e trattati con SMV+SOF (55.6%). Nonostante le due coorti non fossero confrontabili in termine di distribuzione dei genotipi virali e di schema di trattamento, la SVR12 è risultata sovrapponibile nei due gruppi di pazienti (96% in quelli di età <65 anni e 96.9% in quelli con età ≥65 anni, p=0.744) (**Figura 5**). Nel sottogruppo di pazienti con età ≥75 anni, la SVR12 è stata raggiunta dal 97% dei pazienti. Non sono state osservate

differenze significative anche confrontando le due coorti stratificate in base al genotipo virale (**Figura 6**) e allo stadio di fibrosi (**Figura 7**).

Tabella 5. Caratteristiche dei pazienti relapser al trattamento antivirale con DAA

	Età (anni)	Sesso	BMI	Fibrosi	CTP	Naive	Genotipo	Schedule	Durata (settimane)
1	46	F	normopeso	F3		No	3	SOF+RBV	24
2	50	M	normopeso	F3		No	1a	3D+RBV	12
3	50	M	normopeso	cirrosi	A5	No	1a	SOF+SMV+RBV	12
4	52	M	obeso	cirrosi	A5	No	3	SOF+RBV	24
5	61	F	normopeso	cirrosi	A5	No	1b	SOF+SMV+RBV	12
6	67	F	sovrappeso	cirrosi	A6	No	4	SOF+SMV	12
7	72	M	sovrappeso	cirrosi	A5	Si	1b	SOF+SMV+RBV	24
8	76	F	normopeso	cirrosi	B8	No	1b	SOF+SMV	12
9	80	F	sovrappeso	cirrosi	A5	Si	2	SOF+RBV	12

Figura 5. Risposta virologica al trattamento antivirale con DAA stratificata per età

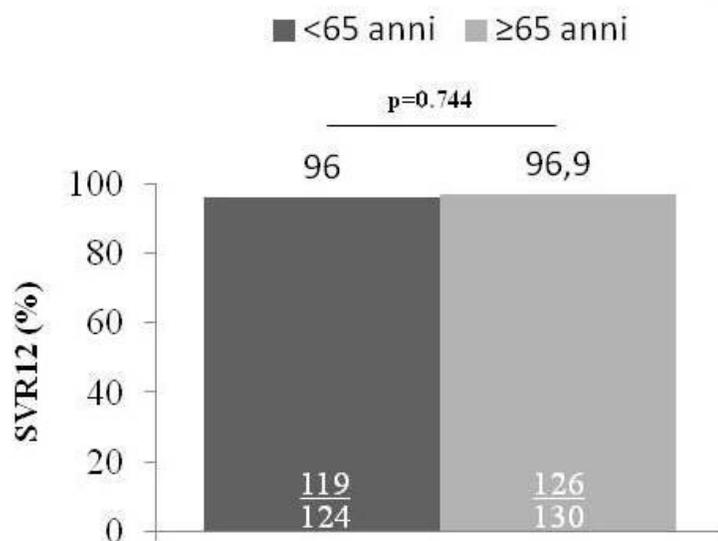


Figura 6. Risposta virologica al trattamento antivirale con DAA stratificata per genotipo virale

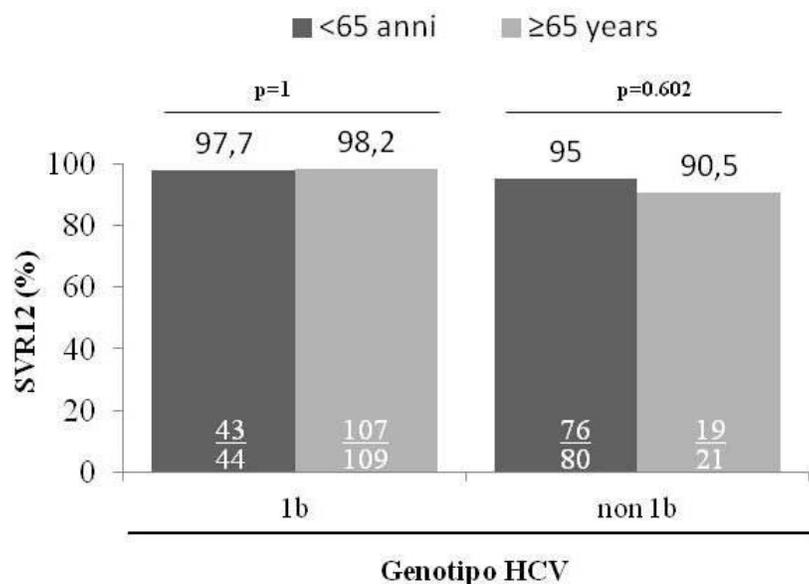
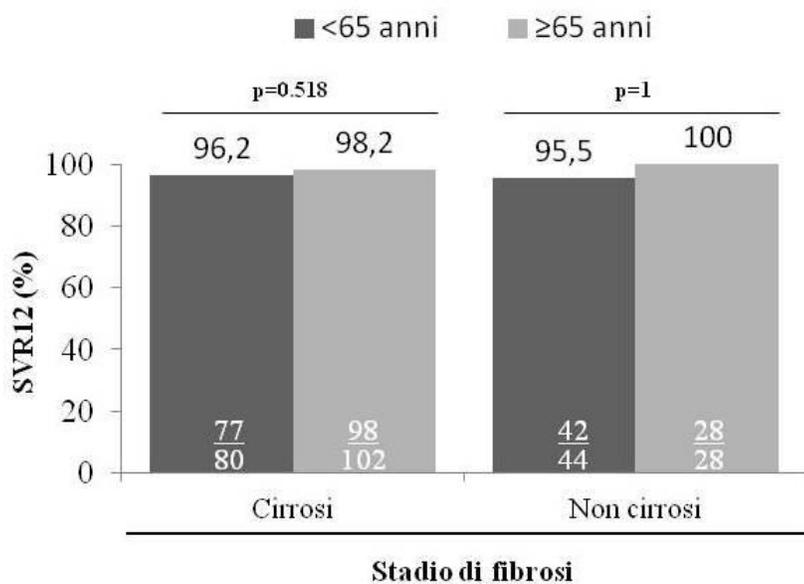


Figura 7. Risposta virologica al trattamento antivirale con DAA stratificata per stadio di fibrosi



Nella **Tabella 6** sono descritti i tassi di risposta alla terapia stratificati in base allo schema di trattamento, al genotipo virale e alla classe di età. Una SVR12 è stata ottenuta in tutti i 69 pazienti trattati con SOF+LDV±RBV. I pazienti con genotipo 1 trattati con 3D±RBV hanno ottenuta una SVR12 del 98.6% (71/72). Tutti i pazienti con genotipo 4 trattati con 2D±RBV hanno ottenuto una SVR12 (13/13). Analogamente, una SVR12 del 100% è stata osservata nei pazienti trattati con SOF+DCV±RBV (17/17).

Tabella 6. Risposta virologica stratificata in base allo schema di trattamento e al genotipo virale e all'età

Schema di trattamento	SVR (%)	GENOTIPO HCV									
		N. relapse/N. di pazienti trattati (%)									
		1a		1b		2		3		4	
	<65	≥65	<65	≥65	<65	≥65	<65	≥65	<65	≥65	
SOF+SMV±RBV	46/51 (90.2%)	2/3 (66.7%)		9/10 (90%)	31/33 (93.9%)					4/4 (100%)	0/1 (0%)
SOF+LDV±RBV	69/69 (100%)	15/15 (100%)	2/2 (100%)	15/15 (100%)	34/34 (100%)			3/3 (100%)			
SOF+DCV±RBV	17/17 (100%)	2/2 (100%)			2/2 (100%)	2/2 (100%)	2/2 (100%)	9/9 (100%)			
SOF+RBV	29/32 (90.6%)			1/1 (100%)		8/8 (100%)	10/11 (90.9%)	9/11 (81.8%)	1/1 (100%)		
3D±RBV	71/72 (98.6%)	11/12 (91.7%)	2/2 (100%)	18/18 (100%)	40/40 (100%)						
2D±RBV	13/13 (100%)									11/11 (100%)	2/2 (100%)
Totale	245/254 (96.5%)	30/32 (93.8%)	4/4 (100%)	43/44 (97.7%)	107/109 (98.2%)	10/10 (100%)	12/13 (92.3%)	21/23 (91.3%)	1/1 (100%)	15/15 (100%)	2/3 (66.7%)

Efficacia nei pazienti anziani

Nella coorte di pazienti di età ≥65 anni, la SVR12 non era significativamente differente tra i pazienti naive e quelli già sottoposti a trattamento con IFN (97.1% versus 96.7%; p=1). La presenza di cirrosi non influenzava la risposta virologica: una SVR12 è stata osservata nel

96.2% dei pazienti cirrotici rispetto 95.5% dei pazienti senza cirrosi ($p=0.577$). Nei pazienti con cirrosi, la severità di malattia influenzava la risposta virologica seppur in maniera non significativa (88.9% nei pazienti con CTP-B versus 96.8% in quelli con CTP-A, $p=0.313$ e 93.3% nei pazienti con MELD \geq 10 versus 97.2% nei pazienti con MELD $<$ 10, $p=0.579$). In maniera analoga, nei pazienti con storia di HCC progressivo si osservava una SVR12 ridotta (90.9% versus 97.5, $p=0.202$).

Follow-up

La durata del follow-up dal termine della terapia antivirale con DAA era 21 (3-29) mesi. Nessun evento (morte e/o complicanze epatiche) è stato osservato nei pazienti con fibrosi \leq F3. Limitando l'analisi ai 182 pazienti con cirrosi epatica (**Tabella 7**), durante il follow-up 7 (3.8%) pazienti sono deceduti (2.5% tra nella coorte di pazienti giovani e 4.9% nella coorte di pazienti anziani). Non sono emerse significative differenze confrontando le curve di sopravvivenza dei pazienti anziani e di quelli giovani (Log Rank=0.614, $p=0.433$) (**Figura 8**). Le cause del decesso erano: insufficienza epatica in 2 casi, insufficienza respiratoria secondaria a focolaio broncopneumonico in 1 caso, emorragia cerebrale in 1 caso, insorgenza di neoplasia diversa da HCC in due casi (neoplasia gastrica e linfoma). In un paziente non è stata identificata la causa della morte. Le caratteristiche al basale dei pazienti deceduti sono mostrate nella **Tabella 8**.

Tabella 7. Outcomes dei pazienti con cirrosi trattati con DAA

Variabile	Pazienti trattati (n=182)	<65 (n=80)	≥65 (n=102)	p
Morte	7 (3.8%)	2 (2.5%)	5 (4.9%)	0.468
Morte secondaria a causa epatica (n, % delle morti)	2 (1.1%)	0	2 (2%)	0.505
Trapianto di fegato	2 (1.1%)	2 (5%)	0	0.192
HCC	27 (14.8%)	13 (16.3%)	14 (13.7%)	0.678
HCC de novo*	17 (11.1%)	9 (12.3%)	8 (10%)	0.798
Recidiva di HCC [#]	10 (34.5%)	4 (57.1%)	6 (27.3%)	0.193

* Calcolato su 153 pazienti senza HCC pregresso (73 con età <65 anni, 80 ≥65 anni).

Calcolato su 29 pazienti con HCC pregresso (8 con età <65 anni, 22 ≥65 anni).

Figura 8. Sopravvivenza dei pazienti con cirrosi trattati con DAA stratificata per età

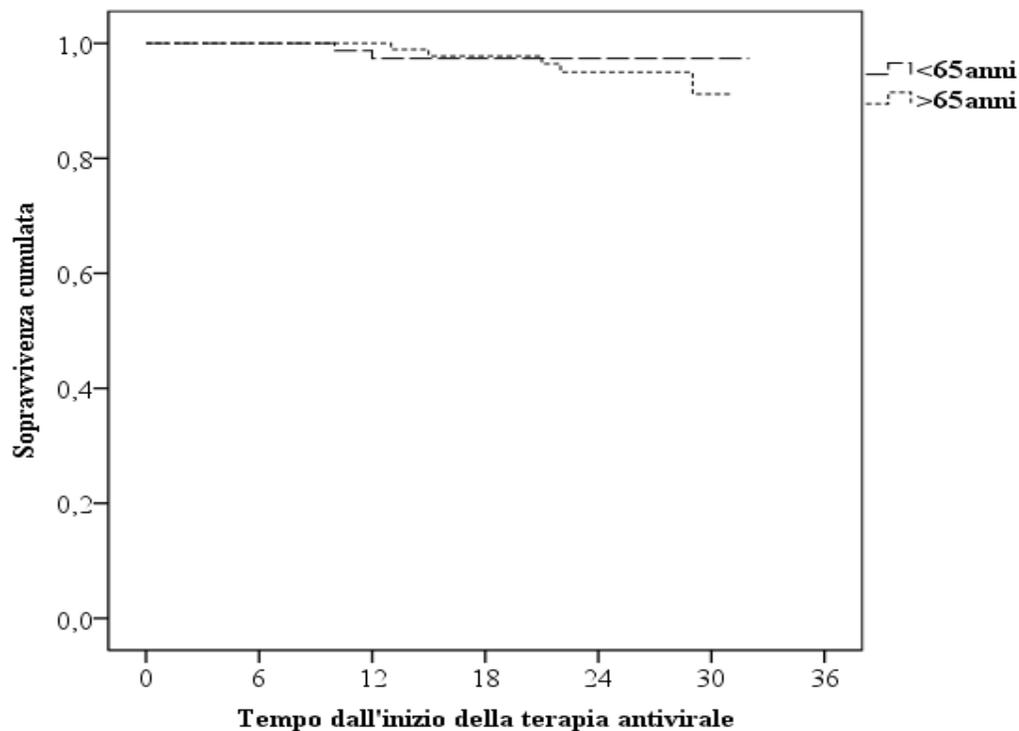


Tabella 8. Caratteristiche basali dei pazienti deceduti durante il follow-up

	Età	Sesso	BMI	Fibrosi	CTP	MELD	Diabete	Schedule	Risposta terapia	Tempo* (mesi)	Causa di morte
1	67	F	sovrapeso	cirrosi	A6	10	No	SOF+SMV	Relapser	29	insufficienza epatica
2	73	M	sovrapeso	cirrosi	A6	8	No	SOF+LDV	SVR	13	ischemia cerebrale
3	76	M	sovrapeso	cirrosi	B7	9	No	3D+RBV	SVR	22	linfoma
4	76	F	normopeso	cirrosi	B8	11	No	SOF+SMV	Relapser	21	insufficienza respiratoria
5	73	M	obeso	cirrosi	A6	12	Si	3D+RBV	SVR	15	insufficienza epatica
6	63	F	normopeso	cirrosi	B7	12	Si	SOF+DCV+RBV	SVR	12	morte improvvisa
7	58	M	obeso	cirrosi	A5	8	No	SOF+SMV+RBV	SVR	10	tumore gastrico

* Tempo tra l'inizio della terapia e il termine del follow-up

L'insorgenza di HCC è stata documentata in 27 (14.8%) pazienti senza significativa differenza tra i due gruppi di età (16.3% tra nella coorte di pazienti giovani e 13.7% nella coorte di pazienti anziani). L'intervallo di tempo tra l'inizio della terapia antivirale e la comparsa di HCC era 10 (2-25) mesi. In 4 pazienti, l'HCC è insorto in corso di trattamento antivirale. Come per la sopravvivenza, non sono state riscontrate significative differenze confrontando le curve di sviluppo di HCC dei pazienti anziani e di quelli giovani (Log Rank=0.197, p=0.657) (**Figura 9**).

Tra i 29 pazienti che aveva già avuto una pregresso HCC sottoposto a trattamento curativo prima di iniziare la terapia con DAA, 10 (34.5%) hanno presentato un recidiva neoplastica. Non sono state evidenziate differenze significative in base alle classi di età (Log Rank=0.190, p=0.663) (**Figura 10**).

In 17 su 153 (11.1%) pazienti senza storia di neoplasia epatica, è stato riscontrato un HCC nel corso del follow-up. Anche in questo caso non sono emerse significative differenze tra le due coorti di pazienti (Log Rank=1.975, p=0.160) (**Figura 11**).

La **Tabella 9** mostra i fattori predittori di sviluppo di HCC dopo l'inizio della terapia antivirale con DAA all'analisi univariata. All'analisi multivariata di Cox soltanto la storia di pregresso HCC rimane associata indipendentemente allo sviluppo di HCC post-trattamento antivirale [HR=3.538 (1.618-7.736), p=0.002].

Figura 9. Probabilità di sviluppo HCC nei pazienti con cirrosi trattati con DAA stratificata per età

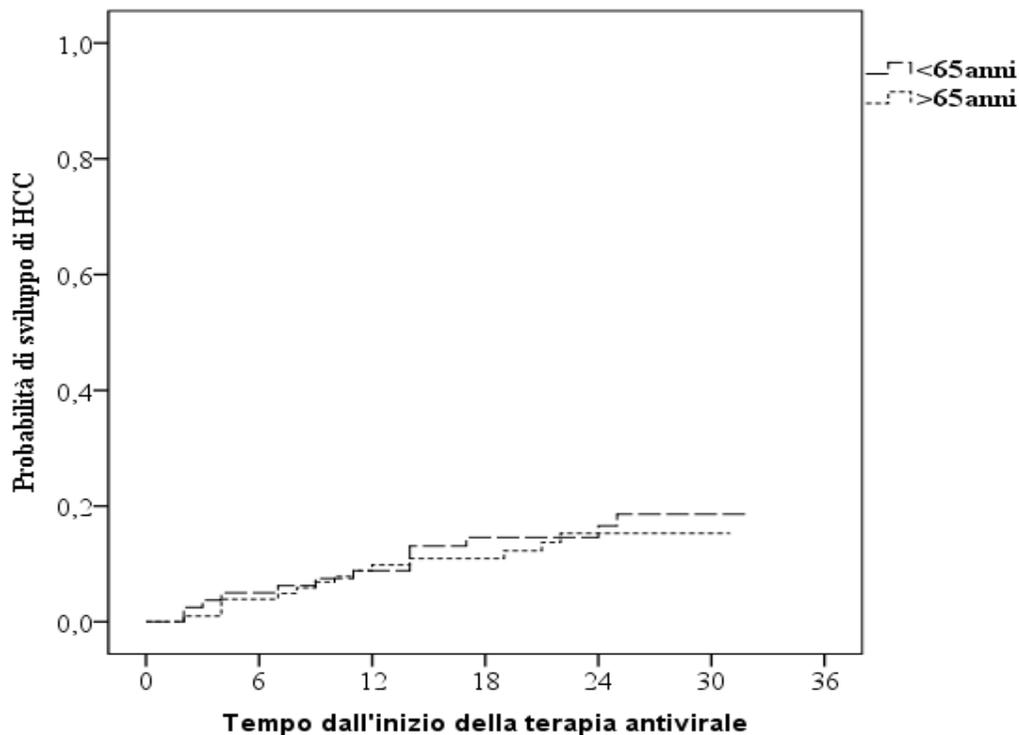


Figura 10. Probabilità di sviluppare un HCC de novo nei pazienti con cirrosi trattati con DAA senza storia di HCC stratificata per età

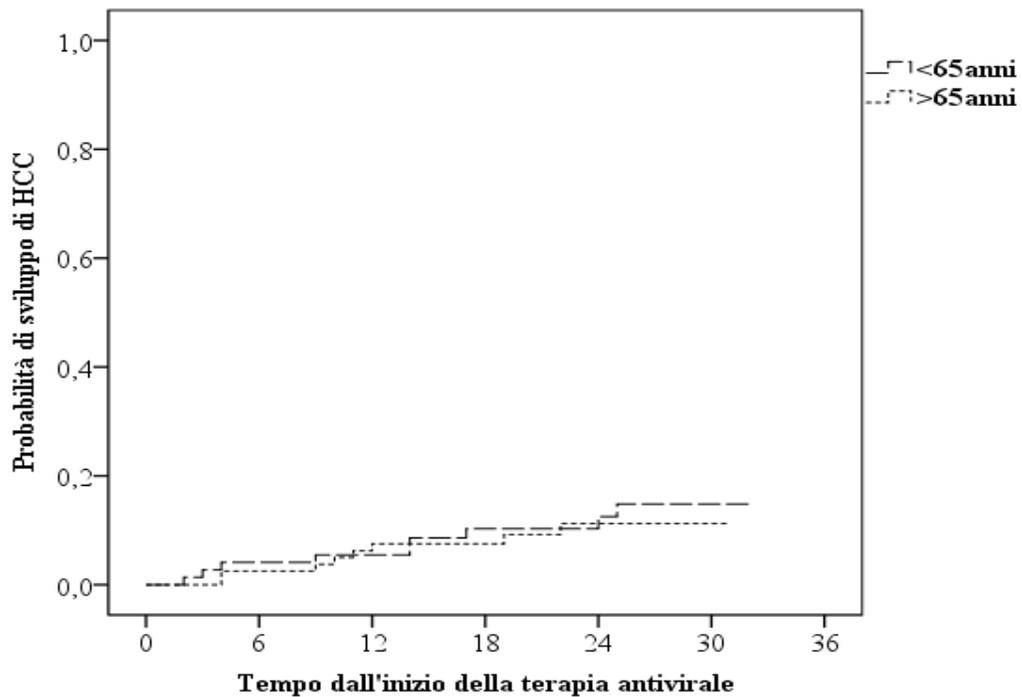


Figura 11. Probabilità di sviluppare una recidiva di HCC nei pazienti con cirrosi trattati con DAA con storia di HCC stratificata per età

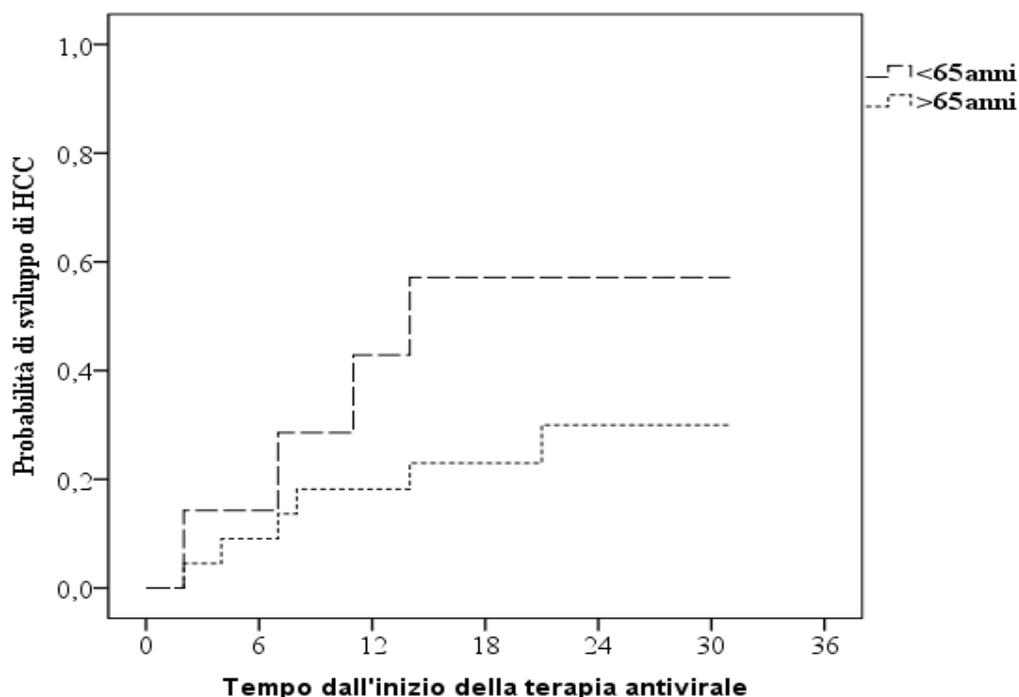


Tabella 9. Analisi univariata e multivariata dei fattori associati alla comparsa di HCC durante la terapia antivirale con DAA

Variabile	Analisi Univariata		Analisi Multivariata	
	OR	p	OR	p
Età: ≥ 65 vs < 65 anni	1.185 (0.557-2.522)	0.659		
Sesso: Femmina vs Maschio	1.420 (0.622-3.244)	0.405		
DMI: Sovrappeso/obeso vs Normopeso	0.692 (0.325-1.472)	0.339		
Genotipo: 1b vs non 1b	0.696 (0.326-1.487)	0.350		
HCC pregresso: Si vs No	3.563 (1.630-7.787)	0.001	3.538 (1.618-7.736)	0.002
Diabete: Si vs No	0.775 (0.339-1.772)	0.546		
CTP: B vs A	2.337 (0.941-5.804)	0.067		
Precedente Recidiva di HCC: Si vs No	0.827 (0.219-3.120)	0.779		
Risposta terapia: Relapser vs SVR	1.829 (0.433-7.729)	0.411		

DISCUSSIONE

In questo studio sono state analizzate le caratteristiche epidemiologiche, cliniche e virologiche dei pazienti con epatopatia cronica HCV-relata ed attiva replicazione virale afferenti ad un centro epatologico di terzo livello italiano. La maggior parte dei pazienti aveva un'età ≥ 65 anni, un'infezione HCV genotipo 1b ed una malattia epatica avanzata confermando i dati epidemiologici dell'infezione HCV in Italia.

Come atteso, tenendo in considerazione i criteri AIFA di trattamento vigenti al momento dello studio, sono stati avviati al trattamento antivirale con DAA soprattutto i pazienti con cirrosi in buon compenso funzionale e la maggior parte dei pazienti con età ≥ 65 anni non candidabili a trattamenti basati sull'utilizzo di IFN.

Rispetto ai pazienti più giovani, gli anziani trattati avevano maggiore prevalenza di malattia epatica avanzata, spesso con storia di pregresso HCC ed erano più frequentemente naive alla terapia antivirale. In Italia, la maggior parte dei pazienti anziani ha un'infezione da HCV genotipo-1b o 2 e questo si conferma anche nella nostra coorte di pazienti [8-12]. Questa distribuzione epidemiologica ha condizionato la scelta degli schemi di trattamento con DAA nella nostra coorte.

Tutti i trattamenti sono stati generalmente ben tollerati. Nessun paziente è deceduto durante la terapia antivirale. Un solo paziente ha interrotto il trattamento a causa di EA non strettamente legati alla terapia. Gli EAS sono stati osservati in circa il 3% dei pazienti, senza differenze in base all'età, spesso secondari all'evoluzione della patologia epatica in sé piuttosto che alla terapia antivirale. L'anemia è risultata più frequente nella coorte di pazienti di età ≥ 65 anni (che avevano comunque valori di emoglobina al basale significativamente più bassi rispetto ai più giovani). Questa era soprattutto dovuta

all'azione emolizzante esercitata dalla RBV ma non ha rappresentato di per sé un ostacolo alla conclusione del trattamento grazie al monitoraggio costante dell'emocromo ed alla pronta messa in atto delle misure di supporto (riduzione della dose o interruzione della somministrazione di RBV). L'iperbilirubinemia, peraltro poco frequente, è stata ben tollerata nella maggior parte dei pazienti, non ha richiesto l'interruzione prematura del trattamento risolvendosi entro poche settimane dopo il termine della terapia.

Gli EA più comuni sono risultati l'astenia e le manifestazioni cutanee (prevalentemente legate all'utilizzo di RBV) e corrispondevano a quelli riportati sia negli studi registrativi [39] che in altri studi di real-life [44-49]. L'assenza dell'IFN ha permesso di eliminare gli EA a questo legati, come ad esempio la febbre e le artralgie, e di ridurre sensibilmente i disturbi del tono dell'umore. Età ≥ 65 anni, utilizzo di RBV e durata del trattamento >12 settimane sono risultati i fattori significativamente associati alla comparsa di EA. E' verosimile che nell'immediato futuro l'introduzione dei nuovi schemi di trattamento caratterizzati dall'assenza di RBV e da durata più breve (fino a 8 settimane) possa ulteriormente semplificare la terapia, aumentando l'aderenza alla stessa e riducendone la tossicità.

Come negli studi registrativi [26-35], i tassi di SVR sono risultati elevati nell'intera popolazione. Soltanto 9 pazienti hanno presentato una relapse virologica: erano pazienti con epatopatia avanzata ($\geq F3$), non responsivi a precedenti trattamenti IFN-based e trattati con schemi terapeutici ormai non più utilizzati (come la combinazione SOF+SMV e SOF+RBV). Non sono state riscontrate sostanziali differenze in termini di SVR in base all'età con ottime risposte anche nella popolazione di età ≥ 75 anni confermando quanto precedentemente riportato in altre casistiche internazionali [44-49]. Tali dati si sono

confermati anche dopo aver stratificato la popolazione in base al genotipo virale e allo stadio di fibrosi. Nella coorte di pazienti anziani, non sono state osservate significative differenze neppure stratificando la popolazione in base a severità di malattia (classe di CTP e MELD) e storia di HCC pregresso che, come riportato in recenti studi, sembra ridurre la percentuale di risposta al trattamento. Come precedentemente segnalato, SOF+SMV±RBV e SOF+RBV sono risultati gli schemi di trattamento meno efficaci con SVR12 attorno al 90%. Attualmente però questi farmaci non sono più in commercio. Tutti i pazienti trattati con SOF+LDV±RBV, SOF+DCV±RBV e 2D±RBV (nel genotipo 4) hanno ottenuto una SVR12. Molto elevati anche i tassi di risposta nei pazienti trattati con 3D±RBV. Anche questi farmaci sono destinati ad essere abbandonati sostituiti da schemi terapeutici che prevedono l'utilizzo di farmaci pangenotipici, di durata più breve e non associati a RBV.

Durante follow-up, nessun evento (morte e/o complicanze epatiche) è stato osservato nei pazienti non cirrotici. Nei pazienti con cirrosi, la sopravvivenza è stata sostanzialmente sovrapponibile tra anziani e giovani e solo in due casi il decesso era legato a complicanze della malattia epatica. Non è ancora chiaro se la risposta virologica indotta da DAA sia associata ad una riduzione del rischio di HCC. Potrebbe sembrare ragionevole aspettarsi che l'eradicazione dell'HCV riduca il rischio di HCC prevenendo o facendo regredire la cirrosi, o eliminando qualsiasi effetto cancerogeno dell'HCV. Tuttavia, studi recenti [50-51] hanno riportato un aumento dei tassi di sviluppo di HCC nei pazienti trattati con DAA sospettando una disgregazione della risposta antitumorale in seguito alla rapida diminuzione della carica virale dell'HCV indotta dai DAA. Ad oggi, i dati della letteratura in merito sono contrastanti [52-54].

Un recente studio retrospettivo spagnolo [50] ha riportato un tasso di recidiva neoplastica inaspettatamente alto (27.6% dopo un follow-up mediano di 5.7 mesi) in 58 pazienti con storia di HCC sottoposto a trattamento curativo prima dell'inizio del trattamento antivirale.

Al contrario, uno studio di coorte prospettico francese [52] ha riscontrato un rischio di recidiva di HCC simile tra i 189 pazienti che hanno ricevuto DAA ed i 78 pazienti non trattati. Infine, uno studio italiano [51] ha riportato che dopo la terapia con DAA, 9/285 pazienti con cirrosi senza precedente HCC hanno sviluppato un HCC de novo durante il follow-up di 24 settimane, mentre 17/59 pazienti con HCC precedente avevano presentato una recidiva neoplastica.

Nella nostra coorte, l'insorgenza di HCC è stata documentata in circa il 15% dei pazienti senza significativa differenza tra i due gruppi di età. Tra i fattori predittivi di sviluppo di HCC dopo l'inizio della terapia antivirale, soltanto la storia di pregresso HCC rimaneva associata indipendentemente. Nell'intera coorte, i tassi di sviluppo di HCC a 6, 12 e 24 mesi dall'inizio della terapia con DAA erano rispettivamente del 4.4%, 9.9% e 24.8%.

In 17 su 153 (11.1%) pazienti senza storia di neoplasia epatica, è stato riscontrato un HCC nel corso del follow-up. I tassi di sviluppo di HCC de novo sono risultati del 3.3%, 11.2% e 18.9% a 6, 12 e 24 mesi.

Tra i 29 pazienti che aveva già avuto un pregresso HCC sottoposto a trattamento curativo prima di iniziare la terapia con DAA, 10 (34.5%) hanno presentato un recidiva neoplastica. I tassi di recidiva di HCC sono risultati del 10.3%, 25% e 52.6% a 6, 12 e 24 mesi. Questi dati sono sovrapponibili a quelli riportati in una coorte di pazienti simili trattati nella regione Sicilia [53].

Poiché tale studio non era stato disegnato per valutare tale dato, vista la mancanza di un protocollo di monitoraggio di sorveglianza standardizzato, tali risultati devono essere interpretati con cautela. Tuttavia, possiamo concludere che i pazienti con cirrosi restano ad aumentato rischio di HCC anche dopo l'eradicazione dell'infezione HCV ed è fondamentale proseguire un regolare monitoraggio delle complicanze epatiche anche dopo aver ottenuto la SVR.

In conclusione, il trattamento antivirale con DAA ha mostrato tasso di SVR elevato nei pazienti anziani, compresi quelli di età ≥ 75 anni, e simile ai pazienti più giovani. Il dato di SVR si conferma anche nei pazienti cirrotici, indipendentemente da età, severità di malattia e storia di HCC. Il profilo di sicurezza dei DAA è risultato buono. Età, durata di trattamento e utilizzo di RBV hanno influenzato la comparsa di EA. E' verosimile che l'introduzione di nuovi schemi di trattamento possa migliorarne ulteriormente la tollerabilità. Sulla base di queste evidenze, non vi sono motivi per negare ai pazienti anziani il trattamento con DAA utilizzando l'età anagrafica come unico criterio per l'esclusione dal trattamento. Resta comunque fondamentale un'attenta valutazione del paziente volta ad individuare la presenza di gravi comorbidità che possano influenzarne l'aspettativa di vita a breve termine del paziente e/o il rischio di gravi interazioni tra farmaci.

L'eradicazione dell'HCV ha portato benefici alla sopravvivenza dei pazienti ma non sembra tuttavia annullare il rischio a breve termine di sviluppare HCC dopo la terapia antivirale. Un follow-up più lungo di questa coorte potrà fornirci in futuro utili informazioni sull'impatto a lungo termine del trattamento con DAA sia sulla sopravvivenza che sull'insorgenza di HCC.

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Screening, Care and Treatment of Persons with Hepatitis C Infection (Update). WHO: Geneva, Switzerland 2016, pp 138
2. Afdhal NH. The natural history of hepatitis C. *Semin Liver Dis* 2004;24:3-8
3. Zignego AL, Craxi A. Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 2008;12:611-636
4. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* 2006;144(10):705-714
5. Muhlberger N, Schwarzer R, Lettmeier B et al. HCV-related burden of disease in Europe: a systematic assessment of incidence, prevalence, morbidity and mortality. *BMC Public Health* 2009;9:34
6. Deuffic-Burban S, Deltenre P, Buti M et al. Predicted effects of treatment for HCV infection vary among European countries. *Gastroenterology* 2012;143(4):974-985
7. Fabris P, Baldo V, Baldovin T et al. Changing epidemiology of HCV and HBV infections in Northern Italy. A survey in the general population. *J Clin Gastroenterol* 2008;42(5):527-532
8. Stroffolini T, Menchinelli M, Taliani G et al. High prevalence of hepatitis C virus infection in a small central Italian town: lack of evidence of parenteral exposure. *Ital J Gastroenterol*, 1995;27(5):235-238

9. Guadagnino V, Stroffolini T, Rapicetta M et al. Prevalence, risk factors and genotype distribution of hepatitis C virus infection in the general population: a community-based survey in Southern Italy. *Hepatology* 1997;26(4):1006-1011
10. Di Stefano R, Stroffolini T, Ferraro D et al. Endemic hepatitis C virus infection in a Sicilian town: further evidence for iatrogenic transmission. *J Med Virol* 2002;67(3):339-344
11. Maio G, D'Argenio P, Stroffolini T et al. Hepatitis C virus infection and alanine transaminase levels in the general population: a survey in a southern Italian town. *J Hepatol* 2000;33(1):116-120
12. Gramenzi A, Conti F, Cammà C et al. Hepatitis C in the elderly: a multicentre cross-sectional study by the Italian Association for the Study of the Liver. *Dig Liver Dis* 2012;44(8):674-680
13. Marcellin P, Asselah T, Boyer N et al. Fibrosis and disease progression in hepatitis C. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S47-56
14. Poynard T, Ratziu V, Benmanov Y et al. Fibrosis in patients with chronic hepatitis C: detection and significance. *Semin Liver Dis* 2000;20(1):47-55
15. Bruno S, Stroffolini T, Colombo M et al. Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective study. *Hepatology* 2007;45:579-587
16. Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med* 2007;147:677-684

17. Smith-Palmer J, Cerri K, Valentine W. Achieving sustained virologic response in hepatitis C: a systematic review of the clinical, economic and quality of life benefits. *BMC Infect Dis.* 2015;15:19
18. Webster DP, Klenerman P, Dusheiko GM. Hepatitis C. *Lancet*, 2015;385(9973):1124-1135
19. EASL. 2011 European Association of the Study of the Liver hepatitis C virus clinical practice guidelines. *Liver Int.* 2012;32 Suppl 1:2-8
20. Zeuzem S, Andreone P, Pol S et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 2011;364:2417-2428
21. Jacobson M, McHutchison J, Dusheiko G et al. Telaprevir for Previously Untreated Chronic Hepatitis C Virus Infection. *N Engl J Med* 2011;364:2405-2416
22. Poordad F, McCone J, Bacon B et al. Boceprevir for Untreated Chronic HCV Genotype 1 Infection. *N Engl J Med* 2011;364:1195-1206
23. Bacon B, Gordon S, Lawitz E et al. Boceprevir for Previously Treated Chronic HCV Genotype 1. *N Engl J Med* 2011;364:1207-1217
24. Asselah T, Boyer N, Saadoun D et al. Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int* 2016;36 (Suppl.S1):47-57
25. Gruppo multidisciplinare sui farmaci per l'epatite C cronica della Regione Emilia-Romagna. Documento di indirizzo per la definizione delle strategie terapeutiche da applicare sul breve termine per: Antivirali diretti nella terapia dell'epatite C cronica. Ottobre 2017 <http://salute.regione.emilia-romagna.it>

26. Gane EJ, Stedman CA, Hyland RH et al. Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C. *N Engl J Med* 2013;368:34-44
27. Manns M, Marcellin P, Poordad F et al. Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2014;384:414-426
28. Huisman MT, Snoeys J, Monbaliu J et al. In vitro studies investigating the mechanism of interaction between TMC435 and hepatic transporters. *Hepatology* 2010;52:461A
29. Hezode C, Hirschfield GM, Ghesquiere W et al. Daclatasvir plus peginterferon alfa and ribavirin for treatment-naive chronic hepatitis C genotype 1 or 4 infection: a randomised study. *Gut* 2015;64(6):948-956
30. Zeuzem S, Hezode C, Bronowicki JPP et al. Daclatasvir plus simeprevir with or without ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C virus genotype 1 infection. *J Hepatol.* 2016;64(2):292-300
31. Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M et al. Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2014;370:211-221
32. Keating GM. Ledipasvir/Sofosbuvir: a review of its use in chronic hepatitis C. *Drugs* 2015;75:675-685
33. Feld JJ, Kowdley KV, Coakley E et al. Treatment of HCV with ABT-450/rombitasvir and dasabuvir with ribavirin. *N Engl J Med* 2014;370:1594-1603

34. Poordad F, Hezode C, Trinh R et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin for hepatitis C with cirrhosis. *N Engl J Med* 2014;370:1973-1982
35. Ferenci P, Bernstein D, Lalezari J et al. ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with or without ribavirin for HCV. *N Engl J Med* 2014;370:1983-1992
36. Cornberg M, Razawi HA, Alberti A et al. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Europe, Canada, and Israel. *Liv Int* 2011;31(suppl 2):30-60
37. Smith BD, Morgan RL, Beckett GA et al. Hepatitis C virus testing of persons born during 1945–65: Recommendations from the centers for disease control and prevention. *Ann Intern Med* 2012;157:817-822
38. El-Serag HB, Kramer J, Duan Z et al. Epidemiology and outcomes of hepatitis C infection in elderly US veterans. *J Viral Hep* 2016;9:687-696
39. Saab S, Prk SH, Mikozi M, et al. Safety and efficacy of ledipasvir/sofosbuvir for the treatment of genotype 1 hepatitis C in subjects aged 65 years or older. *Hepatology* 2016;63:1112-1119
40. Bedossa P, Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1996;24(2):289-293
41. Ziol M, Handra-Luca A, Kettaneh A et al. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005;41:48-54
42. <http://www.agenziafarmaco.gov.it>
43. AISF. Documento di indirizzo dell'associazione italiana per lo studio del fegato per l'uso razionale dei farmaci anti-hcv disponibili in Italia. <http://www.webaisf.org>

44. Pellicelli AM, Pace Palitti V, Vignally P et CLEO Group. Efficacy and safety of sofosbuvir/simeprevir plus flat dose ribavirin in genotype 1 elderly cirrhotic patients: A real-life study. *Liver Int* 2017;37(5):653-661
45. Vermehren J, Peiffer KH, Welsch C et al. The efficacy and safety of direct acting antiviral treatment and clinical significance of drug-drug interactions in elderly patients with chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;44:856-865
46. Ogawa E, Furusyo N, Nomura H et Kyushu University Liver Disease Study (KULDS) Group. Effectiveness and safety of sofosbuvir plus ribavirin for HCV genotype 2 patients 65 and over with or without cirrhosis. *Antiviral Res* 2016;136:37-44
47. Ogawa E, Furusyo N, Yamashita N et Kyushu University Liver Disease Study (KULDS) Group. Effectiveness and safety of daclatasvir plus asunaprevir for HCV genotype 1b patients aged 75 and over with or without cirrhosis. *Hepatol Res* 2017;47(3):E120-E131
48. Morio R, Imamura M, Kawakami Y et al. Safety and efficacy of dual therapy with daclatasvir and asunaprevir for older patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2017;52(4):504-511
49. Toyoda H, Kumada T, Tada T et al. Efficacy, tolerability and benefits of an IFN-free regimen with DCV/ASV for extremely aged patients infected with HCV genotype 1B. *J Hepatol* 2017;66(3):521-527

50. Reig M, Marino Z, Perello C et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *J Hepatol* 2016;65(4):719-722
51. Conti F, Buonfiglioli F, Scuteri A, et al. Early occurrence and recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV-related cirrhosis treated with direct-acting antivirals. *J Hepatol* 2016;65:727-733
52. ANRS collaborative study group on hepatocellular carcinoma. Lack of evidence of an effect of direct-acting antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: Data from three ANRS cohorts. *J Hepatol* 2016;65:734-740
53. Cabibbo G, Petta S, Calvaruso V, et al. Is early recurrence of hepatocellular carcinoma in HCV cirrhotic patients affected by treatment with direct-acting antivirals? A prospective multicentre study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;46(7):688-695
54. Ioannou GN, Green PK, Berry K. HCV eradication induced by direct-acting antiviral agents reduces the risk of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2017 [Epub ahead of print]