

# Inhibitory cyklofiliny w terapii zakażeń HCV

## Cyclophilin inhibitors in therapy of HCV infections

Magdalena Rogalska-Płońska, Robert Flisiak

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

**Summary:** Authors present results of current status of research on selective cyclophilin inhibitors, which demonstrate a potent anti-HCV effect acting at the level of host-viral interaction. Cyclophilins are ubiquitous proteins in several cellular systems supposed to be a positive modulator of the HCV RNA-dependent RNA polymerase in the replication complex. Preclinical data suggest that cyclophilins inhibitors demonstrate strong suppressive effect on HCV viral replication, which is accompanied by a higher barrier to the selection of drug resistance than protease and polymerase inhibitors. Moreover additive or synergistic anti-HCV activity could be reached in combined treatment with interferons. Therefore, cyclophilin inhibitors seem to open the new approach to anti-HCV treatment.

**Słowa kluczowe:** leczenie • HCV • inhibitory cyklofilin • cyklosporyna • Debio-025 • NIM-811

**Key words:** treatment • HCV • cyclophilin inhibitors • cyclosporin • Debio-025 • NIM-811

**Adres do korespondencji:** Robert Flisiak, Klinika Obserwacyjno-Zakaźna, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok, Polska, e-mail: flisiakr@poczta.onet.pl

### Wstęp

Przewlekłe zakażenie HCV dotyczy około 180 milionów ludzi na całym świecie [1]. Ponieważ ostra infekcja często przebiega bezobjawowo, większość przypadków diagnozowana jest po wielu latach, kiedy dochodzi do rozwoju przewlekłego zapalenia, marskości lub nawet raka wątrobowokomórkowego [2,3].

Aktualny standard leczenia pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C zakłada stosowanie w skojarzeniu cotygodniowych iniekcji pegylowanego interferonu-alfa (peg-IFN- $\alpha$ )-2a lub 2b oraz codziennej dawki doustnej rybawiryny. Schemat ten łączy w sobie aktywność immunomodulującą oraz przeciwwirusową obu leków powodując synergiczny, długotrwały efekt. Czas trwania leczenia uzależniony jest od genotypu wirusa. Depresja, niedokrwistość i neutropenia są jednymi z wielu działań ubocznych skojarzonego leczenia peg-IFN- $\alpha$  z rybawiryną. Wymagają one często redukcji dawek leków i/lub przerwania leczenia. Możliwa do osiągnięcia skuteczność terapii nie jest satysfakcjonująca [4]. O ile u osób zakażonych genotypem 2 lub 3 uzyskanie trwałej odpowiedzi przeciwwirusowej (SVR) jest możliwe nawet u 90% chorych, to w przypadku genotypu 1 i 4 dotyczy to 33–50% chorych [4–6]. Aktualnie brak jest alternatywnej metody leczenia dla pacjentów, u których nastąpił nawrót choroby, terapia skojarzona jest nieefektywna lub uniemożliwiają ją działania uboczne leków.

### Nowe leki anty-HCV

Po wnikięciu wirusa do komórki gospodarza, z nukleokapsydu uwalniany jest materiał genetyczny, konieczny do syntezy poliproteiny HCV. Jest to duże białko prekursorowe rozcinane przez peptydazy wirusa i gospodarza na mniejsze, strukturalne i niestrukturalne białka. Proces ten jest inicjowany przez proteazę NS3 z jej kofaktorem NS4A i w rezultacie prowadzi do powstania białka NS5B, które dzięki aktywności polimerazy RdRp, jest niezbędne do replikacji HCV. Białka niestrukturalne są potencjalnym punktem uchwytu dla nowych leków przeciwwirusowych, wpływających na cykl replikacyjny wirusa. Wiele nowych preparatów, będących aktualnie we wczesnej fazie badań klinicznych, działa jako inhibitory proteazy NS3-4A. Najbardziej zaawansowane badania dotyczą Telapreviru (VX-950), który u większości pacjentów w ciągu 2-4 tygodni leczenia powoduje obniżenie HCV-RNA poniżej poziomu wykrywalności [7]. Niestety w części przypadków dochodziło do mutacji z rozwojem oporności. Zastosowanie w dalszych badaniach peg-IFN- $\alpha$  z rybawiryną umożliwiło utrzymanie supresji wirusa [8]. Innym dostępnym inhibitorem proteazy HCV jest SCH-503034, który odznacza się dobrym profilem bezpieczeństwa i powodował obniżanie stężenia HCV-RNA poniżej poziomu detekcji u 4 z 10 pacjentów zakażonych genotypem 1, którzy wcześniej nie odpowiedzieli na standardową terapię [9]. Spośród inhibitorów polimerazy HCV RNA, najbardziej zaawansowa-

ne badania dotyczyły valopicitabiny (NM-283). W populacji osób nie odpowiadających na standardowe leczenie, w połączeniu z peg-IFN- $\alpha$  powodowała ona znaczną redukcję HCV RNA [10]. W II fazie badań, po 24 tygodniach skojarzonej terapii peg-IFN- $\alpha$  z valopicitabiną, uzyskano obniżenie HCV-RNA poniżej poziomu wykrywalności u ponad połowy nieleczonych wcześniej pacjentów [11]. Niestety badań nad tym preparatem zaprzestano ze względu na liczne działania uboczne. W krótkoterminowych badaniach klinicznych, redukcję HCV-RNA uzyskano również po zastosowaniu innych inhibitorów RdRp takich jak: HCV-796 [12] i R-1626 [13]. Niestety, leki te stosowane w monoterapii szybko prowadzą do selekcji szczepów opornych HCV. Jest więc prawdopodobne, że w przyszłości warunkiem stosowania inhibitorów proteazy i polimerazy, będzie kojarzenie z peg-IFN- $\alpha$  i/lub rybawiryną w celu osiągnięcia wyższego odsetka SVR i uniknięcia lekooporności.

## Cyklofiliny

Cyklofiliny są białkami z aktywnością peptydylo-prolylo *cis-trans* izomerazy [14]. Katalizują one izomeryzację *cis/trans* wiązania peptydowego poprzedzającego prolinę w łańcuchu polipeptydowym. Proces ten odgrywa ważną rolę w zwijaniu białek *de novo* i izomeryzacji natywnych protein w licznych systemach komórkowych związanych z transportem przez błonę komórkową [15]. Cyklofiliny znajdują się we wszystkich narządach w stężeniu około 1 $\mu$ g/mg białka. U ludzi zidentyfikowano dotychczas siedem cyklofilin.

W ciągu ostatnich lat stało się oczywiste, że cyklofiliny odgrywają znaczącą rolę w replikacji HCV a CypB jest funkcjonalnym regulatorem NS5B RdRp [16,17]. Podjęto wstępne badania nad działaniem anti-HCV, cyklosporyny A (CsA), która była pierwszym znanym związkami o istotnych właściwościach hamujących aktywność Cyp. Jej działanie anti-HCV wydawało się być niezależne od aktywności immunosupresyjnej, a związane właśnie z hamowaniem działania Cyp [18]. Działanie anti-HCV CsA zostało potwierdzone w badaniach u ludzi [19,20], jednak ze względu na pierwotne działanie immunosupresyjne, jej stosowanie u pacjentów zakażonych HCV nie zostało zaakceptowane. Natomiast selektywne inhibitory Cyp, takie jak Debio-025 i NIM-811, nie wiążą się z kalcyneuryną i w rezultacie nie działają immunosupresyjnie. Leki te wykazały *in vitro* istotne działanie anti-HCV [21,22] a Debio-025 dodatkowo powodował znaczącą redukcję HCV-RNA u chorych współzakażonych HIV i HCV [23].

CypA występuje w cytoplazmie komórki i jest najpowszechniejszą z cyklofilin, stanowiąc 0,1 do 0,4% wszystkich białek komórkowych [24]. Działanie CsA skierowane jest właśnie na CypA. Nie jest to jednak wystarczające do wywołania aktywności immunosupresyjnej CsA. Kompleks CsA/Cyp łączy się z innym białkiem komórkowym, fosfatazą kalcyneuryny (CaN), znosząc jej aktywność. Powoduje to sflumienie działania czynnika jądrowego aktywowanych komórek T (NF-AT) a co za tym idzie działanie immunosupresyjne CsA [25]. W sposób specyficzny jest włączana do nowopowstałych wirusów HIV-1 poprzez wiązanie z regionem kapsydowym białka prekursorowego Gag [26]. Nie wiadomo jeszcze, kiedy dokładnie w cyklu życiowym HIV-1, dochodzi do aktywacji CypA. Prawdopodobnie CypA oddziałuje na kapsyd HIV-1 we wczesnych fazach replikacji, w czasie usuwania osłonki białkowej. Istnieją przypuszczenia, że w organi-

zmie człowieka CypA moduluje wrażliwość HIV-1 na wciąż nieznaną czynnik restrykcyjny gospodarza [27,28], który prawdopodobnie zakłóca replikację wirusa po wnikięciu do komórki. Poprzez interakcję z CD147<sup>+</sup>, CypA wzbudza przekazywanie sygnałów wewnątrzkomórkowych i chemotaksję komórek układu immunologicznego [29]. Pozostałe izoformy Cyp wykazują ponad 50% zgodność sekwencji z CypA, różnią się natomiast ich wewnątrzkomórkową lokalizacją oraz powinowactwem do CsA. Nadmierna ekspresja cyklofilin takich jak CypA i CypB została stwierdzona w niektórych komórkach nowotworowych stąd prawdopodobny jest ich udział w patogenezie nowotworów [30].

CypB bierze udział w regulacji procesów zapalnych poprzez interakcję z CD147<sup>+</sup>, oddziałuje na płytki krwi [31] oraz podobnie jak CypA, jest silnym czynnikiem chemotaktycznym. Obecnie uważa się że to właśnie CypB odgrywa kluczową rolę w zakażeniu HCV.

CypC odgrywa rolę w procesach zapalnych oraz gojeniu ran [32], a CypD, która znajduje się w mitochondriach komórkowych, jest prawdopodobnie częścią kanałów mitochondrialnych (MPTP – Mitochondrial Permeability Transition Pore) oraz odgrywa rolę w zjawisku uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego [33].

Potwierdzenie roli cyklofilin w replikacji HCV u ludzi spowodowało, że zahamowanie aktywności Cyp stało się ważnym potencjalnym punktem uchwytu dla nowych leków anti-HCV i zwiastuje przełom w terapii zakażenia tym wirusem.

## Cyklofiliny a replikacja HCV

Sugerowano, że CypB działa jako regulator funkcji NS5B RdRp, a CsA może zaburzać tę interakcję [17]. Zgodnie z tym odkryciem, dla replikonu genotypu 1 opracowano model replikacji HCV z udziałem CypB [34]. Współdziałanie CypB z NS5B wzmaga wiązanie RNA i umożliwia jego replikację. Zatem działanie CsA i innych inhibitorów Cyp polega na zablokowaniu interakcji między CypB a NS5B. Skutkiem tego jest słabsze wiązanie RNA i brak możliwości utworzenia funkcjonalnego kompleksu replikacyjnego RNA [35,36]. Model ten nie odnosi się do genotypu 2a, który jest mniej wrażliwy na CsA w porównaniu z genotypem 1b. Mimo to również w tym replikonie zachodzi interakcja CypB z NS5B [37]. Skutkiem specyficznego zahamowania CypB, jest zmniejszenie ilości HCV-RNA w replikonach genotypu 1b. Natomiast w replikonach genotypu 2a nie uzyskano obniżenia stężenia HCV-RNA mimo supresji CypA lub CypB. Stąd wniosek, że są one niezależne od CypB, w odróżnieniu od replikonów genotypu 1b. Należy więc przypuszczać, że replikony genotypu 2a i genotypu 1b korzystają z tych samych czynników komórkowych ale w inny sposób. Różne systemy regulacji NS5B przy udziale CypB mogą być związane z różną sekwencją lub strukturą NS5B. Mogą wynikać również z takich czynników jak źródło HCV a nie z różnic w genotypie.

Pojawiły się ostatnio doniesienia o oporności *in vitro* komórek replikonów genotypu 1b HCV na CsA [38]. Zamiana izoleucyny na walinę w pozycji 432 (Ile432Val) w genie NS5B spowodowała oporność replikonów HCV na CsA. Istotne jest, że Ile-432 nie należy do regionu wiążącego CypB.

Istnieją również doniesienia o ograniczeniu replikacji HCV po zmniejszeniu ekspozycji na CypA, CypB lub CypC [16].



Stąd, precyzyjny mechanizm interakcji CypB i/lub pozostałych cyklofilin z RdRp NS5B lub innymi białkami HCV wymaga dalszych badań. Pozostaje niewyjaśnione czy wszystkie genotypy HCV korzystają z cyklofilin w ten sam sposób.

## Inhibitory cyklofilin

### Cyklosporyna

Pod koniec lat 80-tych, w badaniach na szympanсах z zapaleniem wątroby non-A, non-B wykazano, że CsA podawana i.v. w dawce 20 mg/kg przez 4 tygodnie, ograniczyła zmiany ultrastrukturalne w hepatocytach i przejściowo zahamowała postęp choroby [39]. Zaledwie 15 lat później, badania z wykorzystaniem replikonów umożliwiły potwierdzenie efektu anty-HCV pod wpływem CsA. Watashi i wsp. [18] wykazali, że CsA obniża poziom białek HCV i replikonów RNA. Lek ten hamował również namnażanie HCV w zakażonych hodowlach hepatocytów. Aktywność anty-HCV CsA wydawała się być niezależna od jej działania immunosupresyjnego, ponieważ CsA nie hamowała NF-AT. Zostało to potwierdzone przez inną grupę badaczy, którzy wykazali, że FK-506 (podobnie jak CsA posiadający aktywność anty-CaN ale nie wiążący się z Cyp) nie działa hamująco na replikację HCV. Co więcej CsD, która nie posiada aktywności immunosupresyjnej ale wiąże się z Cyp hamowała replikację HCV podobnie jak CsA [16]. Dlatego też zasugerowano, że zablokowanie Cyp może leżeć u podstaw aktywności anty-HCV CsA.

### Syntetyczne analogi cyklosporyny

CsA wywołuje silne działanie immunosupresyjne, które może pozwalać na „ucieczkę” komórek zakażonych HCV przed układem immunologicznym, co skutkuje proliferacją wirusa. Dwa przeciwstawne efekty działania leku (anty-HCV i działanie immunosupresyjne) sprawiają, że jego zastosowanie jako standardowego leczenia zakażenia HCV jest kłopotliwe. Z tego powodu zostały zsyntetyzowane pochodne CsA pozbawione działania immunosupresyjnego.

Pierwszy z nich NIM-811, opisany w 1990 r. wykazywał *in vitro* silną aktywność anty-HIV [40]. W systemach replikonów HCV NIM-811 wykazywał silniejsze działanie niż CsA, szczególnie w niskim stężeniu (0,5 µg/ml). Jest to prawdopodobnie związane z powinowactwem do Cyp, które jest około dwa razy większe niż CsA [41]. CsA i NIM-811 w połączeniu z IFN-α obniżały stężenie HCV RNA bardziej niż IFN-α w monoterapii. W replikonie HCV stężenie NIM-811 pozwalające na zmniejszenie zawartości HCV RNA o 50% (IC<sub>50</sub>), wahało się od 0,35 do 0,66 µM. Połączenie NIM-811 z inhibitorem polimerazy HCV dawało synergiczny efekt antywirusowy natomiast w połączeniu z inhibitorem proteazy efekt addycyjny. Dodanie NIM-811 zmniejszało szybkość wytwarzania oporności na inhibitory proteazy i polimerazy HCV [42].

Debio-025 jest kolejną nową syntetyczną pochodną CsA pozbawioną działania immunosupresyjnego, o zdolności wiązania CypA trzykrotnie wyższej niż CsA i silnej aktywności anty-HIV. Debio-025 w badaniach *in vitro* okazał się około 10-krotnie bardziej aktywnym inhibitorem replikacji HCV niż CsA, którego IC<sub>50</sub> wynosiło 0,07–0,22 µM [22]. Połączenie IFN-α i/lub rybawiryny z Debio-025 skutkowało działaniem addycyjnym lub synergicznym. Debio-025 zastosowany sam lub w skojarzeniu z innymi lekami anty-HCV pozwalał na całkowite usunięcie replikonów HCV z komór-

rek w odróżnieniu od CsA i inhibitorów proteazy HCV [43]. Debio 0-25 wykazywał jednakową skuteczność w zwalczaniu szczepów dzikich HCV oraz replikonów HCV opornych na inhibitory polimerazy (2'-C-methylcytidine) lub proteazy (VX-950, BIL-2061) [44]. U chimerycznych myszy z wszczepionymi ludzkimi hepatocytami zakażonymi genotypem 1a HCV, leczenie skojarzone (Debio-025 100 mg/kg/dzień p.o. i peg-IFN-α 30 µg/kg s.c. dwa razy w tygodniu) przez 2 tygodnie pozwalało bardziej obniżyć poziom HCV RNA niż sam peg-IFN-α (100 razy vs 10 razy) [45]. Trzecim inhibitorem Cyp o silnym działaniu anty-HCV *in vitro* jest SCY-635 [46]. Przedkliniczne dane o inhibitorach Cyp stanowiły podstawę do badań u ludzi zakażonych HCV zarówno w monoterapii jak i w połączeniu z aktualnym standardowym leczeniem (peg-IFN-α z rybawiryną) i/lub ze specyficznymi inhibitorami proteazy lub polimerazy. Wpływając na interakcję gospodarz-wirus, inhibitory Cyp oferują alternatywną strategię w leczeniu zapalenia wątroby typu C i mogą mieć profil oporności zupełnie różny od inhibitorów proteazy i polimerazy, których miejscem działania jest podatny na mutacje genom wirusa [47].

### Kliniczne zastosowanie inhibitorów cyklofiliny w leczeniu zakażeń HCV

Pacjenci po transplantacjach otrzymujący CsA, leczeni z powodu nawracającego HCV, mieli wyższą SVR w porównaniu z pacjentami otrzymującymi leki immunosupresyjne pozbawione właściwości hamujących Cyp [24]. Liczne badania przeprowadzone na pacjentach po transplantacji wątroby wykazały również, że rodzaj stosowanego immunosupresora mógł mieć wpływ na ponowne wystąpienie zapalenia wątroby typu C i postęp włóknienia. Stanowiło to podstawę do pogłębienia badań nad korzystnym działaniem CsA w przebiegu zakażenia HCV.

W roku 2003 Inoue i wsp. [20] zakwalifikowano 120 pacjentów z Japonii z przewlekłym, aktywnym zapaleniem wątroby potwierdzonym w biopsji, dodatnim wynikiem HCV RNA w surowicy i z wysoką aktywnością aminotransferazy alaninowej. 44 pacjentów otrzymało standardową japońską dawkę IFN-α<sub>2b</sub>, a kolejnych 76 otrzymywało skojarzone leczenie IFN-α<sub>2b</sub> i CsA. przy czym CsA była podawana w dawce 50mg 4 razy dziennie przez 4 tygodnie a następnie 25mg 4 razy dziennie przez kolejne 20 tygodni. SVR w przypadku terapii skojarzonej była znacznie wyższa w porównaniu z monoterapią IFN-α<sub>2b</sub> (55,3 vs 31,8%; p=0,01). Odpowiedź biochemiczną uzyskano u 60,5% pacjentów leczonych IFN-α<sub>2b</sub> i CsA oraz u 38,6% w monoterapii (p=0,017). Leczenie było dobrze tolerowane a CsA nie pogłębiała działań ubocznych IFN-α<sub>2b</sub>.

Cotler i wsp. przeprowadzili badanie w którym oceniono skuteczność CsA w skojarzeniu z IFN alfacon-1 u 10 pacjentów z przewlekłym zakażeniem genotypem 1 HCV, u których sam IFN stosowany przez minimum 3 miesiące był nieskuteczny [48]. CsA zastosowano w dawce dobowej 100 mg przez pierwsze 4 tygodnie i 50 mg pomiędzy 5 a 48 tygodniem. U 3 z 10 pacjentów uzyskano obniżenie HCV RNA poniżej granicy wykrywalności (<100 kopii/ml) w 12 tygodniu leczenia. U kolejnego chorego uzyskano znaczne obniżenie wirerii pomiędzy 24 a 48 tygodniem leczenia. U dwóch pacjentów po zakończeniu leczenia doszło do nawrotu choroby. Na podstawie badania stwierdzono, że wprawdzie istnieją pośrednie dowody na korzyści stosowania interferonu

z CsA w leczeniu anty-HCV, to nie są one wystarczające do zalecenia tej terapii osobom nie odpowiadającym na wcześniejsze leczenie.

Opublikowano niedawno wyniki pierwszego, krótkoterminowego badania nad działaniem anty-HCV Debio-025, selektywnego inhibitora Cyp [23]. Do badania włączono pacjentów współzakażonych wirusami HIV-1 i HCV, którzy w warunkach podwójnie ślepej próby, przez 15 dni otrzymywali 1200 mg Debio-025 (n=16) 2 razy dziennie lub placebo (n=3). W grupie leczonej Debio-025 zanotowano redukcję HCV-RNA o 3,6 log<sub>10</sub>. U 15 z 16 pacjentów w grupie leczonej Debio-025 (93,8%) uzyskano obniżenie wirēmii HCV RNA o przynajmniej 2 log<sub>10</sub>. W trakcie trwania terapii obniżenie wirēmii poniżej poziomu detekcji zanotowano w trzech przypadkach. W podgrupie osób z genotypem 3, bardziej wrażliwym na standardową terapię zanotowano większą redukcję HCV-RNA niż w przypadku genotypów 1 i 4. Tylko u jednego pacjenta terapia była całkowicie nieskuteczna. W grupie leczonej Debio-025 w dobowej dawce 2400 mg najczęstszym działaniem ubocznym była w pełni odwracalna hiperbilirubinemia, spowodowana kompetycyjnym hamowaniem białek transportujących kanalików żółciowych.

Kontynuacja badań klinicznych nad Debio-025 w fazie 2b pozwoliła na ustalenie optymalnej dawki leku, który zastosowany w skojarzeniu z peg-IFN-α zagwarantował wyższą skuteczność niż w badaniu cytowanym powyżej (efekt synergistyczny), przy jednoczesnym braku wspomnianych działań ubocznych. Wyniki tych badań dostarczających jednoznacznych dowodów na przydatność Debio-025 w leczeniu zakażeń HCV, zostały przedstawione podczas Kongresu EASL w kwietniu 2008 [49].

## Wyniki badań po przeszczepach wątroby

Pierwotne doniesienia o potencjalnych korzyściach kombinacji standardowego leczenia zakażeń HCV z inhibitorem Cyp

pochodzą z obserwacji pacjentów po transplantacji wątroby. Firpi i wsp. [19] dokonali analizy retrospektywnej 115 pacjentów, u których przeszczepiono wątrobę z powodu marskości spowodowanej zakażeniem HCV. Po stwierdzeniu w biopsji wątroby znacznego stopnia włóknienia, chorzy byli leczeni IFN-α<sub>2b</sub> lub peg-IFN-α<sub>2a</sub> w połączeniu z rybawiryną. W ramach standardowej terapii immunosupresyjnej otrzymywali CsA lub tacrolimus (TAC) w połączeniu z prednizonem. W chwili zakończenia terapii, skuteczność w grupie leczonej TAC wynosiła 40% a w grupie leczonej CsA 60%. SVR uzyskało 26 spośród 56 osób (46%) leczonych CsA, oraz 16 z 59 chorych (27%) leczonych TAC (p=0,03). Z kolei Inoue i Yoshida [50] wykazali 66% SVR w otwartym badaniu, które przeprowadzono u 41 pacjentów z genotypem 1b, otrzymujących początkowo dożylną indukację IFN-β, a następnie terapię IFN-a2b z rybawiryną oraz CsA.

## Wnioski

Zgodnie z przedstawionymi danymi cyklofiliny odgrywają istotną rolę w replikacji HCV. Mimo, że mechanizm działania na poziomie molekularnym nie jest jeszcze dokładnie wyjaśniony, przyjmuje się za bardzo prawdopodobne, że CypB jest pozytywnym modulatorem RdRp w kompleksie replikacyjnym HCV. Otwiera to drogę dla nowych możliwości leczenia przewlekłego zapalenia wątroby typu C poprzez zaburzenie interakcji na poziomie gospodarz-wirus. Mechanizm działania inhibitorów Cyp jest inny niż w stosownym dotychczas leczeniu opartym na interferonie, które miało za zadanie skierowanie aktywności układu immunologicznego przeciw HCV. Różni się także od nowych inhibitorów proteazy i polimerazy, których punktem uchwytu są enzymy wirusowe. Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że inhibitory Cyp mogą być cennym dodatkiem do aktualnego leczenia, poprawiającym trwałą odpowiedź wirusologiczną, stwarzając również możliwość znaczącego skrócenia czasu terapii. Mogą być szczególnie przydatne u pacjentów, u których wyniki standardowej terapii nie są zadawalające lub jest ona przeciwwskazana.

## Piśmiennictwo:

1. Hepatitis C - global prevalence (update). *Wkly Epidemiol Rec*, 2000; 75(3): 18-19
2. Alter HJ: HCV natural history: the retrospective and prospective in perspective. *J. Hepatol*, 2005; 43(4): 550-52
3. Zoulim F, Chevallier M, Trepo C: Clinical consequences of hepatitis C virus infection. *Rev Med Virol*, 2003; 13(1): 57-68
4. Hughes CA, Shafraan SD: Chronic hepatitis C virus management: 2000-2005 update. *Ann. Pharmacother*, 2006; 40(1): 74-82
5. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR i wsp: Peginterferon α-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 2002; 347(13): 975-82
6. Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC i wsp: Peginterferon α-2b plus ribavirin compared with interferon α-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet*, 2001; 358(9286): 958-65
7. Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ i wsp: Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a Phase Ib, placebo-controlled, randomized study. *Gastroenterology*, 2006; 131(4): 997-1002
8. Kiefer T, Sarrazin C, Miller J i wsp: Combination of telaprevir (VX-950) and PEG-IFN-α suppressed both wild-type virus and resistance variants in HCV genotype 1-infected patients in a 14-day Phase IB study. *Hepatology*, 2006; 44: A222 (Abstract 92)
9. Zeuzem S, Sarrazin C, Wagner F: Combination therapy with the HCV protease inhibitor, SCH 503034, plus peg-intron in hepatitis C genotype 1 peg-intron non-responders: Phase Ib results. *Hepatology*, 2005; 42: A276 (Abstract 201)
10. O'Brien C, Godofsky E, Rodriquez-Torres M: Randomized trial of valopicitabine (NM283) alone or with peg-interferon vs retreatment with peg-interferon plus ribavirin in hepatitis C patients with previous non-response PEGIFN/RBV: first interim results. *Hepatology*, 2005; 42: A234 (Abstract 95)
11. Lawitz E, Nguyen T, Younes Z i wsp: Valopicitabine (NM283) plus PEG-interferon in treatment-naive hepatitis C patients with HCV genotype-1 infection: HCV RNA clearance during 24 weeks of treatment. *Hepatology*, 2006; 44: A223 (Abstract 93)
12. Villano S, Howe A, Raible D i wsp: Analysis of HCV NS5B genetic variants following monotherapy with HCV-796, a non-nucleoside polymerase inhibitor, in treatment-naive HCV-infected patients. *Hepatology*, 2006; 44: A607 (Abstract 1127)
13. Roberts S, Cooksley G, Dore G i wsp: Results of a Phase IB multiple dose study of R1626 a novel nucleoside analog targeting HCV polymerase in chronic HCV genotype 1 patients. *Hepatology*, 2006; 44: A692 (Abstract LB2)
14. Koletsy AJ, Harding MW, Handschumacher RE: Cyclophilin: distribution and variant properties in normal and neoplastic tissues. *J Immunol*, 1986; 137(3): 1054-59
15. Edlich F, Fischer G: Pharmacological targeting of catalyzed protein folding: the example of peptide bond cis/trans isomerases. *Handb Exp Pharmacol*, 2006; (172): 359-404
16. Nakagawa M, Sakamoto N, Tanabe Y i wsp: Suppression of hepatitis C virus replication by cyclosporin a is mediated by blockade of cyclophilins. *Gastroenterology*, 2005; 129(3): 1031-41
17. Watahi K, Ishii N, Hijikata M i wsp: Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. *Mol Cell*, 2005; 19(1): 111-22



18. Watashi K, Hijikata M, Hosaka M i wsp: Cyclosporin A suppresses replication of hepatitis C virus genome in cultured hepatocytes. *Hepatology*, 2003; 38(5): 1282–88
19. Firpi RJ, Zhu H, Morelli G i wsp: Cyclosporine suppresses hepatitis C virus *in vitro* and increases the chance of a sustained virological response after liver transplantation. *Liver Transplant*, 2006; 12(1): 51–57
20. Inoue K, Sekiyama K, Yamada M i wsp: Combined interferon  $\alpha$  2b and cyclosporin A in the treatment of chronic hepatitis C: controlled trial. *J Gastroenterol*, 2003; 38(6): 567–72
21. Ma S, Boerner JE, Tiongip C i wsp: NIM811, a cyclophilin inhibitor, exhibits potent *in vitro* activity against hepatitis C virus alone or in combination with  $\alpha$  interferon. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006; 50(9): 2976–82
22. Paeshuysse J, Kaul A, de Clercq E i wsp: The non-immunosuppressive cyclosporine DEBIO-025 is a potent inhibitor of hepatitis C virus replication *in vitro*. *Hepatology*, 2006; 43(4): 761–70
23. Flisiak R, Horban A, Gallay P i wsp: The cyclophilin inhibitor DEBIO-025 shows potent anti-HCV effect in patients coinfecting with hepatitis C and human immunodeficiency virus. *Hepatology*, 2008; 47(3): 817–26
24. Gothel SF, Marahiel MA: Peptidyl-prolyl cis-trans isomerases, a superfamily of ubiquitous folding catalysts. *Cell Mol Life Sci*, 1999; 55(3): 423–36
25. Stepkowski SM: Molecular targets for existing and novel immunosuppressive drugs. *Expert Rev Mol Med*, 2000; 2000: 1–23
26. Franke EK, Yuan HE, Luban J: Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature*, 1994; 372(6504): 359–62
27. Luban J: Cyclophilin A, TRIM5, and resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol*, 2007; 81(3): 1054–61
28. Towers GJ, Hatzioannou T, Cowan S i wsp: Cyclophilin A modulates the sensitivity of HIV-1 to host restriction factors. *Nat Med*, 2003; 9(9): 1138–43
29. Yurchenko V, Constant S, Bukrinsky M: Dealing with the family: CD147 interactions with cyclophilins. *Immunology*, 2006; 117(3): 301–9
30. Yao Q, Li M, Yang H i wsp: Roles of cyclophilins in cancers and other organ systems. *World J Surg*, 2005; 29(3): 276–80
31. Allain F, Durieux S, Denys A i wsp: Cyclophilin B binding to platelets supports calcium-dependent adhesion to collagen. *Blood*, 1999; 94(3): 976–83
32. Kong W, Li S, Longaker MT, Lorenz HP: Cyclophilin C-associated protein is up-regulated during wound healing. *J Cell Physiol*, 2007; 210(1): 153–60
33. Waldmeier PC, Zimmermann K, Qian T i wsp: Cyclophilin D as a drug target. *Curr Med Chem*, 2003; 10(16): 1485–506
34. Rice CM, You S: Treating hepatitis C: can you teach old dogs new tricks? *Hepatology*, 2005; 42(6): 1455–58
35. Watashi K, Shimotohno K: Chemical genetics approach to hepatitis C virus replication: cyclophilin as a target for anti-hepatitis C virus strategy. *Rev Med Virol*, 2007; 17(4): 245–52
36. Watashi K, Shimotohno K: Cyclophilin and viruses: cyclophilin as a cofactor for viral infection and possible anti-viral target. *J Drug Target Insights*, 2007; 1: 9–18
37. Ishii N, Watashi K, Hishiki T i wsp: Diverse effects of cyclosporine on hepatitis C virus strain replication. *J Virol*, 2006; 80(9): 4510–20
38. Robida JM, Nelson HB, Liu Z, Tang H: Characterization of hepatitis C virus subgenomic replicon resistance to cyclosporine *in vitro*. *J Virol*, 2007; 81(11): 5829–40
39. Teraoka S, Mishiro S, Ebihara K i wsp: Effect of cyclosporine on proliferation of non-A, non-B hepatitis virus. *Transplant Proc*, 1988; 20(3 Suppl.3): 868–76
40. Rosenwirth B, Billich A, Datema R i wsp: Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by SDZ NIM 811, a nonimmunosuppressive cyclosporine analog. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994; 38(8): 1763–72
41. Goto K, Watashi K, Murata T i wsp: Evaluation of the anti-hepatitis C virus effects of cyclophilin inhibitors, cyclosporin A, and NIM811. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006; 343(3): 879–84
42. Lin K, Boerner J, Cooreman M: NIM811, a cyclophilin inhibitor targeting host-viral interaction, significantly enhances the antiviral activity of HCV polymerase inhibitors and reduces the emergence of resistance *in vitro*. 1<sup>st</sup> International Workshop on Hepatitis C Resistance and New Compounds, Boston, MA, USA, 25–26 October, 2006
43. Paeshuysse J, Coelmont L, Kaul A i wsp: The cyclophilin inhibitor Debio-025 is a potent inhibitor of hepatitis C virus replication *in vitro*. 57<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Boston, MA, USA, 27–31 October, 2006
44. Coelmont L, Paeshuysse J, Kaptein S i wsp: The cyclophilin Debio-025, a potent inhibitor of hepatitis C virus replication *in vitro* has a unique resistance profile. 1<sup>st</sup> International Workshop on Hepatitis C Resistance and New Compounds. Boston, MA, USA, October 25–26, 2006
45. Inoue K, Umehara T, Ruegg UT i wsp: Evaluation of a cyclophilin inhibitor in hepatitis C virus-infected chimeric mice *in vivo*. *Hepatology*, 2007; 45(4): 921–28
46. Houck D, Hopkins S: Preclinical evaluation of SCY-635, a cyclophilin inhibitor with potent anti-HCV activity. *Hepatology*, 2006; 44: A534 (Abstract 934)
47. Neyts J: Selective inhibitors of hepatitis C virus replication. *Antiviral Res*, 2006; 71(1–2): 363–71
48. Cotler SJ, Morrissey MJ, Wiley TE i wsp: A pilot study of the combination of cyclosporin A and interferon alfacon-1 for the treatment of hepatitis C in previous nonresponder patients. *J Clin Gastroenterol*, 2003; 36(4): 352–55
49. Flisiak R, Feinman SV, Jablkowski M i wsp: Efficacy and safety of increasing doses of the cyclophilin inhibitor Debio 025 in combination with pegylated interferon alpha-2a in treatment naive chronic HCV patients. 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of European Association for the Study of the Liver, Milan, Italy, April 23–27, 2008
50. Inoue K, Yoshida M: Interferon combined with cyclosporine treatment as an effective countermeasure against hepatitis C virus recurrence in liver transplant patients with end-stage hepatitis C virus related disease. *Transplant Proc*, 2005; 37(2): 1233–34