

Stan badań nad nowymi lekami w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu C

Update on new drugs for chronic hepatitis C

Anna Parfieniuk-Kowerda, Robert Flisiak

Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Białystok, Polska

Summary: Hepatitis C virus infection affects 180 million people worldwide. Standard anti-HCV therapy is based on immunomodulatory effect of interferon and direct antiviral activity of ribavirin. The efficacy of this treatment, about 50% in most prevalent genotype 1 HCV infection, is unsatisfactory. Therefore there is an obvious need for the new therapeutic agents and modifications of standard therapy that would allow to enhance efficacy of treatment. The research on novel anti-HCV therapeutics is multidirectional. However, the main streams are focused on the inhibition of HCV specific enzymes and interfering in virus-host interactions. According to results of recent clinical trials the triple therapy based on pegylated interferon, ribavirin and protease inhibitor demonstrates significantly improved antiviral efficacy vs. standard treatment. Moreover, novel formulas of interferon and analogues of ribavirin, devoid of some unfavorable side effects, displaying increased antiviral potency might become the essential component of future anti-HCV therapy. Triple therapy seems to become standard in near future. Therefore, the following studies are targeted on the development of therapies without interferon or ribavirin.

Słowa kluczowe: STAT-C • inhibitor proteazy • inhibitor polimerazy • inhibitory cyklofiliny • HCV • wirusowe zapalenie wątroby • IFN • interferon • rybawiryna

Key words: STAT-C • polymerase inhibitors • protease inhibitors • cyclophilin inhibitors • HCV • hepatitis • IFN • interferon • ribavirin

Adres do korespondencji: Robert Flisiak, Klinika Chorób Zakaźnych i Hepatologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Żurawia 14, 15-540 Białystok, Polska

Wstęp

Zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) stanowi istotny problem medyczny z uwagi na wysoką częstość przewlekania się infekcji (u 80% zakażonych) oraz poważne następstwa w postaci marskości wątroby oraz raka wątrobowokomórkowego. Kolejnym zagadnieniem jest powszechność zakażenia HCV, które dotyczyć może około 2–3% światowej populacji ludzkiej, a w niektórych rejonach świata, np. w Egipcie, nawet 8% populacji. Dotychczas wyróżniono 6 genotypów HCV, z których najczęściej występującym jest genotyp 1, kolejno potem 3 oraz 2 [1]. Różnice genetyczne pomiędzy genotypami HCV są dość istotne, implikują ponadto czas i skuteczność leczenia przeciwwirusowego. Standardowe leczenie przeciwwirusowe oparte jest na podawanym raz w tygodniu w postaci iniekcji pegylowanym interferonie- α (peg-IFN- α) oraz codziennych doustnych dawkach rybawiryny (RBV). Skuteczność tej terapii, wyrażona w postaci trwałej odpowiedzi wirusologicznej, wynosi dla genotypu 1 około 50%, zaś w zakażeniach genotypami 3 lub 2 – 80–90% [2]. Trwała odpowiedź wirusologiczna

(SVR) jest definiowana niewykrywalnym HCV RNA w surowicy 24 tygodnie po zakończeniu leczenia. Część chorych nie uzyskuje SVR ze względu na działania uboczne stosowanych leków, wymagające redukcji dawek lub zaprzestania stosowania jednego lub nawet obu leków. U chorych, którzy nie osiągnęli SVR, zaobserwowano większe ryzyko progresji choroby do marskości i raka wątrobowokomórkowego. W związku z powyższym konieczne jest poszukiwanie nowych rozwiązań terapeutycznych o wyższej skuteczności i bezpieczeństwie stosowania, lepszej farmakokinetyce i dogodnej drodze stosowania.

Interferony

Odkrycie pegylowanego interferonu- α miało kluczowe znaczenie dla rozwoju terapii przeciwwirusowej w zakażeniu HCV. Umożliwiło wydłużenie okresu pomiędzy kolejnymi iniekcjami interferonu i istotnie zwiększyło skuteczność leczenia. Jednak częste działania niepożądane tej terapii implikują redukcję dawek i są przyczyną przedwczesnego odstawienia leczenia. Ponadto, częstość i droga podania interferonu

(IFN) jest mało dogodna, zaś skuteczność leczenia niesatysfakcjonująca, zwłaszcza w odniesieniu do zakażeń genotypem 1. Z tego też powodu, kierunki badań skupiają się na innych typach IFN (IFN- β , IFN- γ , IFN- λ , IFN- ω) oraz opracowaniu nowych form interferonu o lepszej farmakokinetyce, bądź dogodniejszym sposobie podania [3].

Interferony o długim okresie działania

Albinterferon (alb-IFN, Joulferon[®], Zalbin[®]) jest białkiem rekombinowanym, które powstało poprzez połączenie dwóch genów: ludzkiej albuminy (HSA: human serum albumin) oraz IFN- α -2b. Produkt tej fuzji genetycznej jest białkiem o masie cząsteczkowej 85,7-kDa, wykazującym wydłużony do około 141 godzin okres półtrwania charakterystyczny dla HSA oraz posiadającym przeciwwirusowe działanie IFN- α -2b [4]. Dwa badania kliniczne fazy III u nieleczonych dotychczas pacjentów zakażonych genotypami 1, 3 oraz 2, wykazały porównywalną do peg-IFN- α -2a skuteczność przeciwwirusową alb-IFN w dawkach 900 lub 1200 μ g podawanych co 2 tygodnie w skojarzeniu z RBV. Odsetek SVR, oceniany 24 tygodnie po zakończeniu 48-tygodniowej terapii u 1323 chorych zakażonych genotypem 1 HCV (badanie ACHIEVE-1), osiągnął 48,2% i 47,3% w grupach leczonych wymienionymi powyżej dawkami alb-IFN oraz 51% w grupie leczonej peg-IFN- α -2a [5]. W badaniu klinicznym III fazy ACHIEVE-2/3 u pacjentów zakażonych genotypami 3 lub 2 HCV, odsetek SVR wyniósł 79,8% i 80% w grupach leczonych alb-IFN oraz 84,8% u pacjentów leczonych peg-IFN- α -2a [6]. W obu badaniach ACHIEVE profil bezpieczeństwa i działań niepożądanych terapii z użyciem alb-IFN oceniono na porównywalny do peg-IFN- α -2a. W grupach leczonych alb-IFN wykazano jedynie większą częstość kaszlu i łysienia plackowatego. W trakcie badania zaprzestano podawania 1200 μ g alb-IFN co 2 tygodnie z uwagi na działania niepożądane ze strony układu oddechowego, jednak późniejsza analiza porównawcza badania radiologicznego klatki piersiowej wykazała podobną częstość występowania zmian śródmiąższowych we wszystkich grupach badania. Charakterystyka farmakokinetyki alb-IFN wskazuje, że może on być stosowany nawet co 4 tygodnie. Potwierdzenia tego poszukuje się w prowadzonych obecnie badaniach klinicznych fazy II, gdzie oceniana jest skuteczność wzrastających dawek alb-IFN podawanego co 4 tygodnie u chorych zakażonych genotypem 3 lub 2 HCV. We wcześniejszych badaniach u pacjentów uprzednio nieleczonych zakażonych genotypem 1 HCV niższa dawka 1200 μ g podawana co 4 tygodnie zapewniała uzyskanie SVR u 50,9% chorych, co było wartością nieco niższą niż w terapii standardowej z użyciem peg-IFN- α -2a (57,9%) czy schematach opartych na alb-IFN podawanym co 2 tygodnie w dawkach 900 μ g lub 1200 μ g (58,5% oraz 55,5%). Jednak dawkowanie co 4 tygodnie znacznie obniżało częstość występowania działań niepożądanych w postaci neutropenii i niedokrwiistości [7]. Analiza wyników badania fazy IIb wykazała dodatkowo przydatność oceny wiremii w 2 tygodniu leczenia. Szybka wstępna odpowiedź wirusologiczna (rapid initial virologic response – RIVR) definiowana jako obniżenie HCV RNA w surowicy $>2 \log_{10}$ IU/mL okazała się być przydatnym czynnikiem predykcyjnym dla uzyskania SVR. W opisywanym badaniu RIVR uzyskało około 32–50% pacjentów, spośród których aż 88–97% uzyskało SVR [8]. Inne badanie z zastosowaniem alb-IFN, przeprowadzone u chorych, którzy nie odpowiedzieli na wcześniejsze standardowe leczenie, wykazało 17,4% odsetek uzyskania SVR (10,7% dla genotypu 1), co uzasadnia znaną

z doświadczeń z peg-IFN- α celowość ponawiania terapii pomimo pierwotnej jej nieskuteczności [9].

Inne interferony o długim okresie działania są obecnie w fazie II (BLX-883, Omega IFN, IFN- α -2b XL) lub fazie I badań klinicznych (IL-29 – IFN typu III). Interferon omega (IFN- ω) jest naturalnie występującym IFN typu I, który wykazuje 60% homologię z IFN- α . W grupie 102 uprzednio nieleczonych pacjentów zakażonych genotypem 1 HCV skuteczność leczenia IFN- ω podawanym codziennie, wyrażona jako SVR, wynosiła 6% w monoterapii oraz 36% w terapii skojarzonej z RBV [10]. Obecnie trwają badania fazy Ib w grupie pacjentów z nawrotem wirusologicznym, którym IFN- ω podawany jest za pomocą podskórnej pompy zapewniającej uwalnianie stałej ilości IFN przez miesiąc.

Interferon- α -2b o kontrolowanym uwalnianiu (BLX-883, LocteronTM, controlled-release IFN- α -2b) jest rekombinowanym IFN- α -2b, którego cząsteczki związane są z polimerowymi mikrosferami. Umożliwia to uzyskanie stałego uwalniania wolnego IFN- α -2b do krążenia przed około 2 tygodnie [11]. Badanie fazy IIa w grupie 32 nieleczonych pacjentów, zakażonych genotypem 1 HCV wskazuje na korzystne działania przeciwwirusowe, profil farmakokinetyczny oraz tolerancję leczenia Locteronem. Wczesna odpowiedź wirusologiczna (EVR – early viral response) w terapii skojarzonej Locteronem podawanym co 2 tygodnie z codzienną dawką RBV wynosiła 37,5%, 87,5%, 100% i 100% dla kolejnych dawek 160 μ g, 320 μ g, 480 μ g oraz 640 μ g. Natomiast redukcja wiremii dla kolejnych wymienionych dawek w 12 tygodniu wynosiła 1,8-, 4,5-, 4,2- oraz 4,8-log [12]. W krótkim 4-tygodniowym badaniu oceniającym tolerancję i działania niepożądane Locteronu w porównaniu z peg-IFN- α -2b zaobserwowano mniejszą częstość objawów grypopodobnych i miejscowych reakcji związanych z iniekcją u chorych leczonych Locteronem [13].

Interferon α -2b XL jest kolejną formą IFN o powolnym uwalnianiu. Cząsteczka IFN- α -2b XL jest zbudowana z rekombinowanego IFN- α -2b zakotwiczonego na powierzchni samoorganizujących się nanocząsteczek poliaminokwasów. Badania fazy Ib wskazują na znacząco korzystniejszy efekt przeciwwirusowy i bezpieczeństwo terapii IFN- α -2b XL w porównaniu ze stosowaniem peg-IFN- α -2b [14].

Interleukina 29 (IL-29, type III IFN, IFN- λ -1) jest występującą naturalnie cytokiną o właściwościach przeciwwirusowych. Interleukina 29 stanowi element odpowiedzi immunologicznej. Wykazano, że jej produkcja wzrasta w komórkach zakażonych przez wirusy. Mechanizm działania IL-29 wydaje się być podobny do IFN- α , ponieważ angażuje te same komórki szlaki sygnalizacyjne. Korzystną cechą IL-29 jako leku przeciwwirusowego jest fakt, że receptory dla IL-29, w odróżnieniu od szeroko rozpowszechnionych receptorów dla IFN- α , występują głównie na komórkach podatnych na zakażenie wirusowe, w tym hepatocytach. Ekspresja receptora IL-29 na komórkach pochodzenia hematopoetycznego jest niska, czego efektem jest mniejsza częstość hematologicznych powikłań towarzyszących terapii IL-29. Przedmiotem aktualnych badań klinicznych jest pegylowana forma IL-29 (peg-IFN- λ). Dotychczas zakończono badania kliniczne fazy Ib w grupie pacjentów z niepowodzeniem terapeutycznym w postaci nawrotu wirusologicznego. Wyniki tych badań wskazują na korzystny efekt przeciwwirusowy oraz zadowalające bezpieczeństwo monoterapii peg-IFN- λ . W 29



dniu leczenia zaobserwowano średnie obniżenie wirēmii HCV o 3,6 log dla dawki 1,5 µg/kg/tydz. Ponadto, w ciągu 4 tygodni obserwacji nie stwierdzono u leczonych chorych powikłań w postaci neutropenii, trombocytopenii lub niedokrwistości [15].

Interferony w postaci doustnej

Innym kierunkiem badań jest opracowanie form interferonów do podaży doustnej. Dwa preparaty znajdują się obecnie we wczesnych fazach badań klinicznych: Oral IFN – Amarillo w fazie II oraz Belerofon w fazie I. W badaniach nad doustnym interferonem firmy Amarillo Biosciences ocenie poddawana jest efektywność tego preparatu podawanego w niskich dawkach po zakończeniu terapii standardowej w celu zapobiegania nawrotowi wirusologicznemu [16].

Rybawiryna i jej analogi

Skojarzenie interferonoterapii z RBV w leczeniu przewlekłych zakażeń HCV umożliwiło uzyskanie znaczącego wzrostu odsetka SVR oraz zmniejszyło ryzyko nawrotu wirusologicznego. Rybawiryna wydaje się być integralnym składnikiem terapii przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C, pomimo częstych działań niepożądanych w postaci niedokrwistości. Dotychczasowe badania nad nowymi lekami, wskazują na obniżenie SVR w grupach chorych nie otrzymujących RBV [17,18]. Analog RBV, tarybawiryna (wiramidyna) jest związkiem, który jest gromadzony w erytrocytach w mniejszym stopniu niż RBV. Przez to rzadziej powoduje niedokrwistość hemolityczną stanowiącą główne działanie uboczne RBV, które jest często powodem redukcji dawek lub odstawienia leku zmniejszając szanse na uzyskanie SVR. Badania fazy IIb w grupie 278 uprzednio nieleczonych chorych zakażonych genotypem I HCV, którzy otrzymywali peg-IFN- α -2b oraz tarybawirynę w dawkach 20, 25 lub 30 mg/kg/dobę przez 48 tygodni, wykazały wyższy odsetek SVR oraz znacząco niższą częstość występowania poważnej niedokrwistości w porównaniu do chorych otrzymujących RBV [19].

Inhibitory enzymów cyklu replikacyjnego HCV

Hamowanie cyklu replikacyjnego HCV za pomocą leków działających bezpośrednio jest jednym z nowych kierunków rozwoju terapii przeciwwirusowych. Teoretycznie, wydaje się być możliwa ingerencja na każdym etapie cyklu rozwojowego HCV, od momentu połączenia wirusa z komórką, poprzez cykl replikacyjny, do uwolnienia wirionów potomnych. Stąd też, prowadzone są intensywne badania nad związkami przeciwwirusowymi o różnych mechanizmach działania. Skojarzenie leków z różnych grup pozwoliłoby uzyskać zwiększenie potencjału przeciwwirusowego terapii, zapobiegałoby rozwojowi mutacji warunkujących oporność na leczenie, umożliwiłoby skrócenie czasu leczenia, zmianę dawkowania leków oraz ograniczyłoby ilość działań niepożądanych i tzw. „przystawalność” pacjentów do leczenia. Niestety, w przypadku wielu substancji wykazujących działanie przeciwwirusowe w badaniach *in vitro*, nie udało się potwierdzić tego efektu w badaniach *in vivo*. Co więcej, wiele leków, które już zostały zakwalifikowane do badań klinicznych, okazuje się mieć działania niepożądane, które implikują zatrzymanie lub wycofanie badań nad danym związkiem przeciwwirusowym. Badania w fazie przedklinicznej oraz klinicznej

skupiają się aktualnie na inhibitorach wejścia wirusa do komórki, inhibitorach NS3/4 proteazy i NS5B polimerazy, inhibitorach białka NS5A, związkach ingerujących w interakcje wirus-komórka gospodarza oraz związkach hamujących wytwarzanie i uwalnianie wirionów potomnych.

Inhibitory proteazy serynowej NS3/4

Badania kliniczne nad tą grupą leków są w chwili obecnej najbardziej zaawansowane i dostarczają obiecujących wyników. Dwa związki, telaprewir (VX-950) oraz boceprewir (SCH-503034), są aktualnie w fazie III badań klinicznych. W fazie I lub II zaawansowania klinicznego są związki TMC-435, SCH-900518 (518), MK-7009, R-7227 (ITMN-191), VX-500, PHX-1766, VX-813, BI-201335, ABT-450 HCV oraz ACH-1625 [20].

Telaprewir jest selektywnym odwracalnym peptydomimetycznym inhibitorem proteazy serynowej NS3/4 HCV. Związek ten wiąże się w sposób kowalencyjny z miejscem katalitycznym tego enzymu. Obecnie są przeprowadzane badania fazy III u pacjentów dotychczas nieleczonych (badanie ADVANCE) oraz u chorych z niepowodzeniem terapii w wywiadzie (badanie REALIZE). Dotychczasowe wyniki badań potwierdzają skuteczność przeciwwirusową tego leku u chorych zakażonych genotypem I HCV. Dostępne wyniki badań klinicznych II fazy u wcześniej nieleczonych pacjentów zakażonych genotypem I (badanie PROVE-1 w USA oraz badanie PROVE-2 w Europie) wskazują na wyższy potencjał przeciwwirusowy schematów zawierających telaprewir, w dawce 750 mg podawanej 3-krotnie w ciągu doby, w porównaniu do leczenia standardowego. Rozpoczynanie leczenia terapią skojarzoną trójlekową (peg-IFN- α -2a + RBV + VX-950) utrzymywaną przez 12 tygodni, a następnie kontynuacja przez 36 lub 12 tygodni leczenia peg-IFN- α -2a z RBV umożliwiło uzyskanie SVR u 61–69% pacjentów vs. 46% w grupie kontrolnej leczonej terapią standardową. Schemat badań PROVE oraz szczegółowe ich wyniki zostały przedstawione w Tabeli 1. W badaniu PROVE-2, w 12-tygodniowych schematach nie zawierających RBV zaobserwowano wzrost częstości występowania przełomów wirusologicznych (24%) oraz selekcji szczepów opornych na telaprewir w związku z występowaniem licznych mutacji (R155K, A156T, A156S, T54T/A, V36M/R155K, T54A/A156S, V36V/A, A156S/T, T54T/A, R155R/K, A156A/S/T). W schematach leczenia zawierających RBV odsetek przełomów wirusologicznych wyniósł 3%, zaś zidentyfikowane warianty HCV odporne na telaprewir nosiły mutacje: A156T oraz V36M/R155K. Terapia telaprewirem wiązała się z częstszym występowaniem zmian skórnych i świądu skóry, powikłań hematologicznych w postaci niedokrwistości, bólów głowy, nudności i astenii [17,21]. Interesujących wyników dostarcza badanie PROVE-3 u pacjentów z nieskutecznością leczenia w przeszłości. Trwałą odpowiedź wirusologiczną uzyskano u 51–52% pacjentów leczonych terapią trójlekową, w porównaniu do 23% w terapii skojarzonej peg-IFN- α -2a z telaprewirem oraz do 14% w leczeniu standardowym. Szczególnie korzystny efekt przeciwwirusowy zaobserwowano w grupie chorych z uprzednim niepowodzeniem leczenia w postaci nawrotu wirusologicznego (SVR: 69–76%) oraz u tych, którzy nie uzyskali EVR w trakcie wcześniejszego leczenia standardowym zestawem leków (SVR: 38–39%). Ponadto, w schemacie badania bez RBV zaobserwowano zdecydowanie wyższy odsetek nawrotów wirusologicznych (53%) [18]. Wstępne wyniki badań fazy II u pacjentów zakażonych genotypami innymi niż

Table 1. Schematy leczenia, SVR i odsetek nawrotów wirusologicznych w badaniach PROVE-1, PROVE-2 i PROVE-3.

Badanie	Schemat leczenia	SVR (%)	wartość p vs. PR48	Odsetek nawrotów (%)
PROVE-1 n=250	T12/PR12	35	Nd.	33
	T12/PR24	61	0.02	2
	T12/PR48	67	0.002	6
	PR48	41	–	23
PROVE-2 n=323	T12/PR12	62	0.12	29
	T12/PR24	68	0.04	14
	T12/P12	36	0.20	48
	PR48	48	–	20
PROVE-3 n=453	T12/PR24	51	<0.001	28
	T24/PR48	52	<0.001	4
	T24/P24	23	0.035	53
	PR48	14	–	52

SVR – trwała odpowiedź wirusologiczna (sustained virologic response); Nd. – nie ustalona (not determined);

T12/PR12 – telaprewir + peginterferon α -2a + rybawiryna przez 12 tyg.;

T12/PR24 – telaprewir + peginterferon α -2a + rybawiryna przez 12 tyg., a następnie peginterferon α -2a + rybawiryna przez 12 tyg.;

T12/PR48 – telaprewir + peginterferon α -2a + rybawiryna przez 12 tyg., a następnie peginterferon α -2a + rybawiryna przez 36 tyg.;

T12/P12 – telaprewir + peginterferon α -2a przez 12 tyg.; T24/P24 a telaprewir + peginterferon α -2a przez 24 tyg.;

PR48 – peginterferon α -2a + rybawiryna przez 48 tyg.

genotyp 1 wskazują na przydatność telaprewiru w leczeniu zakażeń genotypami 2 oraz 4, podczas gdy w zakażeniach genotypem 3 działanie przeciwwirusowe telaprewiru jest ograniczone [22,23].

Boceprewir jest innym lekiem przeciwwirusowym z grupy peptydomimetycznych inhibitorów NS3/4 proteazy serynowej HCV, który obecnie jest w III fazie badań klinicznych (badanie SPRINT-2). W badaniu fazy II oceniającym bezpieczeństwo i skuteczność terapii zawierających boceprewir w dawce 800 mg podawanej 3-krotnie w ciągu doby wykazano istotną poprawę odpowiedzi wirusologicznej u chorych uprzednio nieleczonych otrzymujących terapię zawierającą boceprewir (Tabela 2). Najwyższy wskaźnik SVR, 75%, uzyskano w schemacie leczenia peg-IFN- α -2b z RBV przez 4 początkowe tygodnie, a następnie trójlekową terapią skojarzoną peg-IFN- α -2b z RBV i boceprewirem przez 44 tygodnie. Skojarzona terapia trójlekowa stosowana przez 48 tygodni zapewniała uzyskanie SVR u 67% pacjentów w tym badaniu. Dla porównania, w grupie kontrolnej tego badania otrzymującej standardowe leczenie peg-IFN- α -2b z RBV uzyskano 38% SVR. Częstość i charakter działań niepożądanych zaobserwowanych w badaniu zasadniczo nie różniły się istotnie od leczenia standardowego, w tym zawierały się zmiany skórne (wysypki), świąd skóry, zmęczenie, nudności i bóle głowy. Jednak w grupach leczonych boceprewirem odnotowano częstsze występowanie niedokrwiistości oraz zaburzeń czucia smaku [24,25]. Wyniki badania u pacjentów, którzy nie odpowiedzieli wcześniej na leczenie standardowe wskazują na skuteczność przeciwwirusową i bezpieczeństwo monoterapii boceprewirem, jak i terapii skojarzonej boceprewirem i peg-IFN- α -2b [26].

Leczenie inhibitorami proteazy jest obciążone ryzykiem powstawania mutacji definiujących oporność HCV na tę grupę leków. Dotychczas opisano kilka mutacji w obrębie genu

kodującego NS3/4A powstałych w warunkach *in vitro*, w replikonie HCV oraz *In vivo*, determinujących oporność na telaprewir i boceprewir. U pacjentów zakażonych genotypem 1 HCV, leczonych telaprewirem, pomimo obserwowanej stałej supresji wirusa, wykazano selekcję wariantów HCV noszących mutacje oporności na telaprewir. Oporność na telaprewir niskiego stopnia determinowana była przez obecność mutacji V36A/M, T54A, R155K/T oraz A156S. Natomiast obecność pojedynczej mutacji A156V/T lub mutacji złożonych V36A/M-R155K/T i V36A/M-A156V/T określały wysoki stopień oporności wirusa na telaprewir [27]. Leczenie boceprewirem indukowało mutacje określające oporność stopnia niskiego (V36G, T54S, R155L), średniego (T54A, V55A R155K, V170A, A156S) oraz wysokiego (A156T) [28].

Obserwowane w badaniach mutacje wskazują na istnienie krzyżowej oporności HCV na inhibitory proteazy, co uniemożliwia zastosowanie terapii skojarzone zawierającej leki z tej samej grupy. Interesującą obserwacją jest fakt, że mutanty HCV o wysokiej oporności na leczenie inhibitorami proteazy charakteryzowały się niższym potencjałem replikacyjnym w porównaniu z tzw. „wirusem dzikim”. W związku z obserwacją, że monoterapia inhibitorami proteazy wiąże się z wysokim ryzykiem selekcji szczepów posiadających mutacje, trójlekowe skojarzenie terapii z interferonem i RBV wydaje się być korzystne, a zgodnie z aktualną wiedzą medyczną wręcz nieodzowne. Ciekawym rozwiązaniem jest zastosowanie w badaniach nad terapią potrójną z boceprewirem, 4-tygodniowego dawkowania wprowadzającego bez boceprewiru. Pomimo skrócenia całkowitego czasu dawkowania tego leku powodowało to poprawę SVR w porównaniu z grupami chorych bez dawkowania wprowadzającego.

Trwają jednak badania nad schematami terapii przeciw HCV z pominięciem interferonu. Pierwszym badaniem klinicznym



Table 2. Schemat leczenia, SVR i odsetek nawrotów wirusologicznych w badaniu SPRINT-1.

Badanie	Schemat leczenia	SVR (%)	Wartość p vs. PR48	Odsetek nawrotów (%)
SPRINT-1	P/R/B28	55	0.0082	30
n=595	P/R4 lead in → P/R/B24	56	0.0048	24
	P/R/B48	67	<0.0001	7
	P/R4 lead in → P/R/B44	75	<0.001	3
	P/ low dose R/B48	36	Nd.	23
	PR48	38	–	24

SVR – trwała odpowiedź wirusologiczna (sustained virologic response); Nd. – nie ustalona (not determined);

P/R/B28 – peginterferon α -2b + rybawiryna + boceprewir przez 28 tyg.;

P/R4 lead in → P/R/B24 – peginterferon α -2b + rybawiryna f przez 4 tyg., a następnie peginterferon α -2b + rybawiryna + boceprewir przez 24 tyg.;

P/R/B48 – peginterferon α -2b + rybawiryna + boceprewir przez 48 tyg.;

P/R4 lead in → P/R/B44 – peginterferon α -2b + rybawiryna przez 4 tyg., a następnie peginterferon α -2b + rybawiryna + boceprewir przez 44 tyg.;

P/ low dose R/B48 – peginterferon α -2b + niska dawka rybawiryny (400–1000 mg/d) + boceprewir przez 48 tyg.

w tym zakresie jest badanie INFORM-1, oceniające terapię skojarzoną inhibitorem proteazy (R-7227) i polimerazy HCV (R-7128). Obniżenie wirerii o 5,2 log po 14 dniach leczenia wskazuje na więcej niż addycyjny efekt przeciwwirusowy [29]. Inne inhibitory proteazy są w fazie I lub II badań klinicznych oceniających bezpieczeństwo, tolerancję u zdrowych ochotników oraz dodatkowo potencjał przeciwwirusowy u chorych zakaźnych HCV. Uzyskane rezultaty wskazują kandydatów do dalszych badań oraz wyeliminują związki nieskuteczne lub niebezpieczne.

Inhibitory NS4B oraz NS5A

Białko niestrukturalne 4B wirusa zapalenia wątroby typu C jest odpowiedzialne za połączenie kompleksu replikacyjnego HCV z siateczką wewnątrzplazmatyczną, co umożliwia kolejne etapy replikacji wirusa. Aktualnie kilka związków wykazujących hamujące działanie wobec NS4B jest przedmiotem badań. Jednym z nich jest klemizol, popularny lek przeciwhistaminowy, który w badaniach *in vitro* hamował replikację HCV.

Innym mechanizmem ingerencji w cykl replikacyjny HCV jest hamowanie białka NS5A. Rola tej cząstki w cyklu życiowym wirusa nie jest do końca poznana. Sugeruje się, że NS5A może być kofaktorem proteazy NS3, umożliwiającym połączenie jej z siateczką endoplazmatyczną i zwiększającym jej aktywność. Przedstawicielem grupy inhibitorów NS5A jest związek BMS-790052, który w badaniach klinicznych I fazy wykazał wysoką skuteczność przeciwwirusową a także dobry profil bezpieczeństwa i tolerancji [30].

Inhibitory polimerazy NS5B

Białko niestrukturalne NS5B pełni rolę RNA-zależnej polimerazy RNA, kluczowego enzymu w cyklu replikacyjnym HCV. Inhibitory polimerazy HCV hamować mogą kolejne etapy syntezy HCV RNA, od inicjacji do elongacji. Są one dzielone ze względu na budowę i wynikający z tego mechanizm działania, na dwie grupy: nukleozydowe i nienukleozydowe. Inhibitory nukleozydowe są wbudowywane przez polimerazę HCV do łańcuchów RNA, co prowadzi do zahamowania elongacji i zakończenia transkrypcji (R-7128). Inhibitory nienukleozydowe łączą się allosterycznie z białkiem NS5B prowadząc do zmian konformacyjnych tej cząsteczki. Inhibitory

polimerazy HCV są aktualnie w badaniach klinicznych fazy II (GS-9190, VCH-759, BI-207127, ANA-598,) lub fazy I (PSI-7851, IDX-184, MK-3281, ABT-333, VCH-916, PF-00868554, R-7128, VCH-222, ABT-072). Dotychczas zamierzano kontynuację badań klinicznych nad kilkoma inhibitorami polimerazy (walopicytamina – NM-283, BILB-1941, HCV-796, R-1626) z powodu odnotowanych działań niepożądanych lub niekorzystnego profilu ryzyka do korzyści odniesionych z terapii. Stosowanie inhibitorów polimerazy HCV, podobnie do inhibitorów proteazy, może prowadzić do selekcji opornych na leczenie wariantów wirusa z możliwością istnienia oporności krzyżowej w obrębie tej grupy leków.

GS-9190 jest nowym nienukleozydowym inhibitorem NS5B polimerazy, badany aktualnie w fazie II badań klinicznych w skojarzeniu z peg-IFN i RBV. Wyniki badania fazy I u 31 chorych zakaźnych genotypem 1 HCV wskazują na 1,49 log redukcje HCV RNA po 24 godzinach leczenia oraz 1,7 log po 8 dniach monoterapii [31].

Efekt monoterapii BI-207127 (nienukleozydowy inhibitor polimerazy HCV) prowadzonej u dotychczas nieleczonych 48 chorych zakaźnych genotypem 1 HCV była redukcja wirerii w 5 dniu o 0,6-3,1 log w zależności od dawki leku [32]. Zastosowanie monoterapii ANA-598, również nienukleozydowego inhibitora polimerazy, średnia redukcja HCV RNA po 3 dobach leczenia wyniosła w tym badaniu 2,4 log [33]. Podobne wyniki uzyskano w badaniach VCH-916 oraz VCH-759. Analogicznie do inhibitorów proteazy, stosowanie inhibitorów polimerazy w monoterapii wiązało się z mutacjami warunkującymi lekooporność w ramach tej samej grupy leków (L419S/M, M423T/V/I, I482L i V494A) i przełomem wirusologicznym [34–36].

Badania kliniczne fazy I nad nukleozydowym inhibitorem polimerazy HCV, R-7128, wskazują na wysoką skuteczność przeciwwirusową w grupie nieleczonych pacjentów zakaźnych genotypem 1 (RVR >85% vs. 19% w leczeniu standardowym) i korzystny profil bezpieczeństwa [37]. Podobne wyniki badań uzyskano również w grupie pacjentów zakaźnych genotypami 2 lub 3 z niepowodzeniem terapii w przeszłości [38]. W badaniach nad R-7128 odnotowano wystąpienie mutacji S282T warunkującej średniego stopnia oporność na ten lek. Obecnie trwają badania oceniające skojarzoną terapię inhibitorem proteazy (R-7227) oraz R-7128. Wspomniane

już wcześniej wyniki badania INFORM-1, które były przedstawione na kongresie Amerykańskiego Towarzystwa Badań nad Chorobami Wątroby (AASLD) w 2009 roku wskazują na wysoka skuteczność przeciwwirusową tego skojarzenia, niskie ryzyko wystąpienia mutacji oraz przemawiają za dalszą kontynuacją badań w tym kierunku.

Leki wpływające na czynniki komórkowe i ich interakcje z HCV

Inhibitory cyklofiliny

Wpływ na interakcje pomiędzy HCV a elementami komórki gospodarza jest jedną z atrakcyjniejszych koncepcji badań nad lekami przeciwwirusowymi w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu C. W związku ze złożonym cyklem życiowym HCV i skomplikowanymi interakcjami pomiędzy wirusem a komórką gospodarza, związki te wykazują różnorodność mechanizmów działania. Najbardziej zaawansowane badania kliniczne trwają obecnie nad grupą inhibitorów cyklofiliny. Cyklofiliny są białkami wewnątrzkomórkowymi biorącymi udział w różnorodnych procesach komórkowych. Badania ostatnich lat dowodzą, że cyklofiliny mogą również wpływać na cykl replikacyjny HCV w komórce gospodarza. Sugeruje się wpływ cyklofilin A lub B, lecz dokładny mechanizm tych interakcji nie został do końca poznany, zaś dostępne wyniki badań nie są jednoznaczne. Cyklofilina A (Cyp A), która okazuje się być elementem koniecznym w procesie replikacji HCV, wchodzi w interakcję z polimerazą NS5B HCV [39]. Badania Watashi i wsp. wskazują, że cyklofilina B (Cyp B) pełni funkcje wewnątrzkomórkowego kofaktora RNA-zależnej polimerazy RNA, ułatwiając wiązanie HCV RNA z polimerazą i przez to promując replikację wirusa [40]. W związku z powyższym należy się spodziewać że substancje hamujące aktywność lub blokujące Cyp powinny wpływać hamująco na replikację HCV [41]. Potwierdziły to badania *in vitro* z wykorzystaniem modelu replikonu HCV genotypu 1, a w mniejszym stopniu również genotypu 2a HCV [42]. Pierwszym odkrytym inhibitorem Cyp B, o potwierdzonym działaniu przeciwwirusowym była cyklosporyna A (CsA). W badaniach klinicznych wykazano, że w terapii skojarzona IFN- α z CsA redukcja HCV RNA była większa, niż w przypadku monoterapii IFN- α [43]. Jednak, zastosowanie CsA w leczeniu wirusowego zapalenia wątroby typu C jest ograniczone ze względu na immunosupresyjne właściwości wynikające z hamowania kalcineuryny. Badacze sugerują, że CsA może mieć zastosowanie w prowadzeniu po przeszczepie wątroby pacjentów zakażonych HCV. Jednak dotychczasowe wyniki badań nie są jednoznaczne [44–47]. Dalsze badania nad inhibitorami cyklofilin doprowadziły do zsyntetyzowania substancji pobawionych aktywności antykalcineurynowej, a przez to immunosupresyjnej, takich jak: Debio-025, SCY-635 oraz NIM-811.

Debio-025 jest pierwszym, pozbawionym działania immunosupresyjnego, podawanym w formie doustnej inhibitorem cyklofiliny skutecznie hamującym replikację HCV. Aktualnie badania kliniczne tego związku u pacjentów zakażonych HCV są w fazie IIb. Dotychczasowe wyniki badań zarówno *in vitro* jak i *in vivo* są niezwykle obiecujące [48–51]. Wstępne badania na modelu replikonu HCV wskazują na wysoki potencjał przeciwwirusowy Debio-025 w porównaniu z CsA [49]. W dalszych badaniach udowodniono skuteczność przeciwwirusową Debio-025 w modelach replikonu wirusa dzikiego HCV oraz wariantów opornych na inhibitory proteazy i polimerazy HCV [52]. Co więcej, stosowanie

Debio-025 zapobiegało rozwojowi oporności wirusa na wymienione grupy leków. Nierealne w warunkach klinicznych wielokrotne pasażowanie replikonu HCV w rosnących stężeniach Debio-025 pozwoliło na uzyskanie wariantu wirusa wykazującego pewną oporność na leczenie Debio-025, który był jednak podatny na działanie inhibitorami proteazy i polimerazy HCV [49]. W badaniach *in vitro* skojarzenie Debio-025, IFN- α -2a, RBV lub nowymi lekami anty-HCV skutkowało co najmniej addycyjnym efektem przeciwwirusowym [49,52]. Badanie kliniczne fazy I w grupie chorych ze współzakażeniem HIV/HCV potwierdziło aktywność przeciwwirusową Debio-025, prowadząc do obniżenia wiremii HCV o 3,4 log, zaś HIV o 1 log w 15 dniu monoterapii. Aktywność przeciwwirusowa Debio-025 była zależna od genotypu HCV, co wyrażało się obniżeniem wiremii o 3,2 log w zakażeniu genotypem 1 HCV oraz 4,5 log w zakażeniu genotypem 3 HCV. W badaniu klinicznym fazy 2 (n=90) zaobserwowano addycyjny efekt skojarzenia leczenia Debio-025 w dziennej dawce 600 lub 1000 mg i peg-IFN- α -2a. W zakażeniu genotypem 1 oraz 4 HCV odnotowano redukcję wiremii HCV o 4,6 log (Debio-025 600mg/d) oraz 4,8 log (Debio-025 1000mg/d) w 28 dniu leczenia. W zakażeniu genotypem 3 efekt przeciwwirusowy terapii skojarzonej był silniejszy, co skutkowało niewykrywalnością HCV RNA w 4 tygodniu leczenia u większości pacjentów i średnim obniżeniem wiremii o 5,9 log [50]. Bezpieczeństwo stosowania i profil działań niepożądanych terapii skojarzonej Debio-025 i peg-IFN- α -2a był zbliżony do obserwowanego w monoterapii peg-IFN- α -2a. Głównym działaniem niepożądanym Debio-025 stosowanego w dawce 1000 mg na dobę była zaobserwowana u części pacjentów przejściowa hiperbilirubinemia. W przeciwieństwie do inhibitorów proteazy i polimerazy Debio-025 wykazuje aktywność wobec najważniejszych czterech genotypów HCV, a ponadto dotychczas w badaniach klinicznych nie zaobserwowano przełomów wirusologicznych oraz pomimo intensywnego poszukiwania nie stwierdzono selekcji wariantów wirusa opornych na leczenie Debio-025 [48,50].

Inne inhibitory cyklofiliny, SCY-635 oraz NIM-811, są w fazie I badań klinicznych. W badaniach przedklinicznych substancje te wykazywały aktywność przeciw wirusom HCV i HIV, która była potęgowana dodatkowo poprzez skojarzenie tych związków z IFN lub inhibitorami proteazy i polimerazy [53–55]. Monoterapia SCY-635 w badaniu klinicznym fazy Ib u pacjentów zakażonych genotypem 1 HCV skutkowało redukcją HCV RNA w surowicy o 2,2 log w 15 dniu leczenia [56]. Z kolei, leczenie skojarzone NIM-811 z peg-IFN- α -2a u pacjentów z nawrotem wiremii po standardowym leczeniu przeciwwirusowym prowadziło do obniżenia wiremii o 2,8 log w 15 dniu terapii [57].

Nitazoksanid

Nitazoksanid (NTZ) jest lekiem zarejestrowanym do leczenia zarażeń pasożytniczych. Badania ostatnich lat wskazują, że nitazoksanid posiadać może aktywność przeciwwirusową i może mieć zastosowanie w leczeniu zakażeń HCV. Prawdopodobny mechanizm działania NTZ polega na nasileniu fosforylacji eukariotycznego czynnika inicjującego translację 2- α , który jest głównym mediatorem odpowiedzi przeciwwirusowej w zakażonej komórce. W związku z powyższym NTZ powinien nasilać efekt przeciwwirusowy IFN. Faktycznie, w badaniach klinicznych fazy II w grupie osób zakażonych genotypem 4 HCV (n=96), skojarzona terapia (12 tyg. NTZ, następnie 36 tyg. NTZ, peg-IFN- α -2a, RBV)



umożliwiła uzyskanie SVR u 79% pacjentów w porównaniu z 50% w terapii standardowej [58]. Wstępna ocena skuteczności leczenia w badaniu fazy II u chorych zakażonych genotypem 1 wykazała EVR u 80% pacjentów otrzymujących trójlekową terapię vs. 68% u chorych leczonych zgodnie z obowiązującymi standardami [59].

Inne leki hamujące replikację, wnikanie oraz uwalnianie wirionów potomnych HCV

Badania cyklu replikacyjnego HCV umożliwiły rozwój nowych koncepcji badawczych nad lekami przeciwwirusowymi działającymi na poszczególnych etapach tego cyklu. Spośród związków hamujących wejście HCV do komórki, translację poliproteiny HCV oraz uwolnienie wirionów potomnych tylko nieliczne weszły do fazy klinicznej badań. Aktualnie we wczesnych etapach badań klinicznych są inhibitory wejścia HCV do komórki (ITX5061 – blokujący błonowy receptor komórkowy SR-B1), szczepionki terapeutyczne (IC41, ChronVac-C, CT-1011, TG-4040, GI-5005/Tarmogen, PeviPROTM), przeciwciała monoklonalne (bavituximab – przeciwciał antyfosfolipidowe) i poliklonalne (Civacir), antagonyści specyficznego komórkowego mikro-RNA indukującego replikację HCV (antimiR-122, SPC-3649), antagonyści receptorów TLR (ANA-773, IMO-2125) oraz inhibitory α -glukozydazy (celgosivir) hamujące uwalnianie wirionów potomnych.

Podsumowanie

Terapia peg-IFN- α oraz RVB jest obecnie standardem leczenia przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C. Niestety skuteczność tego leczenia jest niezadowalająca, zwłaszcza w odniesieniu do pacjentów zakażonych najbardziej popularnym

genotypem 1. Ponadto, niezbyt wygodna dla pacjenta konieczność cotygodniowych iniekcji interferonu oraz liczne działania niepożądane terapii peg-IFN- α oraz RVB zmuszają do poszukiwania nowych rozwiązań w zakresie terapii zakażeń HCV. Jedną z koncepcji jest opracowanie form interferonu o dłuższym okresie półtrwania, lepszej dostępności lub w formie doustnej, co pozwoliłoby zredukować ilość iniekcji oraz wielkość dawki leku, a tym samym nasilenie działań niepożądanych. Ma to ogromne znaczenie dla tzw. przystawalności pacjenta do leczenia, która ma bezpośredni związek z jego skutecznością. Podobne oczekiwania wiąże się z lekami działającymi bezpośrednio na cykl replikacyjny wirusa – inhibitorami proteazy oraz polimerazy HCV. Badania wskazują, że te związki mogą istotnie poprawić odpowiedź wirusologiczną na leczenie. Co więcej, pozwoliłyby na skrócenie czasu terapii, bez istotnego ryzyka wystąpienia poważnych działań niepożądanych. Stąd też, aktualne badania kliniczne ogniskują się przede wszystkim na ich aktywności przeciwwirusowej, tolerancji i bezpieczeństwie stosowania oraz ryzyku selekcji wariantów HCV opornych na leczenie. Atrakcyjnym celem badań jest również ingerencja w interakcje pomiędzy HCV a elementami komórkowymi, zwłaszcza że leki z tej grupy nie są tak podatne na powstawanie mutacji warunkujących lekooporność, jak inhibitory proteazy i polimerazy HCV. Badania ostatnich lat wskazują również na ważną pozycję RBV w terapii przeciwwirusowej. Wyeliminowanie RBV z terapii obniżyło szansę na uzyskanie SVR oraz skutkowało łatwiejszą selekcją szczepów opornych. Z uwagi na fakt, że częstym działaniem niepożądanym tego leku jest niedokrwistość hemolityczna, trwa poszukiwanie alternatyw w postaci analogów RBV. Na podstawie wyników uzyskanych w badaniach klinicznych podkreśla się również znaczenie szybkości uzyskania redukcji wirerii na początku leczenia, co ma znaczący wpływ na zmniejszenie ryzyka mutacji i uzyskanie SVR.

Piśmiennictwo:

1. Shepard CW, Finelli L, Alter MJ: Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis*, 2005; 5: 558–67
2. Zeuzem S: Interferon-based therapy for chronic hepatitis C: current and future perspectives. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2008; 5: 610–22
3. Thitinan S, McConville JT: Interferon alpha delivery systems for the treatment of hepatitis C. *Int J Pharm*, 2009; 369: 121–35
4. Balan V, Nelson DR, Sulkowski MS i wsp.: Modulation of interferon-specific gene expression by albumin-interferon-alpha in interferon-alpha-experienced patients with chronic hepatitis C. *Antivir Ther*, 2006; 11: 901–8
5. Zeuzem S, Sulkowski M, Lawitz E: Efficacy and safety of albinterferon alfa-2b in combination with ribavirin in treatment naive, chronic hepatitis C genotype 1 (CHC G1) patients. *J Hepatol*, 2009; 50: S377 (Abstract 1041)
6. Nelson D, Benhamou Y, Chuang W i wsp.: Efficacy and safety results of albinterferon alfa-2b in combination with ribavirin in interferon-alfa treatment naive patients with genotype 2 or 3 chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2009; 50: S378 (Abstract 1042)
7. Zeuzem S, Yoshida EM, Benhamou Y i wsp.: Albinterferon alfa-2b dosed every two or four weeks in interferon-naive patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2008; 48: 407–17
8. Neumann AU, Pianko S, Zeuzem S i wsp.: Positive and negative prediction of sustained virologic response at weeks 2 and 4 of treatment with albinterferon alfa-2b or peginterferon alfa-2a in treatment-naive patients with genotype 1, chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2009; 1: 21–28
9. Nelson DR, Rustgi V, Balan V i wsp.: Safety and antiviral activity of albinterferon alfa-2b in prior interferon nonresponders with chronic hepatitis C. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2009; 7: 212–18
10. Novozhenov V, Zakharova N, Vinogradova E i wsp.: Phase 2 study of omega interferon alone or in combination with ribavirin in subjects with chronic hepatitis C genotype-1 infection. *J Hepatol*, 2007; 46: S8 (Abstract 11)
11. De Leede LG, Humphries JE, Bechet AC i wsp.: Novel controlled-release Lemna-derived IFN-alpha2b (Locteron): pharmacokinetics, pharmacodynamics, and tolerability in a phase I clinical trial. *J Interferon Cytokine Res*, 2008; 28: 113–22
12. Dzyublyk I, Yegorova T, Moroz L i wsp.: Phase 2a study to evaluate the safety and tolerability and antiviral efficacy of 4 doses of a novel, controlled-release interferon alfa-2b (Locteron) given every 2 weeks for 12 weeks in treatment-naive patients with chronic hepatitis C (genotype 1). *Hepatology*, 2006; 46: 863A-4A (Abstract LB10)
13. Lawitz E, Younossi ZM, Shiffman M i wsp.: Randomized trial comparing systemic and local reactions to controlled-release interferon alfa2b and pegylated-interferon alfa2b in hepatitis C patients who failed prior treatment. *J Hepatol*, 2009; 50: S231 (Abstract 628)
14. Trepo C, Guest M, Meyrueix R i wsp.: Evaluation of antiviral activity and tolerance of a novel sustained release interferon-alpha-2b (IFN-alpha-2bXL) compared to pegylated interferon-alpha-2b (Peg-IFN-alpha-2b): a phase Ib trial in HCV patients. *J Hepatol*, 2008; 48: S28 (Abstract 62)
15. Lawitz E, Zaman A, Muir AJ i wsp.: Interim results from a phase Ib dose-escalation study of 4 weeks of PEG-interferon lambda (PEG-rIL-29) treatment in subjects with hepatitis C virus (HCV) genotype 1 with prior virologic response and relapse to peginterferon alfa and ribavirin. *Hepatology*, 2008; 48: 385A (Abstract 170)
16. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00695019>. Interferon-Alpha Lozenges for Prevention of Relapse in Hepatitis C
17. Hezode C, Forestier N, Dusheiko G i wsp.: Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med*, 2009; 360: 1839–50
18. Manns M, Muir A, Adda N i wsp.: Telaprevir in hepatitis C genotype-1-infected patients with prior non-response, viral breakthrough or relapse to peginterferon-alfa-2a/b and ribavirin therapy: SVR results of the PROVE 3 study. *J Hepatol*, 2009; 50: S379 (Abstract 1044)

19. Poordad F, Lawitz E, Pozza R i wsp.: Efficacy and safety of weight-based regimens of taribavirin or ribavirin, given with peginterferon alfa-2b, at 12 weeks after treatment (SVR12) in naive patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2009; 50: S8 (Abstract 14)
20. Reiser M, Timm J: Serine protease inhibitors as anti-hepatitis C virus agents. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2009; 7: 537-47
21. McHutchison JG, Everson GT, Gordon SC i wsp.: Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*, 2009; 360: 1827-38
22. Foster GR, Hezode C, Bronowicki JP i wsp.: Activity of telaprevir alone or in combination with peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment-naive genotype 2 and 3 hepatitis-C patients: interim results of study C209. *J Hepatol*, 2009; 50: S22 (Abstract 50)
23. Benhamou Y, Moussalli J, Ratzui V i wsp.: Results of a proof of concept study (C210) of telaprevir monotherapy and in combination with peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment-naive genotype 4 hcv patients. *J Hepatol*, 2009; 50: S6 (Abstract 10)
24. Kwo P, Lawitz EJ, McCone J i wsp.: HCV SPRINT-1: Boceprevir plus Peginterferon alfa-2b/Ribavirin for Treatment of Genotype 1 Chronic Hepatitis C in Previously Untreated Patients. *Hepatology*, 2008; 48: 1027A (Abstract LB16)
25. Kwo P, Lawitz E, McCone J i wsp.: HCV SPRINT-1 final results: SVR 24 from a phase 2 study of boceprevir plus Pegintron™ (peginterferon alfa-2b)/ribavirin in treatment-naive subjects with genotype-1 chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2009; 50: S4 (Abstract 4)
26. Sarrazin C, Rouzier R, Wagner F i wsp.: SCH 503034, a Novel Hepatitis C Virus Protease Inhibitor, Plus Pegylated Interferon alpha-2b for Genotype 1 Nonresponders. *Gastroenterology*, 2007; 132: 1270-78
27. Kieffer TL, Sarrazin C, Miller JS i wsp.: Telaprevir and pegylated interferon-alpha-2a inhibit wild-type and resistant genotype 1 hepatitis C virus replication in patients. *Hepatology*, 2007; 46: 631-39
28. Tong X, Chase R, Skelton A i wsp.: Identification and analysis of fitness of resistance mutations against the HCV protease inhibitor SCH 503034. *Antiviral Res*, 2006; 70: 28-38
29. Gane EJ, Roberts SK, Stedman C i wsp.: First-in-man demonstration of potent antiviral activity with a nucleoside polymerase (R7128) and protease (R7227/ITMN-191) inhibitor combination in HCV: safety, pharmacokinetics, and virologic results from INFORM-1. *J Hepatol*, 2009; 50: S380(Abstract 1046)
30. Nettles R, Chien C, Chung E i wsp.: BMS-790052 is a first-in-class potent hepatitis C virus (HCV) NS5A inhibitor for patients with chronic HCV infection: results from a proof-of-concept study. *Hepatology*, 2008; 48: 1025A (Abstract LB12)
31. Bavisotto L, Wang CC, Jacobson IM i wsp.: Antiviral, pharmacokinetic and safety data for GS-9190, a non-nucleoside HCV NS5B polymerase inhibitor, in a phase-1 trial in HCV genotype 1 infected subjects. *Hepatology*, 2007; 46: 255A (Abstract 49)
32. Larrey D, Benhamou Y, Lohse AW i wsp.: Safety, pharmacokinetics and antiviral effect of BI 207127, a novel HCV RNA polymerase inhibitor, after 5 days oral treatment in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2009; 50: S383-S4 (Abstract 1054)
33. Lawitz E, Rodriguez-Torres M, DeMicco M i wsp.: Antiviral activity of ANA598, a potent non-nucleoside polymerase inhibitor, in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*, 2009; 50: S384 (Abstract 1055)
34. Lawitz E, Cooper C, Rodriguez-Torres M i wsp.: Safety, tolerability and antiviral activity of VCH-916, a novel non-nucleoside hcv polymerase inhibitor in patients with chronic HCV genotype-1 infection. *J Hepatol*, 2009; 50: S37 (Abstract 92)
35. Nicolas O, Boivin I, Berneche-D'Amours A i wsp.: Genotypic and phenotypic analysis of HCV NS5B variants selected from patients treated with VCH-916. *J Hepatol*, 2009; 50: S349 (Abstract 961)
36. Cooper C, Lawitz EJ, Ghali P i wsp.: Evaluation of VCH-759 monotherapy in hepatitis C infection. *J Hepatol*, 2009; 51: 39-46
37. Rodriguez-Torres M, Lalezari J, Gane EJ i wsp.: Potent antiviral response to the HCV nucleoside polymerase inhibitor R7128 for 28 days with peg-IFN and ribavirin: subanalysis by race/ethnicity, weight, and HCV genotype. *Hepatology*, 2008; 48: 1160A (Abstract 899)
38. Gane EJ, Rodriguez-Torres M, Nelson DR i wsp.: Antiviral activity of the HCV nucleoside polymerase inhibitor R7128 in HCV genotype 2 and 3 prior non-responders: results of R7128 1500 mg BID with PEG-IFN and ribavirin for 28 days. *Hepatology*, 2008; 48: 1024A (Abstract LB10)
39. Chatterji U, Bobardt M, Selvarajah S i wsp.: The isomerase active site of cyclophilin a is critical for hepatitis C virus replication. *J Biol Chem*, 2009; 284: 16998-7005
40. Watashi K, Ishii N, Hijikata M i wsp.: Cyclophilin B is a functional regulator of hepatitis C virus RNA polymerase. *Mol Cell*, 2005; 19: 111-22
41. Flisiak R, Dumont JM, Crabbe R: Cyclophilin inhibitors in hepatitis C viral infection. *Expert Opin Investig Drugs*, 2007; 16: 1345-54
42. Ishii N, Watashi K, Hishiki T i wsp.: Diverse effects of cyclosporine on hepatitis C virus strain replication. *J Virol*, 2006; 80: 4510-20
43. Inoue K, Sekiyama K, Yamada M i wsp.: Combined interferon alpha2b and cyclosporin A in the treatment of chronic hepatitis C: controlled trial. *J Gastroenterol*, 2003; 38: 567-72
44. Berenguer M, Aguilera V, Prieto M i wsp.: Effect of calcineurin inhibitors on survival and histologic disease severity in HCV-infected liver transplant recipients. *Liver Transpl*, 2006; 12: 762-67
45. Hilgard P, Kahraman A, Lehmann N i wsp.: Cyclosporine versus tacrolimus in patients with HCV infection after liver transplantation: effects on virus replication and recurrent hepatitis. *World J Gastroenterol*, 2006; 12: 697-702
46. Levy G, Grazi GL, Sanjuan F i wsp.: 12-month follow-up analysis of a multicenter, randomized, prospective trial in *de novo* liver transplant recipients (LIS2T) comparing cyclosporine microemulsion (C2 monitoring) and tacrolimus. *Liver Transpl*, 2006; 12: 1464-72
47. Villamil F, Levy G, Grazi GL i wsp.: Long-term outcomes in liver transplant patients with hepatic C infection receiving tacrolimus or cyclosporine. *Transplant Proc*, 2006; 38: 2964-67
48. Flisiak R, Horban A, Gallay P i wsp.: The cyclophilin inhibitor Debio-025 shows potent anti-hepatitis C effect in patients coinfecting with hepatitis C and human immunodeficiency virus. *Hepatology*, 2008; 47: 817-26
49. Paeshuysse J, Kaul A, De Clercq E i wsp.: The non-immunosuppressive cyclosporin DEBIO-025 is a potent inhibitor of hepatitis C virus replication *in vitro*. *Hepatology*, 2006; 43: 761-70
50. Flisiak R, Feinman SV, Jablowski M i wsp.: The cyclophilin inhibitor Debio 025 combined with PEG IFNalpha2a significantly reduces viral load in treatment-naive hepatitis C patients. *Hepatology*, 2009; 49: 1460-68
51. Crabbe R, Vuagniaux G, Dumont JM i wsp.: An evaluation of the cyclophilin inhibitor Debio 025 and its potential as a treatment for chronic hepatitis C. *Expert Opin Investig Drugs*, 2009; 18: 211-20
52. Coelmont L, Kaptein S, Paeshuysse J i wsp.: Debio 025, a cyclophilin binding molecule, is highly efficient in clearing hepatitis C virus (HCV) replicon-containing cells when used alone or in combination with specifically targeted antiviral therapy for HCV (STAT-C) inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009; 53: 967-76
53. Mathy JE, Ma S, Compton T i wsp.: Combinations of cyclophilin inhibitor NIM811 with hepatitis C Virus NS3-4A Protease or NS5B polymerase inhibitors enhance antiviral activity and suppress the emergence of resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008; 52: 3267-75
54. Ma S, Boerner JE, TiongYip 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: 2976-82
55. Houck DR: Preclinical evaluation of SCY-635, a cyclophilin inhibitor with potent anti-HCV activity. *Hepatology*, 2006; 44: 534A (Abstract 934)
56. Hopkins S, Heuman D, Gavis E i wsp.: Safety, plasma pharmacokinetics, and anti-viral activity of SCY-635 in adult patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol*, 2009; 50: S36 (Abstract 89)
57. Lawitz E, Rouzier R, Nguyen TT i wsp.: Safety and antiviral efficacy of 14 days of the cyclophilin inhibitor NIM811 in combination with pegylated interferon alpha2a in relapsed genotype 1 HCV infected patients. *J Hepatol*, 2009; 50: S379 (Abstract 1045)
58. Rossignol JF, Elfert A, El-Gohary Y i wsp.: Improved virologic response in chronic hepatitis C genotype 4 treated with nitazoxanide, peginterferon, and ribavirin. *Gastroenterology*, 2009; 136: 856-62
59. Bacon B, Shiffman ML, Lim J i wsp.: Phase 2 randomized, double-blinded, placebo-controlled study of nitazoxanide plus peginterferon and ribavirin in HCV genotype 1 patients: interim analysis shows increase in EVR. *J Hepatol*, 2009; 50: S381 (Abstract 1049)

