

*Małgorzata Inglot, Andrzej Gładysz, Weronika Rymer*

## TERAPIA EKSPERYMENTALNA ZAKAŻENIA HCV

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby  
i Nabytych Niedoborów Odpornościowych AM we Wrocławiu

*W pracy przedstawiono przegląd nowych możliwości terapeutycznych przewlekłego zapalenia wątroby typu C, których przydatność w praktyce oceniana jest obecnie w różnych fazach badań klinicznych.*

*Słowa kluczowe: HCV, leczenie, badania kliniczne*

*Keywords: HCV, therapy, clinical trials*

### WSTĘP

Wprowadzenie skojarzonej terapii pegylovanym ineterferonem i rybawiryną, jako standardu leczenia zakażenia HCV, znacznie poprawiło skuteczność (obecnie ocenianą na ok. 60%) (1,2). Mimo to nadal w praktyce klinicznej mamy do czynienia z dużą grupą chorych, u których brak sukcesu terapeutycznego i są oni zaliczani do tzw. pacjentów trudnych do leczenia (*difficult to treat patients*). Są to między innymi chorzy zakażeni genotypem 1, pacjenci z zaawansowaną w kierunku marskości chorobą wątroby, chorzy dializowani, po przeszczepach narządów. Dlatego też intensywnie poszukuje się nowych rozwiązań terapeutycznych. W ciągu najbliższych 10 lat można spodziewać się opracowania bardziej efektywnych i bezpiecznych metod leczenia; obecnie prowadzonych jest wiele badań o różnym stopniu zaawansowania.

Powstanie nowego leku jest jednak procesem długotrwałym, a wynik końcowy prowadzonych prac jest często niepewny. W badaniach przedklinicznych, ocenia się farmakologię i toksyczność wybranego związku na modelu komórkowym (*in vitro*) lub zwierzęcym. Pierwsze systemy *in vitro* o wysokiej efektywności replikacji HCV w hodowlach komórkowych (replikony) opracowano w 1999 r. (3) i udoskonalono w 2000 r. (4) Replikon HCV (komórki pierwotnego raka wątroby (HCC) – *Huh-7 hepatoma cells* replikujące określone, otrzymane syntetycznie fragmenty genomu HCV), pozwala ocenić aktywność przeciwwirusową związku. Natomiast do oceny specyficzności, toksyczności i profilu farmakologicznego wykorzystuje się m.in. badania prowadzone na modelu mysim, tamarynów, marmozetów i szympanów. Te ostatnie są najlepszym modelem zwierzęcym dla oceny skuteczności potencjalnego leku w warunkach *in vivo* przed zastosowaniem u ludzi.

Wysokie koszty związane z badaniami na szympanach oraz brak małego modelu zwierzęcego i do niedawna mało wydajnych w replikacji HCV hodowli komórkowych sprawiają, że prace nad nowymi lekami i szczepionką są dodatkowo utrudnione. Opracowanie replikonów znacznie przyspieszyło badania nad lekami, zwłaszcza z grupy inhibitorów replikacji. Trzeba jednak pamiętać, że modele te nie odzwierciedlają w pełni dynamiki zakażenia występującej *in vivo*. Prace nad udoskonaleniem modeli doświadczalnych replikacji HCV są kluczowe dla badań nad lekami działającymi w późniejszych fazach cyklu

replikacyjnego: np. inhibitorów fuzji, wejścia oraz uwalniania wirionów. Przykładem takich modeli mogą być chimery mysie z przeszczepionymi ludzkimi hepatocytami (5) lub ostatnio opracowany model wykorzystujący marmozety zakażone GBV-B (6).

Po zakończeniu przedklinicznej fazy badań, badany związek musi być poddany badaniom klinicznym przed uzyskaniem rejestracji. W I fazie oceniana jest farmakokinetyka, toksyczność i sposób dawkowania u zdrowych ochotników. W II fazie badany lek podaje się małej grupie (100-300) pacjentów w celu określenia jego bezpieczeństwa i skuteczności. Ostateczną oceną przedrejestracyjną uzyskuje się na podstawie badań III fazy, w której bierze udział zwykle około tysiąca chorych. Od wejścia badanego leku do I fazy badań do rejestracji mija kilka lat.

Niektóre prace nad nowymi preparatami przeciwwirusowymi nie są kontynuowane z przyczyn finansowych; największe koszty ponosi się w III fazie badań. Szacunkowe koszty wprowadzenia nowego leku, od momentu jego odkrycia do rejestracji przez FDA, ocenia się na 800 milionów dolarów (7). Zgromadzenie niezbędnych środków finansowych i przeprowadzenie wszystkich ekspertyz wymaganych w procedurach badań klinicznych, często przekracza możliwości mniejszych, nowo powstałych firm biotechnologicznych, zmuszonych działać bez żadnych dochodów do czasu wprowadzenia leku na rynek. Historia badań nad lekami pokazuje również, że tylko niewielki odsetek badanych substancji zostaje wprowadzonych na rynek jako nowe leki. Szacuje się, że dotyczy to jedynie jednego na 5 tys. do 10 tys. związków badanych w fazach przedklinicznych. Natomiast statystyki firm farmaceutycznych podają, że najwyżej jeden z trzech preparatów badanych w fazach klinicznych uzyskuje akceptację FDA (8).

Obecnie w różnych fazach badań klinicznych (terapii eksperymentalnej) ocenianych jest kilkadziesiąt związków, które w przyszłości mogą stać się alternatywą dla obecnie stosowanego sposobu leczenia. Zarówno pacjenci, jak i lekarze wiążą z nimi duże nadzieje. Jednak należy mieć świadomość, że wiele z tych preparatów nie wykaże zadowalającej skuteczności, wywoła poważne działania niepożądane lub z powodu różnych opisanych wyżej ograniczeń nie znajdzie zastosowania w praktyce.

Poniżej przedstawiono kierunki badań i wybrane nowe leki, które zdaniem autorów mogą stanowić najbardziej obiecującą perspektywę w leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C.

## KIERUNKI POSZUKIWAŃ NOWYCH LEKÓW

Postęp w zakresie uzyskania sprawnych komórkowych modeli replikacji HCV sprawił, że w ostatnich kilku latach bardzo rozwinęły się prace nad zastosowaniem związków, które w różnych punktach uchwytu mogą ingerować w cykl replikacyjny HCV. Jest to najbardziej dynamicznie rozwijający się kierunek badań. Jako punkty uchwytu dla nowych leków, podobnie jak w zakażeniu HIV, wybrano kluczowe enzymy cyklu replikacyjnego – polimerazę, proteazę. Opracowano także związki, które interferują bezpośrednio z wirusowym RNA, hamują translację lub blokują białka wirusowe. Zwrócono również uwagę na możliwość blokowania białek enzymatycznych komórki gospodarza, wykorzystywanych przez wirus w cyklu replikacyjnym. Inhibitory replikacji badane są zarówno w monoterapii, jak i z uwagi na przewidywany problem lekooporności, wykorzystuje się możliwość ich stosowania w terapii skojarzonej z interferonem. Inną drogę poszukiwań stanowią pró-

by opracowania nowych postaci interferonów, nowych form rybawiryny lub preparatów mogących ją zastąpić w klasycznej terapii skojarzonej z interferonem. Trwają też prace nad stworzeniem leków o działaniu hamującym włóknienie, szczepionek terapeutycznych, preparatów immunomodulujących (9,10).

#### INGERENCJA W CYKL REPLIKACYJNY HCV

*Inhibitory NS5B RNA – zależnej polimerazy (RdRp)*. RNA – zależna polimeraza, kluczowy enzym replikacji HCV, stała się naturalnym celem poszukiwania inhibitorów (analogów nukleozydowych lub nienukleozydowych), które w sposób kompetycyjny lub niekompetycyjny mogą blokować syntezę RNA (11,12).

Najbardziej zaawansowane są badania dotyczące preparatu NM283 (walopicytabina). Jest to nukleozydowy inhibitor polimerazy RNA, działający jako aktywna fosforylowana forma – NM107. Duże nadzieje budzi niski potencjał mutageny tego związku oraz fakt, że mutanty replikują się bardzo słabo w obecności IFN. Lek ten przeszedł pomyślnie I/II fazę badań, w których stwierdzono 10-krotne (1 log) hamowanie replikacji HCV. Dla oceny długoterminowej skuteczności i bezpieczeństwa preparatu w monoterapii i kombinacji z PEG IFN zaplanowano badania fazy II b (13,14). Kilka innych analogów nukleozydowych jest w fazie zaawansowanych badań przedklinicznych np. PSI 6130.

Opracowano także analogi nienukleozydowe – blokery RdRp o mechanizmie działania zbliżonym do NNRTI stosowanych w HAART – wiążące się w pewnej odległości od centrów aktywnych i blokujące powstawanie zmian konformacyjnych niezbędnych do aktywności enzymu. Są to związki z grupy benzotiadiazyn lub benzimidazoli, np. JTK 003 badany obecnie w II fazie badań klinicznych.

W badaniach przedklinicznych bada się kilkaset różnych analogów nukleozydowych, nienukleozydowych i nukleotydocowych. Poszukuje się analogu wybiórczo działającego w wątrobie, o dobrym profilu oporności, niskiej toksyczności mitochondrialnej i zadowalającej biodostępności. Obecnie zidentyfikowano już *in vitro* punkty specyficznych mutacji (np. dla pochodnych benzotiadiazyn jest to M414T w obrębie regionu NS5B), co może mieć niekorzystne konsekwencje w praktyce klinicznej (15).

*Inhibitory proteazy serynowej NS3*. Przełom, jaki po wprowadzeniu inhibitorów proteazy dokonał się w leczeniu zakażenia HIV, stał się inspiracją do podjęcia badań nad opracowaniem takiej samej klasy leków dla HCV. Jako docelowy enzym dla nowych leków wybrano proteazę serynową NS3. W teorii enzym ten ma kilka punktów uchwytu dla potencjalnych inhibitorów: możliwe jest blokowanie centrów aktywnych, które katalizują cięcie białek, interferencja z jej składową NS4A, hamowanie miejsca wiązania cynku, które jest ważne dla aktywności tego enzymu. Hamowanie bezpośredniego miejsca wiązania substratu proteazy serynowej jest dość trudne, udało się jednak opracować wiele preparatów o tym mechanizmie działania. Inhibitory proteazy mogą być związkami peptydowymi, niepeptydowymi i peptydomimetykami oraz wykazują różnice we właściwościach farmakologicznych, metabolizmie i dawkowaniu.

Do klinicznej fazy badań weszły dwa peptydomimetyki (BILN 2061 i VX-950) oraz inhibitor peptydowy – SCH6. Prace *Herrmanna* i wsp. oraz *Wedemeyera* i wsp. (16,17) wykazały istotnie silniejsze w porównaniu z placebo hamowanie replikacji HCV przez BILN 2061. Lek stosowano przez 2 dni u pacjentów z różnym stopniem zaawansowania patologii wątroby. Na podstawie matematycznej symulacji kinetyki HCV wykazano, że

inhibitor proteazy silniej hamuje replikację HCV niż obserwuje się to w schematach opartych na interferonie. Dla pełniejszej oceny bezpieczeństwa i długoterminowej skuteczności preparatu, konieczne byłoby przeprowadzenie dalszych faz badań klinicznych. Jednak fakt, że wcześniejsze badania na zwierzętach z podawaniem leku przez 4 tygodnie wskazywały na kardiotoxycywność preparatu, spowodował czasowe zawieszenie badań.

Preparat VX-950, który dzięki hydrofobowemu, specyficznemu wiązaniu z miejscem aktywnym proteazy serynowej, również wykazywał w badaniach *in vitro* znaczną supresję wirerii HCV. Dodatkowo stwierdzono, że hamowanie replikacji utrzymywało się nawet do 15 dni od zaprzestania stosowania leku oraz że preparat wykazuje aktywność w stosunku do mutantów opornych na BILN 2061. W końcu 2004 roku rozpoczęto w USA I/II fazę badań klinicznych (18).

Już we wstępnej fazie badań wykazano powstawanie oporności na inhibitory proteazy serynowej. Nie było to żadnym zaskoczeniem zważywszy na doświadczenia z leczeniem zakażenia HIV. W modelach *in vitro* wykazano specyficzne, niekrzyżowe mutacje warunkujące oporność zarówno na BILN 2061 jak i na VX-950. Przewiduje się, że niekorzystne konsekwencje mutacji będzie można ograniczyć przez stosowanie terapii kombinowanej (19).

Badania, w których oceniane są inhibitory NS3 helikazy/NTPazy są jeszcze bardzo mało zaawansowane (faza przedkliniczna), podobnie jak i w przypadku SCH6 (peptydomimetyczny inhibitor proteazy serynowej NS3), gdzie rozpoczęto dopiero badania I fazy (20,21).

Hamowanie translacji wirusowego RNA (rybozomy, oligosensowne nukleotydy, siRNA). Rozwija się również dziedzina określana mianem terapii kwasami nukleinowymi. Wykorzystuje się tu cząsteczki np. rybozomy i oligosensowne nukleotydy, wiążące się do komplementarnych odcinków RNA, co umożliwia translację białek wirusowych. Hamowanie inicjacji translacji na etapie wejścia RNA do rybosomów przez blokowanie konserwatywnych fragmentów RNA wirusowego IRES (*internal ribosomal entry site*) stanowi atrakcyjną koncepcję terapeutyczną. Antysensowne nukleotydy to krótkie (15-20 nukleotydów) komplementarne sekwencje RNA lub DNA, które przyłączając się do wirusowego RNA powodują zablokowanie translacji. Od lat 90-tych opracowano wiele syntetycznych oligonukleotydów, opornych na działanie enzymów komórkowych i charakteryzujących się wysoką specyficznością w stosunku do określonych regionów kwasów nukleinowych. Przykładem związku z tej grupy, działającym w regionie IRES i blokującym inicjację translacji, którego badania kliniczne osiągnęły II fazę jest ISIS 14803. W maju 2004 rozpoczęto badanie w grupie 22 chorych, którzy nie osiągnęli EVR po 12 tygodniach standardowej terapii. Stosuje się 2 iniekcje preparatu ISIS 14803 tygodniowo, w połączeniu z PEG IFN i RBV (22).

Rybozomy, choć mają budowę RNA, posiadają funkcję enzymatyczną – tną w zaprogramowanych miejscach fragmenty RNA. Niedawno opracowano rybozym, który tnąc RNA w kilku punktach w obrębie fragmentu 5'UTR oraz rybozomy, które mogą wprowadzić w cięty fragment nowy materiał genetyczny (*trans-splicing ribosymes*). Doświadczenia kliniczne z preparatem Heptazyme™, blokującym HCV RNA w regionie IRES, który pomyślnie przeszedł I fazę, wskazują jednak na możliwe trudności. Badania kliniczne zostały zawieszono, gdy stwierdzono, że zarówno skuteczność, jak i bezpieczeństwo (m.in. u jednego szympansa wystąpiła utrata wzroku) wymaga lepszej oceny na wcześniejszym etapie badań. Były też zastrzeżenia dotyczące stabilności leku. Jak dotąd żaden preparat rybozomu nie został zaakceptowany przez FDA (23).

Najnowszą i budzącą duże nadzieje technologią jest stosowanie małych interferujących cząstek RNA – siRNA (*small interfering RNA*). Powstała ona w oparciu o odkrycie specyficznego mechanizmu regulacji ekspresji genów, który może być wykorzystany również do hamowania replikacji wirusów. Podwójne oligonukleotydy RNA (około 20-nukleotydów) hybrydujące z mRNA mogą mieć różne punkty uchwytu i w związku z tym bardzo szeroki zakres terapeutyczny. Na przykład w badaniach *in vitro* wykazano, że preparat siRNA73 blokuje w obrębie regionu 5' UTR fragment IRES uniemożliwiając wejście RNA do rybosomu, co skutecznie w 80-90% blokuje translację białek E1 i E2 wszystkich genotypów HCV (24,25).

Trwają badania na modelach zwierzęcych nad siRNA specyficznymi dla różnych regionów HCV np. RNA HCV 5' UTR, NS5B/luciferase (24,26). Jednak pojawiają się także sygnały o możliwej ekspresji siRNA wobec fragmentów genomu, które nie były potencjalnym celem – tzw. zjawisko *overlapping genetic sequence* (27). Badania kliniczne wykorzystujące siRNA dopiero przed nami, wydaje się, że może to być nowa droga do sukcesu terapeutycznego w różnych zakażeniach wirusowych.

**Inhibitory wnikania.** Wiedza na temat mechanizmów wnikania HCV jest niepełna, jednak opracowanie leków o tym punkcie uchwytu stanowi ogromne wyzwanie. Dałoby to szansę leczenia np. chorym po przeszczepach narządowych i innym pacjentom z przeciwwskazaniami do terapii z zastosowaniem IFN. Preparaty blokujące receptory, wykorzystywane przez HCV do osiągania komórki docelowej, są jeszcze w przedklinicznych fazach badań jak np. bloker wiązania proteiny E 2 z receptorem CD 81, o budowie zbliżonej do amantadyny, czy bloker receptora L-SIGN (*liver/lymph node-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing integrin*) (10,28,20).

Znacznie bardziej zaawansowane są prace nad preparatami immunoglobulin (IG) i przeciwciał monoklonalnych (mAbs). Najdłużej znany jest preparat IG anty-HCV Civalcir<sup>TM</sup>. Zawiera on przeciwciała pochodzące od osób zakażonych HCV (analogicznie jak HBIG). Po zakończeniu sponsorowanej przez NIH (*National Institute of Health US*) fazy I/II stwierdzono obniżanie aktywności AIAT i zadowalające bezpieczeństwo stosowania u pacjentów po transplantacji wątroby. Pełna ocena przydatności klinicznej wymaga jednak dalszych badań (10,28).

Przeciwciała monoklonalne neutralizujące HCV, otrzymywane metodami inżynierii genetycznej, blokują specyficzne regiony glikoprotein E 1 lub E 2. Preparat HepX<sup>TM</sup>-C zawierający mAbs anty-E 2 badany jest obecnie w fazie II, w której ocenia się skuteczność w zapobieganiu reinfekcji przeszczepionej wątroby (10,28). Z kolei zarejestrowany już w leczeniu chłoniaków niezłośliwych preparat Rituximab zawierający przeciwciała monoklonalne anty-CD20 poddawany jest ocenie w fazie I/II skuteczności leczenia krioglobulinemii towarzyszącej zakażeniu HCV (29).

**Blokowanie powstawania osłonki wirusa.** Aby powstała prawidłowa osłonka wirusa białka E 1 i E 2 muszą ulec glikozylacji w retikulum endoplazmatycznym przy udziale enzymów komórkowych, a następnie w wyniku działania glikozydaz wirusowych powstaje prawidłowa glikoproteina. Inhibitory ER  $\alpha$ -glikozydaz to np. kastanospermina lub jej prolek MB-3253 celgosivir. Obecnie rozpoczęto II fazę badań tych preparatów w zakażeniu HCV. Wcześniej kastanospermina była też badana w zakażeniu HIV.

**Blokowanie białek komórkowych.** W procesie replikacji HCV wykorzystuje wiele białek komórki gospodarza, które również mogą być punktem uchwytu

leków. Teoretycznie można w ten sposób zmniejszyć ryzyko rozwoju rozwijającej się oporności. Geny gospodarza nie powinny mutować pod presją stosowanych leków, a punkt uchwytu leku pozostaje poza kontrolą wirusa. Białka komórkowe uczestniczące w replikacji HCV nie zostały jak dotąd dobrze poznane, nie zdefiniowana jest także ich pełna rola biologiczna. Wiadomo, że wirus może wykorzystywać proces prenylacji białek – potranslacyjny mechanizm, w którym białka nabywają właściwości hydrofobowych, co jest ważne m.in. w transporcie błonowym. W procesie tym biorą udział ważne enzymy komórkowe m.in. HMGCoA reduktaza, GGT-azy (transferaza geranylogeranylu – geranylgeranylacja) i (transferaza farnesylu – farnesylacja). W modelu replikonu HCV wykazano, że statyny – inhibitory reduktazy HMGCoA, które na wczesnym etapie blokują prenylację białek – dają *in vitro* efekt w postaci silnego i szybkiego zahamowania replikacji HCV.

### WOKÓŁ INTERFERONU I RYBAWIRYNY – UDOSKONALANIE STANDARDU

Nadzieją na zwiększenie skuteczności terapii i uczynienie jej jeszcze bardziej dogodną w stosowaniu jest interferon nowej generacji – Albuferon. Lek opracowano metodą tzw. genetycznej fuzji, na drodze której dokonano połączenia genów kodujących ludzką albuminę (stanowiącą nośnik) i genu kodującego interferon alfa. Otrzymano w ten sposób cząstkę białkową o masie 87,5kDa i okresie półtrwania 145 godzin, co umożliwia podawanie co 14 dni. Wstępne wyniki badań uzyskane w grupie 61 pacjentów potwierdziły biologiczną aktywność preparatu, spadek HCV RNA o 0,9 log już po pojedynczej dawce i zadowalający profil bezpieczeństwa. Rozpoczęły się właśnie badania II fazy (30). We wcześniejszej fazie badań (I/II) oceniane są natomiast inne postacie interferonu alfa (medusa-interferon, PEG-infergen, omega interferon, postać doustna) (10).

Ponieważ stosowanie rybawiryny wiąże się dużym ryzykiem wystąpienia niedokrwistości hemolitycznej, trwają liczne badania oceniające skuteczność i bezpieczeństwo kombinacji, w których rybawirynę zastąpiono jej pochodnymi lub innymi preparatami. Prolek rybawiryny – wiramidyna – w porównaniu z rybawiryną charakteryzuje się mniejszą kumulacją w erytrocytach. W badaniu II fazy odsetek występowania niedokrwistości w grupie pacjentów otrzymujących wiramidynę był istotnie niższy – 2% vs 24% (31).

Ocenić poddaje się także między innymi amantadynę, histaminę, mykofenolat mofetyl, tymozynę alfa 1, ketoprofen, merimepodib (VX 497– inhibitor dehydrogenazy monofosforanu inozyny (IMPDH) (10).

### IMMUNOMODULACJA

Inny kierunek badań to próby zmierzające do spotencjalizowania odpowiedzi immunologicznej, która w zakażeniu HCV zwykle jest niedostateczna i nie zapewnia całkowitego klirensu wirusa. Z obserwacji, że u większości pacjentów przewlekłe zakażonych HCV odpowiedź humoralna i komórkowa na antygen powierzchniowy E 1 jest znacznie osłabiona wynika zastosowanie białka E 1 jako szczepionki terapeutycznej. Pilotażowe badanie przeprowadzone w grupie 35 chorych zakażonych genotypem 1 wykazało zadowalający profil bezpieczeństwa i u 9/24 pacjentów istotną (o co najmniej 2 punkty w skali Metavir) poprawę w zakresie włóknienia (32). Brak dotąd danych na temat wpływu stosowania szczepionki terapeutycznej na zahamowanie replikacji HCV. Aktualnie trwają randomizowane

wieloośrodkowe badania kliniczne fazy II b, obejmujące chorych zakażonych genotypem 1, którzy uprzednio byli nieskutecznie leczeni pegylowanym lub klasycznym interferonem i rybawiryną.

Immunomodulujące właściwości tymozyny (28 aminokwasowego peptydu), który m.in. oddziałuje stymulująco na różnicowanie się komórek CD4, CD8 i NK, na produkcję IL-2 i IFN-gamma i zmniejsza nasilenie stresu oksydacyjnego, wymagają potwierdzenia skuteczności klinicznej. W końcu lat dziewięćdziesiątych opracowano syntetyczną formę  $\alpha$ -1-tymozyny, co zainicjowało szereg badań weryfikujących przydatność kliniczną tego leku, wcześniej bardzo popularnego i stosowanego w naszym kraju w postaci naturalnej jako TFX (33,34). U pacjentów uprzednio nieskutecznie leczonych, zakażonych w większości genotypem 1, po 12 tygodniach stosowania kombinacji PEG IFN  $\alpha$ -2a i syntetycznej  $\alpha$ -1-tymozyny, przy bardzo dobrej tolerancji uzyskano EVR u 10/16 chorych (35). Aktualnie rozpoczęto dwa duże wieloośrodkowe randomizowane badania kliniczne III fazy z docelową liczbą ponad 1000 pacjentów, które prawdopodobnie rozstrzygną o celowości stosowania tej kombinacji.

W kategorii ewentualnych leków immunomodulacyjnych warto wspomnieć o agonistach specjalnego rodzaju receptorów tzw. receptory TLR (*toll like receptor*), poprzez pobudzenie których zwiększa się wytwarzanie IFN-alfa, TNF-alfa i aktywacja komórek NK. W badaniach oceniane są dwa preparaty: Actillon – agonista TLR9 oraz ANA 245 – (izatorbina, analog guanozyny) – agonista TLR7. Wstępne wyniki są obiecujące, stwierdzono wyraźne hamowanie replikacji HCV (10).

Zasygnalizowane powyżej przykłady odzwierciedlają duży postęp w pracach nad udoskonaleniem leczenia zakażenia HCV. Badania prowadzone są wielokierunkowo i obejmują wiele różnych związków. W ciągu najbliższych kilku lat okaże się, na ile prace prowadzone obecnie na poziomie eksperymentalnym znajdą zastosowanie w praktyce klinicznej i czy uczynią możliwą pełną eradykację wirusa. Na obecnym etapie badania te na pewno dają nadzieję grupie pacjentów, którzy z powodu przeciwwskazań lub braku odpowiedzi nie mogą być poddani terapii standardowej.

*M Inglot, A Gładysz, W Rymer*

#### EXPERIMENTAL THERAPY IN HCV INFECTION

#### SUMMARY

PEGInterferon and ribawirin combination therapy is a gold standard in hepatitis C treatment. However it is not efficacious in all cases. Therefore, many studies are conducted to identifying additional drugs and therapeutic regimens, which might be more affordable. The progress in development of HCV culture systems (e.g.replicon) is crucial for succesfull therapeutic intervention in viral life-cycle (viral NS5B polymerase and NS3/4A protease inhibitors, antisense nucleotides, ribozymes, siRNA). Other classes of immunomodulatory/antiviral agents and new interferon formulation have also been considered for IFN-based therapy also. On the other hand immunomodulatory pathways are attractive target for novel anti-HCV therapy. Combination therapy targetting different aspects will be probably in the future succesfull option in hepatitis C treatment.

## PIŚMIENNICTWO

1. Manns MP, Mc Hutchinson JG, Gordon SC, i in. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa 2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358:958-965.
2. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, i in. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
3. Lohmann V, Korner F, Koch J, i in. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line, *Science* 1999;285:110-113.
4. Blight KJ, Kolykhalov AA, Rice CM. Efficient initiation of HCV RNA replication in cell culture, *Science* 2000;290:1972-1974.
5. Fausto N. A mouse model for hepatitis C virus infection? *Nat Med* 2001;7:890-891.
6. Bright H, Carroll AR, Watts PA, Fenton RJ. Development of a GB virus B marmoset model and its validation with a novel series of hepatitis C virus NS3 protease inhibitors, *J Virol* 2004;78:2062-2071.
7. Rawlins MD. Cutting the cost of drug development? *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:360-364.
8. Preziosi P. Science, pharmacoeconomics and ethics in drug R&D: a sustainable future scenario? *Nat Rev Drug Discov* 2004;3:521-526.
9. McHutchison JG, Patel K. Future therapy of hepatitis C; *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S245-S252.
10. Tan SL, He Y, Huang Y, i in. Strategies for hepatitis C therapeutic intervention: now and next; *Cur Opin Pharmacol* 2004;4:465-470.
11. Borowski P, Schalinski S, Schmitz H. Nucleotide triphosphatase/helicase of hepatitis C virus as a target for antiviral therapy. *Antiviral Res* 2002;55:397-412.
12. Walker MP, Hong Z. HCV RNA-dependent RNA polymerase as a target for antiviral development. *Curr Opin Pharmacol* 2002;2:534-540.
13. Godofsky E, Afdahl N, Rustgi V, i in. First clinical results for a novel antiviral treatment for hepatitis C: a phase I/II dose escalation trial assessing tolerance, pharmacokinetics, and antiviral activity of NM283, Abstract 96. 39th Annual European Association for the Study of the Liver Conference. Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 14-18, 2004. Berlin, Germany.
14. Afdahl N, i in. Final phase I/II trial results for Nm283, a new polymerase inhibitor for hepatitis C: antiviral efficacy and tolerance in patients with HCV-1 infection, including previous interferon failures, Abstract LB-03, 55th AASLD. October 29-November 2, 2004. Boston, MA.
15. Nguyen TT, Gates AT, Gutshall LL, i in. Resistance profile of a hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase benzothiadiazine inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3525-3530.
16. Herrmann E. Hepatitis C viral kinetics in chronically infected patients treated with the serine protease inhibitor BILN 2061; Abstract 67, 39th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 14-18, 2004. Berlin, Germany.
17. Wedemeyer H, i in. Safety and antiviral effect of BILN 2061, a novel HCV serine protease inhibitor, after oral treatment over 2 days in patients with chronic hepatitis C, genotype 1 and liver cirrhosis; Abstract 294, Program and Abstracts of the 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. October 24-28, 2003. Boston, MA.
18. Lin K, i in. VX 950 A tight binding HCV protease inhibitor with a superior sustained inhibitory response in HCV replicon cells, Abstract 137, Program and Abstracts of the 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. October 24-28 2003, Boston.
19. Lin C, Lin K, Luong YP, i in. In vitro resistance studies of hepatitis C virus serine protease inhibitors, VX-950 and BILN 2061: structural analysis indicates different resistance mechanisms. *J Biol Chem* 2004;279:17508-17514.



20. Walker MP, Appleby TC, Zhong W, i in. Hepatitis C virus therapies: current treatments, targets and future perspectives. *Antivir Chem Chemother* 2003;14:1-21.
21. Abid K, i in. In vitro antiviral activity of SCH 6, a novel inhibitor of the hepatitis C virus NS3 serine protease; Abstract 137, 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. October 24-28, 2003. Boston, MA.
22. Gordon SC, Bacon BR, Jacobson IM, i in. A phase II, 12-week study of ISIS 14803, an antisense inhibitor of HCV for the treatment of chronic hepatitis C, Abstract 795, 53rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston MA 2002.
23. Long MB, Jones JP 3rd, Sullenger BA, i in. Ribozyme-mediated revision of RNA and DNA. *J Clin Invest* 2003;112:312-318.
24. Krönke J, Kittler R, Buchholz F, i in. Alternative approaches for efficient inhibition of hepatitis C virus RNA replication by small interfering RNAs. *J Virol* 2004;78:3436-3446.
25. Prabhu R, Garry R, Bastian FO, i in. siRNA targeted to the stem-loop II of 5' untranslated region effectively inhibits expression of all major HCV strains, Abstract LB-17, 55th AASLD. October 29-November 2, 2004. Boston, MA.
26. Kapadia SB, Brideau-Andersen A, Chisari FV. Interference of hepatitis C virus RNA replication by short interfering RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:2014-2018.
27. Scacheri PC, Rozenblatt-Rosen O, Caplen NJ, i in. Short interfering RNAs can induce unexpected and divergent changes in the levels of untargeted proteins in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:1892-1897.
28. Pawlotsky JM. Current and future concepts in hepatitis C therapy. *Semin Liver Dis* 2005;25:72-83.
29. Usuda M, Fujimori K, Koyamada N, i in. Successful use of anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for ABO-incompatible living-related liver transplantation, *Transplantation* 2005; 15;79:12-16.
30. Balan V, i in. A phase I/II study to evaluate the pharmacokinetic, safety, tolerability, immunogenicity and pharmacodynamics of albuferon-alpha in treatment experienced subjects with chronic hepatitis C, Abstract 313, 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, October 25, 2003.
31. Gish R, i in. Safety and efficacy of viramidine In combination with pegylated interferon alfa-2a for treatment of hepatitis C In therapy naive patients, Abstract 479, 39th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. April 14-18, 2004. Berlin, Germany.
32. Nevens F, Roskams T, Van Vlierberghe H, i in. A pilot study of therapeutic vaccination with envelope protein E1 in 35 patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:1289-1296.
33. Juszczak J. Preliminary evaluation of the results of treatment of chronic active hepatitis HBsAg (+) with calf thymus extract TFX Polfa. *Pol Tyg Lek* 1984;39:1085-89.
34. Cianciara J, Babiuch L, Górska E, i in. Immunotherapy of chronic active hepatitis HBsAg (+) with calf thymus extract. Clinical evaluation. *Pol Tyg Lek* 1984;39:1097-1101.
35. Poo JL, i in. A pilot study of thymalfasin (thymosin alpha-1) in combination with peginterferon alpha-2A (PEG-IFN2A) and ribavirin in HCV non-responders: 12-week interim results, Abstract 338, 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. October 24-28, 2003. Boston, MA.

**Adres autora:**

Małgorzata Ingot  
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych  
Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych  
Akademii Medycznej we Wrocławiu  
ul. Koszarowa 5, 51-149 Wrocław  
tel. 326 13 25