UNIVERSIDAD DEL ZULIA
Serbiluz
Sistema de Servicios Bibliotecarios y de Información
Biblioteca Digital
Repositorio Académico

Invest Clin 57(1): 93 - 107, 2016

Presente y futuro de la terapia contra la hepatitis C.

Rossana C Jaspe[1], Joseph Ortega[1], José L Zambrano[2] y Flor H Pujol[1]

[1] Laboratorio de Virología Molecular y [2] Laboratorio de Biología de Virus, Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela.

Palabras clave: hepatitis C; terapia; antivirales de acción directa; blancos celulares.

Resumen. Un 3% de la población mundial está infectado por el virus de la hepatitis C (VHC). Un 70-80% de los individuos infectados desarrollan una infección crónica. No se dispone de una vacuna contra la hepatitis C y aproximadamente 50% de los pacientes infectados no responden a la terapia estándar basada en la combinación de interferón-alfa (IFN-α) y ribavirina. Recientemente se han hecho disponibles drogas antivirales de acción directa contra el VHC, que representan una mejora significativa en el éxito terapéutico. En el 2014, la agencia reguladora de drogas y alimentos de Estados Unidos (de sus siglas en inglés FDA), aprobó el uso de ledipasvir más sofosbuvir para el tratamiento crónico de la infección, siendo el primer régimen aprobado que no requiere la administración de IFN-α ó ribavirina. Estos avances hacen esperar la erradicación de esta enfermedad, si no fuera por los altos costos asociados al tratamiento. Una alternativa emergente es la terapia enfocada a la inhibición de blancos celulares que intervienen en la infección por el VHC. Esta terapia podría aumentar tanto el número de opciones para la terapia como la barrera genética para la selección de variantes virales resistentes. El tratamiento de la hepatitis C podría llevar al uso de la terapia enfocada en blancos celulares en combinación con la terapia tradicional, esperando un posible efecto sinérgico.

.

Autor de correspondencia: Flor H Pujol. Laboratorio de Virología Molecular, Centro de Microbiología y Biología Celular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Apdo 20632, Caracas 1020-A, Venezuela. Telf/Fax: +58-212-5041623. Correo electrónico: fhpujol@gmail.com

www.nitropdf.com

Present and future of therapy against hepatitis C.

Invest Clin 2016; 57(1): 93 - 107

Key words: hepatitis C; therapy; direct acting antivirals; cellular targets.

Abstract. Around 3% of the human population is infected with hepatitis C virus (HCV) and 70-80% of these individuals develop a chronic infection. There is no vaccine available against HCV and up to 50% of the infected patients do not respond to standard therapy, based on the combination of interferon-alpha (IFN-α) and ribavirin. Recently, direct acting antiviral drugs against HCV have been made available for treatment, leading to a significant improvement in therapeutic success. In 2014, the U.S. Food and Drug Administration approved ledipasvir plus sofosbuvir to treat the chronic infection, the first IFN- and ribavirin-free approved treatment. With such treatment, the eradication of the disease would be feasible, although drug costs are high. Host target therapy represents an emerging alternative, based on the understanding of host factors involved in the HCV infection. This therapy might show at least two theoretical benefits, increasing the number of options for therapy and raising the genetic barrier for selection of resistant variants. New treatment regimens may consist of classical therapy combined with host target-based therapy, hopefully in a synergistic manner.

Recibido: 24-04-2015 Aceptado: 17-07-2015

INTRODUCCIÓN

La hepatitis C afecta alrededor de 170 millones de personas en el mundo. Un 80% de las personas infectadas por el virus de hepatitis C (VHC) se convierten en portadores crónicos de la infección, con secuelas graves como cirrosis y carcinoma hepatocelular (1). No se dispone de vacuna contra este virus y el tratamiento actual es sólo parcialmente efectivo. Recientemente se han incorporado drogas antivirales de acción directa con el VHC, lo cual ha sido un avance significativo en el éxito terapéutico. Varios blancos de acción antiviral están siendo actualmente explorados y éstos podrían conllevar a la erradicación de esta enfermedad, si no fuera por el alto costo asociado a estos tratamientos emergentes (2). Esta revisión pretende describir el estado del arte del tratamiento contra la hepatitis C y explorar los nuevos potenciales tratamientos antivirales, incluyendo la terapia enfocada a blancos celulares.

Epidemiología de la hepatitis C

Aproximadamente 170 millones de personas (3% de la población mundial) se encuentran infectadas con el VHC. Cada año más de 350.000 personas mueren por enfermedades del hígado relacionadas a la infección por VHC, inclusive el carcinoma hepatocelular (3). En países de África y Asia se ha reportado una alta prevalencia de anticuerpos anti-VHC, mientras que en Norte América, Europa occidental y Australia la prevalencia es baja (4). En Latinoamérica cerca de 7 millones de personas están infectadas con este virus y la prevalencia promedio de anticuerpos anti-VHC es aproximadamente del 1% (5).

Las poblaciones en riesgo de adquirir la infección por el VHC son los usuarios de drogas por vía endovenosa, las personas expuestas a transfusiones sanguíneas, los pacientes en hemodiálisis y las poblaciones bajo condiciones especiales como los inmunosuprimidos, entre otros (6). La principal medida de prevención ha sido enfocada en evitar el contagio de las

www.nitropdf.com

poblaciones de alto riesgo, dado que hasta la fecha no existe vacuna contra el VHC (4).

Ciclo de replicación del VHC

La replicación del VHC ocurre principalmente en el citoplasma de los hepatocitos (Fig. 1). Los viriones se unen a las células hospedadoras a través de una interacción específica entre las glicoproteínas de la envoltura del VHC y glicosaminoglicanos presentes en la membrana celular, al permitir concentrar el virus en una primera etapa de adhesión (7). La interacción del VHC con los receptores celulares es un proceso complejo y se han propuesto diversos receptores que intervienen en el mismo. Uno de ellos es el receptor de lipoproteínas de baja densidad que se ha descrito como un correceptor en la entrada del virus (8). Posteriormente, el VHC interacciona con el receptor "scanvenger" B1 (SR-B1), la tetraspanina CD81 y las proteínas de las uniones estrechas: claudina-1 y ocludina (9). El receptor del factor de crecimiento epidermal y el receptor "ephrin" A2, regulan la asociación co-receptora CD81-claudina-1 y la fusión a la membrana dependiente de la glicoproteína del virus (10). Luego del proceso de unión-adhesión, los viriones son internalizados vía endocitosis dependiente de clatrina, donde ocurren cambios conformacionales en la membrana viral que permiten la liberación del genoma al citoplasma (11).

Fig. 1. Ciclo de replicación y representación esquemática de las proteínas del virus de la hepatitis C (VHC). A) Las partículas virales interactúan con al menos cuatro receptores en la superficie del hepatocito y posteriormente son internalizadas por endocitosis dependiente de clatrina. La acidificación en el endosoma conlleva a la fusión de las membranas virales y celulares, con la consecuente liberación del genoma viral al citoplasma. El ARN viral liberado es traducido por los ribosomas celulares en 10 proteínas que junto a factores celulares forman el complejo de replicación en una red membranosa. El ARN genómico es encapsidado en las nucleocápsides y adquiere las glicoproteínas de envoltura por su migración a través de retículo endoplasmático (RE). Las partículas virales resultantes son liberadas a través de la vía de secreción celular. Las gotas de lípidos citoplasmáticas sirven como plataforma de ensamble y exporte de las partículas virales. B) Se muestran las 10 proteínas virales formando parte de complejo de replicación en la membrana del RE. Las proteínas no estructurales (Core, E1 y E2) forman parte de la partícula viral, p7 y NS2 podrían estar involucradas en la formación de la partícula infecciosa, y las proteínas no estructurales (NS3 complejo helicasa/proteasa, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B ARN polimerasa) junto a factores del hospedero, forman el complejo de replicación.

www.nitropdf.com

El ARN viral liberado se traduce directamente, dando lugar a una poliproteína que es procesada por proteasas celulares y virales, para generar 10 proteínas virales maduras. Las proteínas virales junto a factores celulares forman un complejo de replicación, asociado a una red de membranas intracelulares, localizado cerca del retículo endoplasmático (RE). Dentro de este complejo, el ARN de polaridad positiva es copiado a un ARN complementario de polaridad negativa, que sirve de molde para la síntesis de la progenie de ARN genómico. Este ARN genómico es utilizado para la traducción de poliproteínas, para la síntesis de nuevos intermediarios de replicación o para ser encapsidado dentro de las nucleocápsides formadas en el citoplasma. Posteriormente adquiere las glicoproteínas de la envoltura a través del proceso de migración por el RE, siendo liberadas a través de la vía de secreción celular (11).

Terapia antiviral estándar y antivirales de acción directa

La agencia reguladora de drogas y alimentos de Estados Unidos (de sus siglas en ingles FDA), ha aprobado aproximadamente 50 compuestos y sus combinaciones para su uso en la terapia antiviral. Sin embargo, en años recientes la demanda por nuevas estrategias antivirales ha aumentado, impulsado por el incremento en la prevalencia de enfermedades crónicas y a la aparición de nuevas patologías asociadas a agentes virales, en especial el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

En el caso de la hepatitis C, el tratamiento ha ido evolucionando desde la monoterapía con IFN a la biterapia utilizada en los últimos años, de IFN alfa pegilado (IFN-PEG) y ribavirina (RBV) (Fig. 2, Tabla I), obteniendo el control de la infección (basados en la no detección del ARN viral en el suero) en el 50% de los pacientes (18). En la actualidad el tratamiento varía dependiendo del genotipo (G) viral que infecte al paciente. Para los pacientes infectados con los G2, G3 y G4 consiste en la combinación de IFN-PEG más RBV, mientras que desde el 2011 a los pacientes infectados con el G1 se les incluye los inhibidores de la proteasa viral NS3/4A, telaprevir y boceprevir (Fig. 2, Tabla I). Con esta triple terapia (IFN-PEG y RBV, más telaprevir ó boceprevir) se ha obtenido una mayor respuesta antiviral y una disminución en la duración de la terapia en comparación con la administración de la terapia estándar, con tasas de respuesta virológica sostenida (RVS), de 67-75% (en pacientes sin tratamiento previo) y de 59-64% (en pacientes tratados previamente) (19). Aunque el telaprevir ha mostrado actividad clínicamente significativa contra el G2 (20) y G4 (21), y el boceprevir parece tener cierta eficacia contra el G3, hasta la fecha su uso está prescrito solamente para pacientes infectados con el G1.

Desde la aprobación de los inhibidores de proteasa de primera generación en el 2011, se ha impulsado la investigación para el desarrollo de nuevos fármacos de acción antiviral directa, enfocados en lograr una terapia libre de IFN. Actualmente se encuentran en estudios de fase clínica aproximadamente 25 fármacos, inhibidores de la NS5A, de la NS5B (inhibidores nucleósidos y no nucleósidos) y de la NS3/4A. En la Fig. 2 se muestran los fármacos de acción directa aprobados por la FDA (Administración de Medicamentos y Alimentos, FDA, por sus siglas en inglés) hasta la fecha y algunos de los que se encuentran actualmente en fase clínica.

Para noviembre del 2013, la FDA aceptó el uso de simeprevir en combinación con IFN-PEG y RBV (16). Este es el tercer inhibidor de proteasa aprobado hasta la fecha y es administrado únicamente en pacientes infectados con el G1 sin tratamiento previo o que hayan fallado a la terapia con IFN. Ha remplazado al telaprevir y boceprevir por ser una terapia más corta y presentar menos efectos secundarios.

Ese mismo año la FDA aprobó el sofosbuvir, un análogo nucleótido de la polimerasa NS5B, un fármaco potente con una excelente tolerabilidad por vía oral, actividad pan-genotípica y una alta barrera a la resistencia, el cual es administrado en regímenes combinados (17). Su eficacia ha sido comprobada en pacientes infectados con todos los genotipos del VHC, inclusive los que presentan carcinoma

www.nitropdf.com

Fig. 2. Desarrollo de las drogas utilizadas y a utilizar, contra el VHC. Se muestra en forma esquemática y cronológica las drogas aprobadas en el tratamiento contra la infección por el VHC, así como las drogas, con blancos celulares o virales, que se encuentran para la fecha en fase clínica III, II y I, que podrían ser utilizadas en un futuro cercano. IFN: interferon, PEG: pegilado, RBV: ribavirina, BCP: boceprevir, TLP: telaprevir, CypA: ciclofilina A. ViekiraPak contiene: ombitasvir (ABT-267), paritarevir (ABT-450), dasabuvir (ABT-333) y ritanavir. *Aprobado su uso en Estados Unidos de América, Canadá y la Unión Europea a inicios del 2014 (12).

www.nitropdf.com

TABLA I

TERAPIA ESTÁNDAR Y DE ACCIÓN DIRECTA CONTRA EL VHC.

Compuesto	Mecanismo de Acción	Dosis Recomendada
Interferón α 2a ó 2b pegilado (IFN-PEG)	La adición de moléculas de polietilenglicol, confiere un mayor tiempo de vida media y volumen de distribución que el del Interferón (INF) estándar. El estado antiviral está caracterizado por la expresión y actividad antiviral de los genes estimulados por el IFN. Esto incluye la disminución de la carga viral por la inhibición de la transcripción y traducción viral, además de la estimulación del sistema inmune innato por la inducción de genes que codifican citoquinas y proteínas antivirales, que conducen a la inhibición de la replicación viral (13).	Depende del subtipo del IFNα: 2a: 180μg/kg/7d 2b: 1-1.5μg/kg/7d Duración del tratamiento depende del genotipo viral infectante: G1: 48 semanas G2, 3 y 4: 24 semanas
Ribavirina (RBV) **1-ß-D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida**	Análogo triazol sintético de guanosina que no posee mecanismo de acción definido. Varios modos de acción se han propuesto: 1) El efecto inhibitorio directo sobre la ARN polimerasa viral, 2) Mutagénesis letal de los ácidos nucleicos virales, 3) El agotamiento intracelular del trifosfato de guanosina (GTP) mediado por la inhibición de la Inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), 4) La modulación del balance Th1/Th2 de los linfocitos T y 5) Discapacidad de la traducción por la inhibición de eIF4E (14).	1000 mg/Kg para pacientes con un peso < 75 kg 1200 mg/Kg para pacientes con un peso ≥ 75 kg
Telaprevir (Incivek; Vertex) **Boceprevir (Victrelis; Merck)** **Simeprevir (Olysio, Janssen)**	Son inhibidores covalentes de la serina proteasa NS3/4A del VHC al bloquear estéricamente el clivaje de la poliproteína del virus. Telaprevir y boceprevir son inhibidores lineares peptidomiméticos que incorporan un grupo cetoamide en el sitio activo de la enzima, formando un complejo covalente pero reversible con dicha proteasa, lo que conduce a una inhibición de la replicación viral intracelular (15). La actividad antiviral del simeprevir es mediado por una unión no covalente con la proteasa viral, actúa un inhibidor competitivo, reversible y macrocíclico. A pesar de ser activo contra todos los genotipos del VHC su uso esta recomendado para pacientes con G1 (16).	En combinación con IFN-PEG y RBV Teleprevir: 750mg/tres veces al día Boceprevir: 800mg/tres veces al día Simeprevir: 150mg/d/por 12 sem
Sofosbuvir (PSI-7977, Sovaldi, Glead Sciences)	Inhibidor nucleótido sencillo de la NS5B polimerasa. Es una prodroga de un inhibidor análogo del nucleótido uridina de la polimerasa. Tiene actividad contra todos los genotipos del VHC. Se ha recomendado su uso con INF-PEG y RBV ó RBV sola, y recientemente con inhibidores de proteasa (Simeprevir) ó con inhibidores de la NS5A (Daclatasvir ó Ledipasvir) (17).	400 mg/día/ con los alimentos G1 ó G4: en combinación con IFN-PEG y RBV/12 sem G2 ó G3: libre de IFN-PEG con RBV/12 sem ó 24 sem respectivamente G1: con Simeprevir/12 sem

www.nitropdf.com

hepatocelular. Se utiliza en pacientes infectados con G1 y G4 en combinación con IFN-PEG más RBV y en aquellos infectados con el G2 ó G3 es el primer tratamiento libre de IFN (Tabla I). Recientemente se ha aprobado su uso con inhibidores de proteasa (Noviembre 2014, simeprevir) ó con inhibidores de la NS5A (daclatasvir ó ledipasvir en Octubre 2014) (17). Al administrar sofosbuvir con daclastavir, un inhibidor específico de la proteína NS5A, con y sin RBV en 211 pacientes, de los cuales 167 estaban infectados con el G1, se obtuvo un 98% de RVS, y 92% y 89% para los pacientes infectados con el G2 y G3 respectivamente (22). Por otro lado, en fase III sofosbuvir en conjunto con ledipasvir (inhibidor de la NS5A) generaron una tasa de cura del 98% en pacientes infectados con el VHC que no había recibido tratamiento alguno. En el estudio "ION-1", se demostró que la combinación de ambos (sofosbuvir/ledipasvir) con o sin RBV, genera una tasa de RVS de 98% en pacientes infectados con VHC G1, en tan sólo 12 semanas, con una toma única oral, sin uso de IFN-α (23). Estos resultados clínicos fueron los que impulsaron su aprobación en octubre 2014, siendo el primer régimen terapéutico para el tratamiento crónico de la infección que no requiere la administración de IFN-α ó RBV (Tabla I).

A principios del año 2014, fueron publicados los resultados del estudio "SHAPPIRE-I", donde se evaluó la combinación de 4 drogas: un inhibidor de proteasa NS3/4A del VHC (ABT-450 ó paritaprevir), con el de la proteasa de VIH (ABT-450/r ó ritonavir), con un inhibidor de la NS5A (ABT-267 ó ombitasvir) y un inhibidor no nucleósido de la polimerasa (ABT-333 ó dasabuvir), con RBV, obteniéndose una tasa de RVS de 96%, en un grupo de 631 pacientes infectados con el G1 (24). Este tratamiento no es efectivo contra el G3 del VHC. A finales del 2014, la FDA aprobó esta combinación, denominada comercialmente ViekiraPak, con ó sin RBV, para pacientes infectados con G1 y la duración va de 12 a 24 semanas, dependiendo de la presencia o no de cirrosis (Fig. 2).

En contraste con enfermedades crónicas como la causada por el VIH y el virus de la hepatitis B, la causada por el VHC puede ser erradicada de los pacientes con infección crónica mediante el tratamiento con antivirales. Sin embargo, la terapia estándar tiene la desventaja de generar resultados variables en respuesta al tratamiento por factores relacionados al hospedador como la edad, el grado de fibrosis hepática, el índice de masa corporal, la esteatosis, la resistencia a la insulina, polimorfismos puntuales en el cromosoma 19 (IL-28B) y factores relacionados al virus como la carga viral y el genotipo (25), que junto a los efectos secundarios asociados pueden conducir al abandono de la misma. Por su parte, los nuevos regímenes terapéuticos son más seguros, tienen una alta eficacia y una baja tasa de aparición de efectos adversos (26), que podrían permitir la erradicación de esta enfermedad, si no fuera por los altos costos asociados al tratamiento y la eventual presencia de resistencia a los fármacos empleados.

Variabilidad genética y fallas en el tratamiento de la hepatitis C

El VHC posee una ARN polimerasa dependiente de ARN que carece de un mecanismo de corrección, que junto a la alta capacidad replicativa de este virus se traduce en una gran variabilidad genética. Dicha diversidad viral ha conllevado a lo largo de la historia evolutiva, a la diversificación del virus en genotipos y subtipos y durante la historia natural de la infección en un individuo a la generación de cuasiespecies, es decir variantes virales estrechamente relacionadas pero que pueden tener características fenotípicas distintas.

Hasta la fecha se han confirmado siete genotipos y 67 subgenotipos del VHC (27), cada uno con una distribución geográfica distinta. Los G1, G2 y G3 tienen distribución mundial y su prevalencia varía entre las regiones del mundo. El G1 predomina en Europa, las Américas y Japón, el G2 en los países del Mediterráneo y el Lejano Oriente, y el G3 es común en el subcontinente Indio y recientemente ha incrementado en Europa (28). Se ha encontrado que los genotipos del VHC poseen relevancia clínica y son un parámetro predictivo de la RVS al tratamiento. Los G1 y G4 responden en menor grado a la terapia basada en IFN al compararlos con los G2

www.nitropdf.com

y G3 mientras que los pacientes infectados con el G3 tienen más probabilidades de desarrollar esteatosis hepática y eventualmente carcinoma hepatocelular (29).

Se han descrito mutaciones en algunas de las regiones del genoma del VHC, como en la región de la cápside, NS3, NS5A y NS5B (Fig. 3), que han producido una disminución en la susceptibilidad o resistencia a los tratamientos actuales. En este sentido, es interesante tomar en cuenta nuevos blancos de acción, específicamente los de tipo celular, que podrían ser incorporados en los regímenes de tratamiento, bajo la premisa de aumentar la barrera genética de resistencia viral.

Terapia antiviral enfocada a blancos celulares

Los virus dependen de la célula blanco para replicarse de manera efectiva y comparten diversas vías metabólicas con su hospedador. Se han identificado diversos factores del hospedador que ejercen una función importante en el ciclo de replicación del VHC, como son: receptores celulares para la entrada del virus, vías de señalización moduladas para favorecer la replicación viral, procesamiento y maduración proteica para el ensamblaje y la secreción viral, entre otros. Plantear la inhibición de blancos celulares en la terapia antiviral es hacer una especulación rápida que cuestiona el paradigma tradicional de la misma,

Fig. 3. Principales mutaciones en las proteínas del VHC que confieren resistencia a las drogas. En los cuadros se señalan las mutaciones correspondientes a cada proteína, resaltando en rojo la principal*. IFN: interferon, RBV: ribavirina, TLP: telaprevir, BCP: boceprevir, DCT: daclatasvir, ASP: asunaprevir, AN: análogos de nucleótido, INN: inhibidores no-nucleósidos, bajo y alto nivel se refiere al nivel de resistencia. Referencias por región del genoma: Core y NS5B (30); NS3 (31,32); NS5A (33).

www.nitropdf.com

que ha sido enfocado en la premisa de la toxicidad selectiva "los fármacos deben estar dirigidos al blanco viral". Aunque el enfoque de inhibir blancos celulares puede representar un avance interesante, no todos los blancos celulares relacionados con el proceso de replicación viral serían candidatos para su inhibición, ya que podría interferir con funciones vitales del hospedador o son blancos para los cuales no se ha descrito un fármaco inhibitorio. A continuación se describen algunos blancos celulares que han sido considerados como potenciales dianas para la inhibición de la replicación del VHC y sus respectivos compuestos inhibidores (Fig. 4) (34-39).

Inhibidores de la entrada y etapas tempranas

Como fue discutido anteriormente, la entrada del VHC a los hepatocitos es un proceso de múltiples etapas donde las glicoproteínas virales interactúan con diversos receptores. Existen evidencias de que el VHC induce la activación del receptor del factor de crecimiento epidermal (EGFR) mediado por la unión con CD81, siendo un paso clave para la entrada viral. El bloqueo por fármacos como el erlotinib, utilizado actualmente en la terapéutica del cáncer, es capaz de inhibir la activación del EGFR y genera un efecto inhibitorio sobre la entrada del VHC en modelos *in vitro* (10).

Fig. 4. Blancos celulares de las drogas contra el VHC. De estas drogas solo el alisporivir (inhibidor de la ciclosporina A, CypA) se encuentra en fase clínica III, los demás están en fase I o II. Referencias de los compuestos que no están incluidos en el texto: amiodarona (34), geldamicina (35), quercitina (36), epicatequina (37), NA808 (38).

www.nitropdf.com

En el año 2012 Zhu y col. (40), describieron la actividad antiviral de pequeñas moléculas antagonistas del receptor SR-BI, capaces de inhibir *in vitro* la replicación del VHC. El mecanismo de acción planteado involucra el bloqueo de la entrada del virus a la célula blanco, encontrándose actualmente el compuesto ITX-5061 en estudios de fase clínica I. Se ha encontrado que péptidos humanos derivados de la apolipoproteína E (apoE) también son capaces de bloquear la entrada del VHC en modelos *in vitro* en concentraciones submicromolares (41).

Se ha evaluado bloquear las etapas tardías de la entrada del virus, principalmente las relacionadas con endosomas-lisosomas. Compuestos como la sibilina generan una inhibición de la entrada viral a través del bloqueo de la vía endocítica asociada a clatrina (42). Chamoun-Emanuelli y col. en el año 2013 (43) identificaron compuestos derivados de fenotiazina que inhiben la entrada del VHC, a través de una disrupción de los dominios ricos en colesterol presentes en la membrana de la célula blanco. Asimismo, compuestos como la cloroquina y el cloruro de amonio generan una inhibición en el cambio conformacional y procesamiento enzimático de las proteínas virales dentro de los lisosomas (44).

El uso de inhibidores de la entrada del VHC dirigidos contra los receptores de la célula hospedera representa una opción terapéutica prometedora. El bloqueo farmacológico de varios receptores podría generar un efecto sinérgico en la inhibición y un menor desarrollo de resistencia. El desafío farmacológico consiste en que ese bloqueo simultáneo genere el menor efecto negativo sobre la homeostasis celular.

Inhibidores de la replicación

La inhibición de la síntesis del ARN viral es otro blanco, que de hecho probablemente ya es abordado con el uso RBV, la cual genera una disminución de la concentración intracelular de guanosina trifosfato (GTP), como se ha descrito anteriormente (Tabla I). Se encuentra actualmente en evaluación el compuesto denominado A3, de bajo peso molecular, que ha demostrado inhibir la deshidrogenasa dihidroorotato (DHODH), enzima clave en la síntesis de uridín monofosfato, observándose *in vitro*, un efecto sobre el VHC (45).

Los avances en la farmacología genética han impulsado el desarrollo de compuestos que protegen a los oligonucleótidos de la acción de nucleasas y facilitan su transporte a las células blanco. Los microARN (miARN) están constituidos por ARN de cadena simple con una extensión de entre 19 a 25 nucleótidos y tienen la capacidad de regular la expresión de genes. El bloqueo de miARN asociados a la expresión génica viral a través de oligonucleótidos antisentido ha generado resultados promisorios. El miravirsen, prototipo de fármaco dirigido contra miARN, actualmente se encuentra en estudios de fase clínica 2. Este fármaco fue diseñado para el tratamiento de la infección por el VHC y su mecanismo de acción se basa en el bloqueo del miARN miR122, el cual está presente en las células hepáticas y es un factor clave para que se lleve a cabo la replicación del VHC (46).

Inhibidores de las modificaciones post-traduccionales de proteínas virales

Las ciclofilinas son enzimas celulares, específicamente peptidil-prolil isomerasas, que catalizan la isomerización de los enlaces peptídicos de los residuos de prolina de la configuración *trans* a las *cis*, facilitando el plegado de la proteína (47). La acción peptidil-propil isomerasa es esencial para que se desarrolle completamente la replicación del VHC, lo cual está asociado a la interacción con la proteína NS5B y su incorporación al complejo de replicación viral (48). Este blanco celular ha sido ampliamente estudiado como posible estrategia terapéutica en el tratamiento de la infección por el VHC debido a los resultados promisorios obtenidos. La ciclosporina A y sus análogos inhiben la actividad de las ciclofilinas y han sido evaluados como inhibidores de la replicación del VHC, describiéndose que compuestos inhibidores de la ciclofilinas generan una alteración en el tráfico celular de lípidos y en la secreción del virus (49). Qing y col. en el año 2009 (50) evaluaron en modelos *in vitro*, el efecto inhibitorio producido por la ciclosporina en virus del género flavivirus, observando que el efecto antiviral estaba asociado al bloqueo de la replicación ya que interfiere con la interacción de la proteína NS5 de

www.nitropdf.com

los flavivirus con la ciclofilina A. Actualmente se encuentran en estudios de fase clínica por lo menos tres inhibidores de ciclofilina (alisporivir, NIM811 y SCY-635), los cuales han demostrado seguridad y eficacia en el tratamiento de pacientes con hepatitis C (51). Alisporivir se encuentra en estudios de fase III, observándose una disminución marcada de la viremia en los pacientes tras su administración (52). Además de ello, se ha evaluado *in vitro* el desarrollo de resistencia, observándose que es necesaria la aparición de múltiples mutaciones en el dominio II de NS5A en lugar de una sola mutación para hacer el VHC significativamente resistente a los inhibidores de ciclofilinas (53). Recientemente, se demostró que una mutación única en NS5A (D2292E ó D2303H) confiere resistencia a ciclosporina A y está mutación en combinación con otras tres confiere resistencia a NIM811. Sin embargo, es necesaria una mutación adicional en NS3 para restablecer la capacidad replicativa del virus (54).

Modificaciones postraduccionales

La glicosilación de proteínas está relacionada directamente con su migración dentro de los distintos organelos celulares y su maduración. El bloqueo de la maduración de las proteínas virales, asociado a los procesos de modificación post-traduccional, en específico la glicosilación, ha sido considerado como blanco para la inhibición viral (55). Las proteínas E1 y E2 de la envoltura del VHC, son altamente modificadas por N-glicosilación; dicha modificación es crucial para la maduración de la progenie y la posterior entrada viral. Diverso grupos de investigación han estudiado en modelos *in vitro* del VHC el efecto de derivados de iminoazúcares como la 1-deoxinojirimicina, inhibidores de las glicosidasas tipo I y II presentes en el RE, observando que poseen actividad inhibitoria sobre la glicosilación de las proteínas virales, lo cual ejerce un efecto negativo sobre la replicación viral (56, 57).

La producción de mevalonato por la coenzima A 3-hidroximetilglutaril reductasa (de sus siglas en ingles HMG-CoA reductasa) es el paso limitante en la biosíntesis del colesterol. Las estatinas son potentes inhibidores de la HMG-CoA reductasa y son beneficiosas en la prevención de la enfermedad cardiocoronaria. Las estatinas también inhiben la prenilación de las proteínas. Diversos autores han descrito que el VHC requiere elementos de las vías de biosíntesis del colesterol y de los ácidos grasos para desarrollar una replicación eficiente (58,59). Por esta razón, la inhibición de dichas vías a distintos niveles ha sido evaluada como blanco potencial antiviral contra el VHC. En modelos *in vitro* e *in vivo* del VHC se ha observado que las estatinas tienen un efecto negativo sobre la prenilación de proteínas virales, produciendo un efecto inhibitorio sobre el ciclo viral (60,61). En modelos *in vitro* del VHC se ha observado que la combinación de estatinas y la terapia estándar genera un efecto sinérgico en la actividad antiviral de dichos compuestos (62). Atsukawa y col. (63) en el año 2013 publicaron el efecto de la administración de la terapia estándar con 20 mg de fluvastatina a pacientes infectados con VHC genotipo 1b, observando que la adición de fluvastatina aumenta la respuesta virológica sostenida. Esta premisa fue confirmada por Zhu y col. en el año 2013 (64), al concluir que la adición de estatinas a la terapia estándar mejora la RVS sin generar un aumento significativo en la aparición de efectos adversos. Por lo que dichos autores sugieren que pueden ser considerados como un adyuvante de la terapia con IFN-α y RBV.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La hepatitis C es una enfermedad de gran importancia en salud pública. El hecho de que no exista una vacuna contra esta enfermedad y que un alto número de los pacientes infectados no responden a la terapia estándar, ha fomentado la búsqueda de nuevos compuestos antivirales que puedan ser utilizados en la terapéutica del VHC. La introducción de los antivirales de acción directa ha contribuido significativamente en la mejora clínica de los pacientes infectados por el VHC. El éxito y el corto tiempo de tratamiento de las terapias combinadas recientes, parece sugerir que la aparición de resistencia no será un problema de gran impacto para la mayoría de los pacientes

www.nitropdf.com

que mantengan adherencia al tratamiento (65). La baja toxicidad de estas nuevas terapias las hace igualmente prometedoras. Sin embargo, ciertos grupos podrían no beneficiarse de estos adelantos, como pacientes con insuficiencias renales o hepáticas o con resistencia previa a los antivirales (66). El costo actual de estas terapias es muy elevado, aunque es de esperar que estos costos disminuyan, en particular para los países en desarrollo, tal como ha estado ocurriendo con las drogas antirretrovirales (67). Por todas las razones anteriores, los blancos celulares podrían jugar un papel significativo como complemento de la terapia antiviral emergente, ya que aumentan el número de opciones para la terapia de combinación de fármacos y la barrera genética de la resistencia puede ser mayor que para las terapias dirigidas contra el virus. Existen al menos diez blancos celulares donde se ha evidenciado actividad antiviral a través de su inhibición farmacológica, siendo la inhibición de ciclofilinas uno de los blancos más prometedores, encontrándose actualmente el fármaco alisporivir bajo estudios de fase clínica III. Sin embargo, el desarrollo de terapias antivirales enfocadas en blancos celulares, debe estar sometido a un proceso de investigación exhaustivo en el que se evalúen los diferentes efectos tóxicos que le pudiesen producir al hospedador. Otro punto que no debe ser descartado, dado el enorme potencial de variación de los virus, es la aparición de variantes virales resistentes que usen mecanismos metabólicos alternativos en su replicación y así evadan la terapia basada en el blanco celular afectado.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Tamara Zoltan por el diseño de las estructuras químicas.

REFERENCIAS

1. **Averhoff FM, Glass N, Holtzman** D. Global burden of hepatitis C: considerations for healthcare providers in the United States. Clin Infect Dis 2012; 55(suppl 1):S10–S15.
2. **Hoofnagle JH, Sherker AH**. Therapy for hepatitis C - the costs of success. N Engl J Med 2014; 370:1552-1553.
3. **World health organization** report June 2011, fact sheet N°164: 335 http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/. 336 [Consultado el 30 Junio 2013]
4. **Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST**. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: New estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. Hepatology 2013; 57:1333-1342.
5. **Alvarado-Mora MV, Pinho JR.** Epidemiological update of hepatitis B, C and delta in Latin America. Antivir Ther 2013; 18:429-433.
6. **Sy T, Jamal MM**. Epidemiology of hepatitis C virus (HCV) infection. Int J Med Sci 2006; 3:41-46.
7. **Von Hahn T, Rice CM**. Hepatitis C virus entry. J Biol Chem. 2008; 283:3689-3693.
8. **Syed GH, Tang H, Khan M, Hassanein T, Liu J, Siddiqui A.** Hepatitis C virus stimulates low-density lipoprotein receptor (LDLR) expression to facilitate viral propagation. J Virol 2014; 88:2519-2529.
9. **Zeisel MB, Felmlee DJ, Baumert TF**. Hepatitis C virus entry. Curr Top Microbiol Immunol 2013; 369:87-112.
10. **Lupberger J, Zeisel MB, Xiao F, Thumann C, Fofana I, Zona L, Davis C, Mee CJ, Turek M, Gorke S, Royer C, Fischer B, Zahid MN, Lavillette D, Fresquet J, Cosset FL, Rothenberg SM, Pietschmann T, Patel AH, Pessaux P, Doffoël M, Raffelsberger W, Poch O, McKeating JA, Brino L, Baumert TF.** EGFR and EphA2 are host factors for hepatitis C virus entry and possible targets for antiviral therapy. Nat Med 2011; 17:589–595.
11. **Chevaliez S, Pawlotsky JM.** Virology of hepatitis C virus infection. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2012; 26:381-389.
12. **Sarkar S, Lim JK.** Advances in interferon-free hepatitis C therapy: 2014 and beyond. Hepatology 2014; 59:1641-1644.
13. **Tsugawa Y, Kato H, Fujita T, Shimotohno K, Hijikata M**. Critical role of interferon-α constitutively produced in human hepatocytes in response to RNA virus infection. PLoS One 2014;9:e89869.
14. **Paeshuyse J, Dallmeier K, Neyts J.** Ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C virus infection: a review of the proposed mechanisms of action. Curr Opin Virol 2011; 1:590-598.
15. **Idrees S, Ashfaq UA**. HCV Infection and NS-3

www.nitropdf.com

serine protease inhibitors. Virol Mycol 2013; 2: 1000112

16. **Izquierdo L, Helle F, François C, Castelain S, Duverlie G, Brochot E.** Simeprevir for the treatment of hepatitis C virus infection. Pharmgenomics Pers Med 2014 14;7:241-249.
17. **Koff RS.** Review article: the efficacy and safety of sofosbuvir, a novel, oral nucleotide NS5B polymerase inhibitor, in the treatment of chronic hepatitis C virus infection. Aliment Pharmacol Ther 2014;39(5):478-487.
18. **McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, Goodman ZD, Ling MH, Cort S, Albrecht JK.** Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. N Engl J Med 1998;339:1485-1492.
19. **Manns MP, von Hahn T.** Novel therapies for hepatitis C - one pill fits all? Nat Rev Drug Discov 2013;12:595-610.
20. **Foster GR, Hézode C, Bronowicki JP, Carosi G, Weiland O, Verlinden L, van Heeswijk R, van Baelen B, Picchio G, Beumont M.**. Telaprevir alone or with peginterferon and ribavirin reduces HCV RNA in patients with chronic genotype 2 but not genotype 3 infections. Gastroenterology 2011;141: 881–889.
21. **Benhamou Y, Moussalli J, Ratziu V, Lebray P, De Backer K, De Meyer S, Ghys A, Luo D, Picchio GR, Beumont M**. Telaprevir activity in treatment-naive patients infected hepatitis C virus genotype 4: a randomized trial. J Infect Dis 2013;208:1000-1007.
22. **Cholongitas E, Papatheodoridis GV.** Sofosbuvir: a novel oral agent for chronic hepatitis C. Ann Gastroenterol 2014;27:331-337.
23. **Sulkowski MS, Gardiner DF, Rodriguez-Torres M, Reddy KR, Hassanein T, Jacobson I, Lawitz E, Lok AS, Hinestrosa F, Thuluvath PJ, Schwartz H, Nelson DR, Everson GT, Eley T, Wind-Rotolo M, Huang SP, Gao M, Hernandez D, McPhee F, Sherman D, Hindes R, Symonds W, Pasquinelli C, Grasela DM; AI444040 Study Group.** Daclatasvir plus sofosbuvir for previously treated or untreated chronic HCV infection. N Engl J Med 2014;370:211-221.
24. **Feld JJ, Kowdley KV, Coakley E, Sigal S, Nelson DR, Crawford D, Weiland O, Aguilar H, Xiong J, Pilot-Matias T, DaSilva-Tillmann B, Larsen L, Podsadecki T, Bernstein B.** Treatment of HCV with ABT-450/r-ombitasvir and dasabuvir with ribavirin. N Engl J Med 2014;370:1594-1603.
25. **Dhingra A, Kapoor S, Alqahtani SA.** Recent advances in the treatment of hepatitis C. Discov Med 2014;18:203-208.
26. **Liang CM, Hu TH, Lu SN, Hung CH, Huang CM, Wang JH, Yen YH, Chen CH, Chang KC, Tsai MC, Kuo YH, Lee CM.** Role of hepatitis C virus substitutions and interleukin-28B polymorphism on response to peginterferon plus ribavirin in a prospective study of response-guided therapy. J Viral Hepat 2013;20:761-769.
27. **Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, Simmonds P.** Expanded classification of hepatitis C Virus into 7 genotypes and 67 Subtypes: updated criteria and assignment web resource. Hepatology 2014;59:318-327.
28. **Esteban JI, Sauleda S, Quer J.** The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. J Hepatol 2008;48:148-162.
29. **Lee CM, Hung CH, Lu SN, Changchien CS.** Hepatitis C virus genotypes: clinical relevance and therapeutic implications. Chang Gung Med J 2008;31(1):16-25. Review.
30. **Jaspe RC, Sulbarán YF, Sulbarán MZ, Loureiro CL, Rangel HR, Pujol FH.** Prevalence of amino acid mutations in hepatitis C virus core and NS5B regions among Venezuelan viral isolates and comparison with worldwide isolates. Virol J 2012;9:214-220.
31. **Halfon P, Locarnini S**. Hepatitis C virus resistance to protease inhibitors. J Hepatol 2011;55:192-206.
32. **Salvatierra K, Fareleski S, Forcada A, López-Labrador FX**. Hepatitis C virus resistance to new specifically-targeted antiviral therapy: A public health perspective. World J Virol 2013;2:6-15.
33. **Nakamoto S, Kanda T, Wu S, Shirasawa H, Yokosuka O.** Hepatitis C virus NS5A inhibitors and drug resistance mutations. World J Gastroenterol 2014;20:2902-2912.
34. **Cheng YL, Lan KH, Lee WP, Tseng SH, Hung LR, Lin HC, Lee FY, Lee SD, Lan KH.** Amiodarone inhibits the entry and assembly steps of hepatitis C virus life cycle. Clin Sci (Lond) 2013;125:439-448.
35. **Nakagawa S, Umehara T, Matsuda C, Kuge S, Sudoh M, Kohara M.** Hsp90 inhibitors suppress HCV replication in replicon cells and humanized liver mice. Biochem Biophys Res Commun 2007; 353: 882-888.
36. **Gonzalez O, Fontanes V, Raychaudhuri S, Loo R, Loo J, Arumugaswami V, Sun R, Dasgupta A, French SW.** The heat shock protein inhibitor Quercetin attenuates hepatitis C virus production. Hepatology 2009;50:1756-1764.
37. **Lin YT, Wu YH, Tseng CK, Lin CK, Chen WC, Hsu YC, Lee JC.** Green tea phenolic

www.nitropdf.com

epicatechins inhibit hepatitis C virus replication via cycloxygenase-2 and attenuate virus-induced inflammation. PLoS One 2013;8: 1-10.

38. **Katsume A, Tokunaga Y, Hirata Y, Munakata T, Saito M, Hayashi H, Okamoto K, Ohmori Y, Kusanagi I, Fujiwara S, Tsukuda T, Aoki Y, Klumpp K, Tsukiyama-Kohara K, El-Gohary A, Sudoh M, Kohara M.** A serine palmitoyltransferase inhibitor inhibits hepatitis C virus replication in human hepatocytes. Gastroenterology 2013;145:865-873.
39. **Zeisel MB, Lupberger J, Fofana I, Baumert TF**. Host-targeting agents for prevention and treatment of chronic hepatitis C - perspectives and challenges. J Hepatol 2013;58:375-384.
40. **Zhu H, Wong-Staal F, Lee H, Syder A, McKelvy J, Schooley RT, Wyles DL.** Evaluation of ITX 5061, a scavenger receptor B1 antagonist: resistance selection and activity in combination with other hepatitis C virus antivirals. J Infect Dis 2012;205:656-662.
41. **Liu S, McCormick KD, Zhao W, Zhao T, Fan D, Wang T.** Human apolipoprotein E peptides inhibit hepatitis C virus entry by blocking virus binding. Hepatology 2012;56:484-491.
42. **Blaising J, Lévy PL, Gondeau C, Phelip C, Varbanov M, Teissier E, Ruggiero F, Polyak SJ, Oberlies NH, Ivanovic T, Boulant S, Pécheur EI.** Silibinin inhibits hepatitis C virus entry into hepatocytes by hindering clathrin-dependent trafficking. Cell Microbiol 2013;15:1866-1882.
43. **Chamoun-Emanuelli AM, Pecheur EI, Simeon RL, Huang D, Cremer PS, Chen Z.** Phenothiazines inhibit hepatitis C virus entry, likely by increasing the fluidity of cholesterol-rich membranes. Antimicrob Agents Chemother 2013;57:2571-2581.
44. **Ashfaq UA, Javed T, Rehman S, Nawaz Z, Riazuddin S.** Lysosomotropic agents as HCV entry inhibitors. Virol J 2011;8:163-168.
45. **Hoffmann H, Kunz A, Simon V, Palese P, Shaw M.** Broad-spectrum antiviral that interferes with de novo pyrimidine biosynthesis. Proc Nat Acad Sci USA 2011; 108: 5777–5782.
46. **Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, van der Meer AJ, Patick AK, Chen A, Zhou Y, Persson R, King BD, Kauppinen S, Levin AA, Hodges MR.** Treatment of HCV infection by targeting microRNA. N Engl J Med 2013;368: 1685-1694.
47. **Schmid F.** Protein folding: prolyl isomerases join the fold. Curr Biol 1995; 5: 993-994.
48. **Liu Z, Yang F, Robotham JM, Tang H.** Critical role of cyclophilin A and its prolyl-peptidyl isomerase activity in the structure and function of the hepatitis C virus replication complex. J Virol 2009;83:6554-6565.
49. **Anderson L, Lin K, Compton T, Wiedmann B**. Inhibition of cyclophilins alters lipid trafficking and blocks hepatitis C virus secretion. Virol J 2011; 8: 1-13.
50. **Qing M, Yang F, Zhang B, Zou G, Robida JM, Yuan Z, Tang H, Shi PY.** Cyclosporine inhibits flavivirus replication through blocking the interaction between host cyclophilins and viral NS5 protein. Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 3226–3235.
51. **Membreno FE, Espinales JC, Lawitz EJ.** Cyclophilin inhibitors for hepatitis C therapy. Clin Liver Dis 2013;17:129-139.
52. **Gallay PA, Lin K.** Profile of alisporivir and its potential in the treatment of hepatitis C. Drug Des Devel Ther 2013;7:105-115.
53. **Garcia-Rivera JA, Bobardt M, Chatterji U, Hopkins S, Gregory MA, Wilkinson B, Lin K, Gallay PA.** Multiple mutations in hepatitis C virus NS5A domain II are required to confer a significant level of resistance to alisporivir. Antimicrob Agents Chemother 2012;56:5113-5121.
54. **Arai M, Tsukiyama-Kohara K, Takagi A, Tobita Y, Inoue K, Kohara M.** Resistance to cyclosporin A derives from mutations in hepatitis C virus nonstructural proteins. Biochem Biophys Res Commun 2014;448:56-62.
55. **Chang J, Block TM, Guo JT.** Antiviral therapies targeting host ER alpha-glucosidases: Current status and future directions. Antiviral Res. 2013;99:251-260.
56. **Steinmann E, Whitfield T, Kallis S, Dwek RA, Zitzmann N, Pietschmann T, Bartenschlager R.** Antiviral effects of amantadine and iminosugar derivatives against hepatitis C virus. Hepatology 2007;46:330-338.
57. **Qu X, Pan X, Weidner J, Yu W, Alonzi D, Xu X, Butters T, Block T, Guo JT, Chang J.** Inhibitors of endoplasmic reticulum alpha-glucosidases potently suppress hepatitis C virus virion assembly and release. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:1036-1044.
58. **Felmlee DJ, Hafirassou ML, Lefevre M, Baumert TF, Schuster C.** Hepatitis C virus, cholesterol and lipoproteins--impact for the viral life cycle and pathogenesis of liver disease. Viruses 2013;5:1292-1324.
59. **Ye J.** Reliance of host cholesterol metabolic pathways for the life cycle of hepatitis C virus. PLoS Pathog 2007;3:1017-1022.

www.nitropdf.com

60. **Bader T, Fazili J, Madhoun M, Aston C, Hughes D, Rizvi S, Seres K, Hasan M.** Fluvastatin inhibits hepatitis C replication in humans. Am J Gastroenterol 2008;103:1383-1389.
61. **Sheridan DA, Neely RD, Bassendine MF.** Hepatitis C virus and lipids in the era of direct acting antivirals (DAAs). Clin Res Hepatol Gastroenterol 2013;37:10-16.
62. **Delang L, Paeshuyse J, Vliegen I, Leyssen P, Obeid S, Durantel D, Zoulim F, Op de Beeck A, Neyts J.** Statins potentiate the in vitro anti-hepatitis C virus activity of selective hepatitis C virus inhibitors and delay or prevent resistance development. Hepatology 2009;50:6-16.
63. **Atsukawa M, Tsubota A, Kondo C, Itokawa N, Narahara Y, Nakatsuka K, Hashimoto S, Fukuda T, Matsushita Y, Kidokoro H, Kobayashi T, Kanazawa H, Sakamoto C.** Combination of fluvastatin with pegylated interferon/ribavirin therapy reduces viral relapse in chronic hepatitis C infected with HCV genotype 1b. J Gastroenterol Hepatol 2013;28:51-56.
64. **Zhu Q, Li N, Han Q, Zhang P, Yang C, Zeng X, Chen Y, Lv Y, Liu X, Liu Z.** Statin therapy improves response to interferon alfa and ribavirin in chronic hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. Antiviral Res 2013;98:373-379.
65. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Recommendations on treatment of hepatitis C 2015. J Hepatol 2015;63:199-236.
66. **Chung RT, Baumert TF.** Curing chronic hepatitis C - The arc of a medical triumph. N Engl J Med 2014;370:1576-1578.
67. **Jayasekera CR, Barry M, Roberts LR, Nguyen MH.** Treating hepatitis C in lower-income countries. N Engl J Med 2014;370:1869-1871.

www.nitropdf.com