

Received: 2015.01.10
Accepted: 2015.04.20
Published: 2015.08.19

Wirusowe zapalenie wątroby typu C – nowe metody leczenia i zapobiegania*

Novel methods of hepatitis C treatment and prevention

Alicja M. Chmielewska¹, Małgorzata Rychłowska¹, Ewelina Król², Karolina Solarz¹, Krystyna Bierikowska-Szewczyk¹

¹Zakład Biologii Molekularnej Wirusów, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

²Zakład Szczepionek Rekombinowanych, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Streszczenie

Wirusowe zapalenie wątroby typu C (WZW C) jest jednym z najważniejszych problemów zdrowotnych na świecie. Terapia z użyciem pegylowanego interferonu-alfa i rybawiryny wywołuje uciążliwe działania niepożądane, a jej skuteczność zależy od genotypu wirusa. W latach 2011-2013 wprowadzono na rynek nowe leki - inhibitory proteazy wirusowej (telaprevir, boceprevir i simeprevir) oraz inhibitor polimerazy wirusa HCV (sofosbuvir) w połączeniu z terapią standardową. Po raz pierwszy dopuszczono również terapię z wyłączeniem interferonu dla sofosbuviru+rybawiryny. Nowe terapie zwiększyły skuteczność leczenia, jednak ich stosowanie wiąże się ze wzrostem kosztów, występowaniem dodatkowych działań niepożądanych i ryzykiem nabywania lekooporności. W zaawansowanych badaniach klinicznych znajduje się wiele nowych związków hamujących bezpośrednio funkcje białek wirusowych (proteazy, polimerazy i białka NS5A) lub czynników komórkowych zaangażowanych w replikację wirusa (cyklofiliny A, mikroRNA – miR-122). Prawdopodobnie w ciągu najbliższego roku wprowadzone zostaną nowe leki pozwalające na całkowite wyeliminowanie interferonu. Jednocześnie prowadzone są badania nad wyznaczeniem czynników prognostycznych odpowiedzi na leczenie WZW C pozwalających na zastosowanie spersonalizowanej terapii. Największym sukcesem w tej dziedzinie było wyznaczenie polimorfizmu nukleotydowego IL-28B, który koreluje ze skutecznością leczenia WZW C w terapii interferonem i rybawiryną. Alternatywą dla leków przeciwwirusowych są szczepienia ochronne, jednak w przypadku WZW C szczepionka jest niedostępna. Uważa się, że efektywne szczepienie powinno wzbudzić humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną, swoistą dla wszystkich genotypów wirusa. W tym celu testuje się nowe rodzaje szczepień, obejmujące szczepionki podjednostkowe i genetyczne. Najskuteczniejsze z nich są w I i II fazie badań klinicznych. Praca podsumowuje najważniejsze dokonania ostatnich lat w dziedzinie badań nad nowymi lekami i szczepionkami skierowanymi przeciwko wirusowi zapalenia wątroby typu C.

Słowa kluczowe: wirus zapalenia wątroby typu C • leki przeciwwirusowe • terapia przeciwwirusowa • szczepionki przeciwwirusowe

*Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2012/04/A/NZ1/00056 oraz decyzji numer DEC-2011/03/N/NZ6/00059.

* Dwie pierwsze autorki mają równorzędny wkład w pracę

Summary

Despite available treatment, Hepatitis C remains one of most serious burdens to public health. Current therapy based on pegylated interferon-alpha and ribavirin has significant side effects and its effectiveness varies for different genotypes of the virus. Four novel drugs – viral protease inhibitors (telaprevir, boceprevir, simeprevir) and polymerase inhibitor – sofosbuvir have been introduced in last years for use in combination with standard-of-care treatment. For the first time interferon free therapies were approved with the use of combination of sofosbuvir+ribavirin. New therapies improve virological response rates but also increase the cost, side effects and raise the issue of drug resistance. Numerous novel anti-HCV compounds have been evaluated in advanced clinical trials including inhibitors of viral proteins (protease, polymerase and NS5A) and inhibitors of host factors involved in HCV replication (cyclophilin A, microRNA – miR-122). New interferon-free therapies reducing severe side effects are expected to enter the market within few months. At the same time efforts are undertaken to determine the host and viral factors with predictive value for HCV treatment response, enabling personalized therapy approach. The main success in this field was the discovery of interleukin IL28B polymorphism, which correlates with positive standard-of-care treatment response. An effective vaccination may be an alternative for antiviral drugs, but no anti-HCV vaccine is available currently. It is well proved that successful vaccination should induce antibody and T-cell responses specific against a range of HCV genotypes. With this aim, new subunit and genetic candidate vaccines have been evaluated in I and II phase clinical trials. This review summarizes the recent developments in the field of new drug development and vaccine studies against hepatitis C virus.

Key words: hepatitis C virus • antivirals • antiviral therapy • viral vaccines

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1165197>

Word count: 6866
Tables: 5
Figures: –
References: 102

Adres autorki: prof. dr hab. Krystyna Bieńkowska-Szewczyk, Zakład Biologii Molekularnej Wirusów, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk; e-mail: krysia@biotech.ug.gda.pl

Wykaz skrótów: **białko C** – białko rdzenia (core); **BOC** – boceprevir; **CD81** – białko z grupy tetraspanin, receptor wirusa HCV (cluster of differentiation 81); **DAAs** – leki oddziaływające bezpośrednio na wirusa (direct acting antivirals); **EMA** – Europejska Agencja Leków (European Medicines Agency); **EVR** – wczesna odpowiedź wirusologiczna (early virological response); **FDA** – Agencja Żywności i Leków USA (Food and Drug Administration); **HCV** – wirus zapalenia wątroby typu C (hepatitis C virus); **HTAs** – leki hamujące czynniki komórkowe (host targeting agents); **HVR1** – pierwszy rejon nadzmienny (hypervariable region I); **IL-28B** – interleukina 28B, **IP-10** – chemokina prozapalna IP-10 (interferon gamma inducible protein 10); **ISG** – geny indukowane przez interferon (interferon stimulated genes); **MVA** – zmodyfikowany wirus krowianki szczepu Ancara (modified Vaccinia Ancara); **NS** – białka niestrukturalne (non-structural proteins); **PEG-IFN** – pegylowany interferon alfa; **RBV** – rybawiryna; **RVR** – szybka odpowiedź wirusologiczna (rapid virological response); **SVR** – trwała odpowiedź wirusologiczna (sustained virological response); **TVR** – telaprevir; **UTR** – rejon genomu nieulegający translacji (untranslated region); **WHO** – światowa organizacja zdrowia (World Health Organization), **WZWC** – wirusowe zapalenie wątroby typu C.

WPROWADZENIE

Wirus zapalenia wątroby typu C (hepatitis C virus – HCV) został zidentyfikowany w 1989 r. jako czynnik etiologiczny wywołujący wirusowe zapalenie wątroby typu C (WZW C). Według szacunków WHO z 2013 r. liczba osób zakażonych na świecie wynosi 150 mln, co stanowi prawie 2% populacji. W Polsce liczba zakażonych jeszcze do niedawna była określana na około 700 tysięcy, jednak ostatnie badania oparte na detekcji przeciwciał anty-HCV sugerują, że liczba ta może być niższa (0,86%, 270 tys. osób) [27].

W około 20% przypadków obserwuje się samoczynną eliminację wirusa HCV z organizmu w fazie ostrej, czyli w ciągu pierwszych sześciu miesięcy od zakażenia. Zdiagnozowanie ostrej infekcji WZW C jest bardzo trudne, ponieważ zazwyczaj przebiega bezobjawowo. U pozostałych 80% pacjentów rozwija się przewlekła infekcja, która w ciągu 10-20 lat może doprowadzić do zwłóknienia (15-30%), marskości (20%-33%) oraz nowotworu wątroby (~2% przypadków) [79].

Wirus HCV składa się z białkowego kapsydu otoczonego osłonką lipidowo-białkową. Wewnątrz kapsydu znajduje się materiał genetyczny wirusa – cząsteczka jednoniciowego RNA kodująca strukturalne i niestrukturalne białka wirusowe. Białka strukturalne wchodzi w skład wirionu i obejmują białko C tworzące rdzeń (kapsyd) wirusowy oraz białka osłonkowe – glikoproteiny E1 i E2 tworzące kompleks. Białka osłonkowe - glikoproteiny E1 i E2 tworzą kompleks zakotwiczony w osłonce lipidowej wirusa. Białka niestrukturalne NS (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) pełnią różne funkcje enzymatyczne w cyklu replikacyjnym wirusa HCV, uczestnicząc w obróbce białek wirusowych (proteaza NS3/4A) i w replikacji genomu wirusowego (polimeraza NS5B). Nie wchodzi one w skład wirionów [17].

Jak większość wirusów RNA, wirus HCV wykazuje dużą zmienność genetyczną spowodowaną brakiem aktywności korektorskiej wirusowej polimerazy RNA i mutacjami wprowadzanymi do genomu w czasie procesu replikacji. Najwyższe zróżnicowanie dotyczy regionów kodujących białka osłonkowe wirusa - E1 i E2, zwłaszcza pierwszego rejonu nadzmiennego obecnego na N' końcu E2 (hypervariable region 1 – HVR1). Ze względu na zmienność genetyczną wyróżnia się 7 głównych genotypów wirusa HCV oznaczanych liczbami 1-7 [85], różniących się sekwencją RNA w 30-35%. W obrębie genotypów wyróżnia się subtypy, które różnią się między sobą w 15-20%. Ponadto, nawet w obrębie jednego gospodarza, wirus występuje w postaci populacji genetycznie różnych, choć blisko spokrewnionych wariantów, określanymi jako tzw. quasi-gatunek [56]. Zmienność wirusa HCV ma podstawowe znaczenie dla skuteczności terapii i opracowania nowych uniwersalnych leków oraz szczepień przeciwwirusowych, które powinny celować we wszystkie genotypy wirusa HCV.

Wirus HCV przenosi się przez kontakt z krwią zakażonej osoby. Do większości zdiagnozowanych zakażeń doszło w okresie, kiedy nie korzystano jeszcze z testów wykrywa-

jących HCV przy transfuzjach krwi lub przeszczepach. Ponieważ od zakażenia wirusem do pojawienia się objawów WZW C infekcja może przez wiele lat przebiegać w utajeniu, szacuje się, że szczyt diagnozowanych zaawansowanych następstw choroby, takich jak zwłóknienie, marskość i rak wątroby nastąpi około 2020 r. W ostatnich latach nastąpił gwałtowny rozwój badań nad terapiami przeciwko WZW C: zatwierdzono i wprowadzono na rynek cztery nowe leki hamujące funkcje białek wirusowych i uważa się, że w ciągu najbliższych miesięcy zostaną dopuszczone następne. Opracowuje się nowe terapie uwzględniające aktywne działanie leków na wszystkie genotypy HCV, niewywołujące działań niepożądanych i skracające czas leczenia. Poznano też rolę różnych czynników wpływających na wynik leczenia, co może pozwolić na optymalne, indywidualne dopasowanie terapii. Jednocześnie prowadzone są intensywne badania eksperymentalne i kliniczne nad szczepionkami przeciwko wirusowi HCV o działaniu zarówno profilaktycznym jak i terapeutycznym.

OBCENA TERAPIA ZAKAŻEN HCV

Terapia dwulekowa

W leczeniu przewlekłego zakażenia HCV wyróżnia się obecnie dwa typy terapii: dwu- i trójlekową. Od ponad dekady stosowanie pegylowanego interferonu (PEG-IFN) w połączeniu z rybawiryną (RBV) (terapia dwulekowa) uznawano za tzw. złoty standard terapii WZW C [76]. Interferony to białka zaliczane do rodziny cytokin, wykazujących działanie antywirusowe, antyproliferacyjne i immunoregulujące. Są wytwarzane przez komórki w odpowiedzi na obecność patogenów, np. wirusów i prowadzą do aktywacji grupy genów indukowanych przez interferon (ISG, interferon stimulated genes) indukując szlaki metaboliczne prowadzące do zahamowania transkrypcji, zablokowania translacji, zaburzenia różnych etapów cyklu replikacyjnego wirusów oraz degradacji wirusowego RNA. Wykorzystywane w leczeniu przewlekłego zapalenia wątroby interferony $\alpha 2a$ i $\alpha 2b$ są połączone z cząsteczką glikolu polietylenowego. Wprowadzenie tej modyfikacji wydłużyło okres półtrwania leku w organizmie pacjenta i zmniejszyło stopień jego degradacji, co umożliwiło przyjmowanie go jeden raz w tygodniu [32]. Obecnie trwają prace nad pegylowanym interferonem lambda 1a w połączeniu z rybawiryną (Bristol-Myers Squibb, III faza badań klinicznych, identyfikator badań: NCT01754974), a także w układzie trójlekowym z telaprevirem (III faza badań klinicznych: NCT01598090) oraz nad postacią dostępną interferonu alfa (Interferon-alpha Lozenges, Amarello Biosciences, II faza badań klinicznych: NCT00695019). We wstępnych badaniach interferon lambda był lepiej tolerowany przez organizm i wykazywał lepszą lub porównywalną skuteczność ze stosowanymi obecnie interferonami alfa [60].

Otrzymana po raz pierwszy w 1970 r. rybawiryna jest syntetycznym analogiem nukleozydowym (guanozynowym) wykorzystywanym w leczeniu wielu infekcji wirusowych. Stosowana w monoterapii wykazuje bardzo słabe działa-

Tabela 1. Charakterystyka różnych typów odpowiedzi wirusologicznej oraz profili odpowiedzi na terapię skierowaną przeciwko wirusowi HCV [21,28]

Typ odpowiedzi wirusologicznej		Opis	
Trwała odpowiedź wirusologiczna (sustained virological response - SVR)		brak wirusowego RNA wykrywanego metodą PCR po 6 miesiącach od zakończenia terapii	
Odpowiedź na koniec trwania terapii (end of treatment response - EOT)		brak wirusowego RNA w chwili zakończenia terapii (po 6 lub 12 miesiącach)	
Wczesna odpowiedź wirusologiczna (early virological response - EVR) - częściowa lub kompletna		100-krotna redukcja ilości wirusowego RNA (częściowa EVR) lub całkowity brak wirusowego RNA (kompletna EVR) po 3 miesiącach stosowania terapii	
Szybka odpowiedź wirusologiczna (rapid virological response - RVR)		brak wirusowego RNA po 4 tygodniach stosowania terapii	
Odpowiedź na terapię/status chorego		Opis	
Trwała odpowiedź na terapię (responders)		brak wirusowego RNA wykrywanego metodą PCR po 6 miesiącach od zakończenia terapii (SVR)	
Brak odpowiedzi na terapię (non-responders)		wirusowe RNA wykrywane w trakcie i po zakończeniu terapii	
Odpowiedź częściowa (partial response)	całkowity brak odpowiedzi (null response)	100-krotna redukcja ilości wirusowego RNA w czasie trwania terapii, ale brak SVR	brak redukcji ilości wirusowego RNA w trakcie leczenia, brak SVR
nawrót (relapsers)		redukcja wirusowego RNA do poziomu niewykrywalnego i wznowa wirerii po zakończeniu leczenia	

nie antywirusowe, jednak w połączeniu z interferonem znacznie podnosi skuteczność leczenia [62]. Dokładny mechanizm działania rybawiryny w przypadku infekcji HCV nie jest do końca poznany, choć uważa się, że jest wielostopniowy:

- (1) stymulacja odpowiedzi immunologicznej komórkowej,
- (2) hamowanie komórkowego enzymu dehydrogenazy inozynomonofosforanu (IMPDH) prowadzące do obniżenia puli trifosforanu guanozyny – głównego substratu do syntezy wirusowego RNA,
- (3) bezpośrednie blokowanie replikacji HCV RNA przez inhibicję RNA-zależnej polimerazy RNA,
- (4) indukacja mutagenyzy w obrębie materiału genetycznego wirusa prowadząca do tzw. „katastrofy błędów” [18,82].

W związku z indukowaną przez rybawirynę anemią, w celu obniżenia jej stężenia ogólnoustrojowego opracowano postać proleku (viramidyna), aktywowanego dopiero w wątrobie. Niestety, mimo znacznego obniżenia częstości i nasilenia anemii, w badaniach II fazy nie udało się potwierdzić skuteczności antywirusowej zbliżonej do rybawiryny [55]. Możliwe, że zmiana dawkowania przyniosłaby pożądane rezultaty, jednak obecnie nie prowadzi się żadnych badań w tym kierunku.

Wybór rodzaju leczenia i czas jego trwania są ściśle związane z genotypem wirusa. Pacjentom zakażonych genotypami 2 i 3 zaleca się 24-tygodniową terapię pegylovanym interferonem alfa i rybawiryną, co daje pozytywny wynik w około 80% przypadków. Genotyp 1, występujący

u 60% populacji chorych na wirusowe zapalenie wątroby, a także genotyp 4 są dużo mniej podatne na leczenie. Mimo 48-tygodniowego czasu trwania terapii dwulekowej, trwałą odpowiedź wirusologiczną (sustained virological response - SVR) uzyskuje się u 30-50% pacjentów [52]. Ten i inne typy odpowiedzi na leczenie anty-HCV zdefiniowano w tab. 1.

Działania niepożądane to, oprócz stosunkowo niewielkiej skuteczności i wysokich kosztów, największe wady działań terapii anty-HCV. Do najpoważniejszych wymienianych działań niepożądanych stosowania interferonu należą: neutropenia, trombocytopenia i leukopenia wynikające z supresyjnego działania IFN na szpik kostny, aktywacja istniejących chorób przewlekłych w tym tarczycy, zmiany naczyniowe oraz objawy grypopodobne, poważne zaburzenia psychiczne, takie jak bezsenność, pobudzenie, czy depresja. Poza tym inne działania niepożądane spowodowane zażywaniem rybawiryny to m.in.: anemia spowodowana hemolizą wywoływaną przez RBV, wysypki, nudności i biegunki [83]. Pojawiały się też przypuszczenia o działaniu teratogennym RBV, jednak te informacje jak dotąd nie zostały potwierdzone [74].

Terapia trójlekowa

W ostatnich 10 latach na całym świecie nastąpiła intensyfikacja badań nad udoskonaleniem terapii WZW C. Postęp badań nad wirusem HCV oraz upowszechnienie systemów eksperymentalnych umożliwiających pracę z wirusem w hodowlach komórkowych *in vitro* przy-

Tabela 2. Lista nowych leków testowanych w badaniach klinicznych (na podstawie [65], uaktualniona na dzień 09.08.2014)

Nazwa leku	Producent	Faza badań klinicznych
Inhibitory proteazy NS3/4A		
Telaprevir	Vertex & Janssen	Dopuszczony do stosowania
Boceprevir	Merck	Dopuszczony do stosowania
Simeprevir	Janssen	Dopuszczony do stosowania
Faldaprevir	Boehringer-Ingelheim	III – przerwane w 2013
Vaniprevir	Merck	III zakończona, ewaluacja w Japonii
Asunaprevir	Bristol-Myers Squibb	III
ABT-450	Abbott	III
Danoprevir	Roche/Genentech	II
Narlaprevir	R-Pharm	II
GS-9256	Gilead	II
GS-9451	Gilead	II
Sovaprevir (ACH-1625)	Achillion	II
ACH-2684	Achillion	II
MK-5172	Merck	II
MK-8742	Merck	II
Analogi nukleozydów/nukleotydów		
Sofosbuvir	Pharmasset/Gilead	Dopuszczony do stosowania
Mericitabina	Roche/Genentech	II
IDX184	Idenix	II – przerwane w 2013
PSI-938	Pharmasset/Gilead	II
INX-189	Inhibitex	Ib
Nie-nukleozydowe inhibitory polimerazy		
BI207127	Boehringer-Ingelheim	III
ABT-333	Abbott	III
Tegobuvir	Gilead	II – przerwane w 2013
Filibuvir	Pfizer	II – przerwane w 2013
Setrobuvir	Roche/Genentech	II
VX-222	Vertex	II
TMC-647055	Janssen	Ib
Inhibitory NS5A		
Daclatasvir	Bristol-Myers Squibb	III
Ledipasvir (GS-5885)	Gilead	III
PPI-461	Presidio	Ib
GSK-2336805	Janssen	I
Inhibitory cyklifilin		
Alisporivir	Novartis	III
SCY-465	Scynexis	II
Inhibitory mikro-RNA		
Miravirsen	Santaris	II

czyniły się do opracowania nowych leków, które znajdują się obecnie na różnych etapach badań, od testów przedklinicznych do zaawansowanych prób klinicznych i mogą być zastosowane w różnych kombinacjach. Nowe związki należą do dwóch grup: leków oddziałujących bezpośrednio na wirusa (direct acting antivirals - DAAs) oraz związków określanych jako HTAs (host-targeting agents), których mechanizm działania jest związany z hamowaniem białek komórkowych odgrywających istotną rolę w cyklu replikacyjnym HCV. Lista dopuszczonych i potencjalnych nowych leków anty-HCV bę-

dących w zaawansowanym stadium badań klinicznych przedstawiono w tab. 2.

DAAs PIERWSZEJ GENERACJI: TELAPREVIR I BOCEPREVIR

Leki pierwszej generacji celujące w enzymy wirusowe, należące do inhibitorów proteazy serynowej NS3/4A – telaprevir (TVR, Incivo, Janssen w Polsce; Incivek, Vertex Pharmaceuticals w USA) i boceprevir (BOC, Victrelis, Merck) zostały dopuszczone do terapii HCV w Europie i Stanach Zjednoczonych w 2011 r. BOC i TVR mogą być

stosowane jedynie w terapii skojarzonej z interferonem i rybawiryną. Oba leki należą do grupy inhibitorów peptydomimetycznych o podobnym mechanizmie działania polegającym na wiązaniu do miejsca katalitycznego proteazy NS3/4A blokującym jej aktywność proteolityczną i obróbkę potranslacyjną białek wirusowych. TVR i BOC dopuszczono do terapii osób dorosłych zainfekowanych genotypem 1 HCV, zarówno nieleczonych jak i poddanych wcześniej terapii opartej na IFN o wszystkich profilach braku odpowiedzi na leczenie [4,26,39,99]. Schemat leczenia z zastosowaniem bocepreviru (w dawce 800 mg, 3 razy dziennie) poprzedza tzw. „faza wprowadzająca”, kiedy to pacjenci otrzymują jedynie IFN+RBV przez 4 tygodnie poprzedzające podanie BOC. Faza wprowadzająca ma na celu obniżenie poziomu wirerii i decyduje o skuteczności terapii BOC [43]. Dalsze leczenie kontynuuje się w układzie trójlekowym przez kolejne 24, 32 lub 44 tygodnie w zależności od odpowiedzi wirusologicznej. W przypadku telapreviru stosuje się dawkę 1125 mg dwa razy dziennie w połączeniu z IFN+RBV przez 12 tygodni, po czym leczenie kontynuuje się podając jedynie PEG-IFN+RBV przez 12 lub 36 tygodni w zależności od odpowiedzi na terapię [49]. Badania porównawcze obu terapii wykazały, że pacjenci, którym podawano telaprevir łatwiej osiągają odpowiedź RVR niż ci, którzy przyjmowali boceprevir [6]. Dane te wskazują, że terapia trójlekowa z zastosowaniem telapreviru powinna być stosowana u tzw. trudnych pacjentów, czyli z wysokim wyjściowym stopniem wirerii lub pacjentów zainfekowanych trudniejszym w leczeniu subtypem 1a HCV.

Zarówno telaprevir jak i boceprevir znacznie poprawiają skuteczność tradycyjnego leczenia dwulekowego (30% zwiększenie częstości odpowiedzi SVR) oraz skracają czas leczenia, ale niestety są związane z dodatkowymi ciężkimi działaniami niepożądanymi. W przypadku bocepreviru najczęściej wymieniane to anemia, neutropenia i zaburzenia smaku, natomiast w przypadku telapreviru to m.in. anemia, świąd i wysypka. Wymienione działania niepożądane mają bardzo często ostry przebieg, co powoduje, że są czynnikami limitującymi przebieg terapii. W badaniu klinicznym trzeciej fazy z użyciem terapii trójlekowej z zastosowaniem telapreviru aż 15% chorych przerwało leczenie z powodu zbyt uciążliwych działań niepożądanych [57]. Zredukowanie poważnych skutków wymienionych terapii trójlekowych nie może być przeprowadzone przez obniżenie dawki tych leków lub zastosowanie ich w monoterapii. Udowodniono, że w monoterapii z użyciem zarówno TVR, jak i BOC lekooporne szczepy wirusowe pojawiają się już w czwartej dobie podawania leku [77,91]. Mutacje odpowiedzialne za powstawanie lekoopornych wariantów wywołują oporność krzyżową, uniemożliwiając stosowanie innego inhibitora proteazy w przypadku nieskuteczności poprzedniego.

DAAs DRUGIEJ GENERACJI: SOFOSBUVIR I SIMEPREVIR

W ostatnim roku przyjęto dwa nowe leki należące do DAAs drugiej generacji: sofosbuvir (Sovaldi, Gilead Sciences) zaakceptowany przez FDA w grudniu 2013 r. i EMA w stycz-

niu 2014 r. oraz simeprevir (Olysio, Janssen Research & Development), który otrzymał zgodę FDA w listopadzie 2013 r. i EMA w marcu 2014 r.

Simeprevir ze względu na mechanizm działania jest zaliczany do DAAs drugiej fali pierwszej generacji. Podobnie jak TVR i BOC jest to inhibitor wirusowej proteazy NS3/4A hamujący obróbkę proteolityczną poliproteiny HCV powstającej w wyniku translacji wirusowego materiału genetycznego. Zaletą simepreviru jest to, że w przeciwieństwie do TVR i BOC stosuje się go doustnie tylko jeden raz dziennie w dawce 150 mg. Lek został dopuszczony do terapii WZW C jedynie w połączeniu z PEG-IFN+RBV, u osób dorosłych zakażonych genotypem 1 HCV, nieleczonych wcześniej oraz tych leczonych IFN+/-RBV. Czas trwania terapii zależy od wcześniejszego przebiegu leczenia i odejmuje dwa dopuszczone schematy:

(1) osobom nieleczonym (treatment naive) oraz chorym po nawrocie wirerii (relapsers) podaje się simeprevir +PEG-IFN+RBV przez 12 tygodni oraz PEG-IFN+RBV przez kolejne 12 tygodni,

(2) u chorych o profilu braku odpowiedzi na IFN+RBV oraz w przypadku wystąpienia marskości wątroby stosuje się potrójną terapię simeprevir+PEG-IFN+RBV również przez 12 tygodni, jednak czas podawania PEG-IFN+RBV wydłużony jest do 36 tygodni. W każdym przypadku terapię należy przerwać jeśli stwierdza się wykrywalne RNA HCV w tygodniu 4, 12 lub 24.

Simeprevir zdecydowanie zwiększa częstość odpowiedzi typu SVR zarówno u pacjentów wcześniej nieleczonych (80% SVR) [22,36,54], jak i w reterapii u chorych nieodpowiadających na leczenie (79% SVR) [100,101]. Lek testowano też u chorych zakażonych genotypem 4 HCV (80% SVR, badania III fazy RESTORE: NCT01567735) oraz w przypadku koinfekcji HIV/HCV (74% SVR) [16], jednak mimo pozytywnych rezultatów terapie te nie są oficjalnie dopuszczone. Mimo stosunkowo łagodnych działań niepożądanych (wysypka, reakcja skórna na światło, świąd, mdłości), stosowaniu leku towarzyszy silna lekooporność; w tym lekooporność krzyżowa na TVR i BOC [71].

Sofosbuvir jest lekiem z grupy DAAs drugiej generacji należącym do inhibitorów wirusowej polimerazy NS5B – głównego enzymu odpowiadającego za replikację HCV RNA. Sofosbuvir jest prolekiem i dopiero *in vivo* jest przekształcany w postać pośrednią leku (GS-331007), która jest wydajnie pobierana z krwi przez hepatocyty, gdzie kinazy komórkowe przekształcają ją w postać farmakologicznie aktywną – analog trifosforanu urydyny (GS-461203). Ten analog naturalnie występującego nukleotydu jest rozpoznawany przez polimerazę HCV i włączany do nowo powstających kopii wirusowego RNA wywołując terminację łańcucha. Aktywny inhibitor nie jest rozpoznawany przez komórkowe polimerazy DNA i RNA, w tym enzymy mitochondrialne i nie ulega wbudowaniu w DNA czy RNA gospodarza [33].

Tabela 3. Przybliżone koszty leczenia WZW C, uwzględniające leki obecne na rynku (na podstawie aktualnych cen w USA na dzień 08.08.2014)

Nazwa leku	Długość terapii i przybliżony koszt leczenia w PLN
IFN + RBV	12 tygodni – 27000 (z tego RBV 7500)
Boceprevir	24 tygodnie-79200 / 32 tygodnie –105600 / 44 tygodnie 145200
Telaprevir	12 tygodni 147600
Simeprevir	12 tygodni 198900
Sofosbuvir	12 tygodni – 252000, 24 tygodnie 504000

Sofosbuvir jest przełomowym lekiem w leczeniu WZW C pod kilkoma względami. W Europie dopuszcza się leczenie zakażeń genotypami 1-6 wirusa HCV, podczas gdy pozostałe terapie z zastosowaniem DAAs ograniczają się do genotypu 1. Ponadto, po raz pierwszy zaakceptowano terapię dwulekową sofosbuvir+RBV z wyłączeniem interferonu, przy czym jest to pierwsza całkowicie doustna postać terapii WZW C.

Czas oraz schemat leczenia zależy przede wszystkim od genotypu wirusa. Chorzy z infekcją HCV oraz koinfekcją HIV/HCV leczeni są w układzie trójlekowym (sofosbuvir + RBV+PEG-IFN) przez 12 tygodni w przypadku genotypów 1, 4, 5, 6. Dla genotypów 2 i 3 dopuszczono terapię dwuskładnikową (sofosbuvir+RBV) przez 12 tygodni (genotyp 2) i 24 tygodnie (genotyp 3). W przypadku chorych niekwalifikujących się do leczenia interferonem zaleca się 24 tygodnie terapii dwulekowej (sofosbuvir+RBV). Chorym oczekującym na przeszczep wątroby zaleca się 48 tygodni leczenia dwuskładnikowego lub dłużej, aż do przeszczepu, w celu zminimalizowania ryzyka reinfekcji po transplantacji. Dawka leku to 400 mg w tabletkę przyjmowanej 2 razy dziennie. Skuteczność leczenia dowiedziona badaniami klinicznymi wynosi 80-100% w przypadku terapii trójskładnikowej (sofosbuvir+RBV+PEG-IFN) [23,47]; przy czym 80% SVR uzyskano dla trudnych do leczenia pacjentów np. z marskością wątroby [47]. Skuteczność 12-tygodniowej terapii dwuskładnikowej (sofosbuvir+RBV) osiągnęła 97% SVR dla genotypu 2 i tylko 30-57% dla genotypu 3 [37,47]. Wydłużenie okresu leczenia do 16 tygodni poprawiło skuteczność dla tego genotypu średnio prawie do 62% SVR, jednak dopiero 24 tygodnie leczenia pozwoliły na uzyskanie 91% SVR dla genotypu 3 [102]. Terapia dwuskładnikowa (sofosbuvir+RBV) u pacjentów leczonych wcześniej IFN+RBV, którzy wykazali całkowity brak odpowiedzi na leczenie (null responders) osiągnęła jedynie 10% SVR [23].

Poza dużą skutecznością sofosbuviru jego atutami są niewielka toksyczność (działania niepożądane to zmęczenie i ból głowy) oraz wysoki próg genetyczny dla lekooporności. Daje to dużą przewagę tego modelu leczenia nad pozostałymi z jednym tylko zastrzeżeniem dotyczącym niezwykle wysokich kosztów terapii. 12-tygodniowy cykl leczenia kosztuje około 279 tys. PLN (252 tys. sofosbuvir + 27 tys. PEG-IFN+RBV). Dla porównania przybliżone koszty leczenia WZW C dla dostępnych obecnie leków zebrano w tab. 3.

LEKI W FAZIE EKSPERYMENTALNEJ

Jak wynika z zestawienia przedstawionego w tab. 2 wiele potencjalnych nowych leków przeciwko WZW C znajduje się obecnie w fazie eksperymentalnej, a niektóre z nich prawdopodobnie w najbliższych latach wejdą na rynek. Zjawisko powstającej lekooporności związane ze stosowaniem leków z grupy DAAs, wysokie koszty leczenia oraz liczba chorych oczekujących na skuteczną i osiągalną terapię stale motywują do poszukiwania i wprowadzania nowych leków o różnej specyfice działania.

Inhibitory proteazy

Inhibitory proteazy hamują proces powstawania białek wirusowych przez blokowanie procesu obróbki proteolitycznej poliproteiny HCV, która powstaje w wyniku translacji wirusowego RNA. Dopiero kotranslacyjna proteoliza uwalnia z poliproteiny poszczególne białka wirusowe. Po zarejestrowaniu simepreviru prace nad niektórymi lekami z tej grupy wstrzymano (np. faldaprevir, Boehringer-Ingelheim, wstrzymany w fazie III), jednak trzy inne związki: vaniprevir (Merck), asunaprevir (Bristol-Myers Squibb) i ABT-450 (Abbott) znajdują się na ostatnim etapie badań lub oczekują na wdrożenie (vaniprevir) (tab. 2).

Większość testowanych inhibitorów wykazuje aktywność antywirusową również wobec genotypów innych niż 1, ale niestety żaden nie jest w pełni aktywny wobec genotypu 3. Inną wadą potencjalnych leków z tej grupy jest szybkie tempo powstawania wariantów lekoopornych wirusa. Udowodniono, że duża liczba mutacji punktowych prowadząca do selekcji szczepów opornych pojawia się już w ciągu kilku dni do tygodni przy stosowaniu tych inhibitorów w monoterapii [64]. Duże nadzieje wiąże się z tzw. inhibitorami proteazy drugiej generacji. Związek o nazwie MK-5172 (Merck) wykazał aktywność antywirusową wobec wszystkich 6 genotypów wirusa HCV w badaniach klinicznych, a w przeciwieństwie do pozostałych inhibitorów tej klasy ma wyższy próg lekooporności [7].

Inhibitory polimerazy

Inną klasą związków antywirusowych są inhibitory wirusowej polimerazy RNA (NS5B). Inhibitory te podzielono na dwie grupy: analogi nukleozydowe/nukleotydydowe oraz nienukleozydowe inhibitory polimerazy (tab. 2). Związki

te są obecnie testowane zarówno w układach trójlekowych w połączeniu z terapią PEG-INF+RBV, jak i w terapii wieloskładnikowej z wyłączeniem PEG-IFN.

Leki o charakterze analogów nukleozydowych/nukleotydowych imitują substraty dla polimerazy, a po ich włączeniu do nowo powstającego RNA dochodzi do zatrzymania procesu replikacji wirusowego materiału genetycznego. Ponieważ miejsce aktywne polimerazy HCV jest silnie konserwowane w różnych genotypach, analogi te są aktywne wobec wirusów wszystkich genotypów, a co więcej należą do inhibitorów o wysokim progu lekooporności. Pierwszy lek z tej grupy simeprevir zarejestrowano w tym roku, a kilka innych znajduje się obecnie w II fazie badań klinicznych (tab. 2).

Nienukleozydowe inhibitory polimerazy wiążą się do jednego z czterech miejsc allosterycznych białka NS5B, co upośledza aktywność enzymu, a tym samym blokuje syntezę wirusowego RNA. Antywirusowa aktywność większości testowanych związków jest ograniczona do wirusa HCV genotypu 1, a warianty lekooporne pojawiają się niedługo po rozpoczęciu terapii. Ze względu na dość małą skuteczność np. tegobuviru (Gilead) i filibuviru (Pfizer) w terapii skojarzonej z PEG-IFN+RBV oraz ogromną oporność krzyżową zarówno między inhibitorami wiążącymi się do tego samego lub innego miejsca allosterycznego enzymu, prace nad tymi lekami przerwano w 2013 r. [65]. Dwa inne leki znajdujące się obecnie w III fazie badań klinicznych to BI207127 (Boehringer-Ingelheim) i ABT-333 (Abbott).

Inhibitory NS5A

Atrakcyjnym celem nowych DAAs może być białko NS5A, które wchodzi w skład kompleksu replikacyjnego HCV. Udowodniono, że antywirusowe działanie kilku inhibitorów NS5A, będących obecnie w fazie badań, polega na wiązaniu z jego domeną I, przez co zahamowana jest zdolność NS5A do regulacji procesu replikacji, ale dokładny mechanizm inhibicji nie jest jeszcze poznany. Najbardziej zaawansowane badania (faza III badań klinicznych) są przeprowadzane z użyciem inhibitorów o nazwie daclatasvir (Bristol-Myers Squibb) oraz ledipasvir (Gilead). Aktywność daclatasviru potwierdzono *in vitro* wobec wszystkich genotypów HCV. Wcześniejsze badania udowodniły także, że inhibitor ten stosowany w monoterapii jest aktywny wobec wirusa genotypu 1 [24].

Inhibitory NS5A wykazują silne działanie antywirusowe, są aktywne wobec różnych genotypów, jednak mają niski próg powstawania lekoopornych wariantów HCV, szczególnie wobec subtypu 1a [61]. Leki te wydają się mimo to bardzo atrakcyjne w połączeniu z innymi DAAs z grupy inhibitorów proteazy i/lub polimerazy w terapii wieloskładnikowej z wyłączeniem interferonu. Takie wieloskładnikowe terapie z zastosowaniem inhibitorów NS5A są obecnie przedmiotem zaawansowanych badań klinicznych bądź znajdują się w trakcie procesu ewaluacji przez WHO.

Inhibitory czynników komórkowych

Ze względu na to, że replikacja wirusa HCV w dużej mierze zależy od środowiska komórki gospodarza, czynniki komórkowe są alternatywnym celem przyszłej terapii przeciw-wirusowej. Zakłada się, że hamowanie procesów komórkowych istotnych dla namnażania wirusa, powinno obniżyć ryzyko selekcji mutacji lekoopornych. Czynniki te są silnie konserwowane w komórce, więc terapie z ich zastosowaniem powinny być skuteczne wobec wszystkich genotypów HCV. Hamując procesy komórkowe należy jednak uwzględnić ryzyko wystąpienia działań niepożądanych.

Jednym z celów terapii antywirusowej są cyklofiliny, które są białkami opiekuńczymi zaangażowanymi w prawidłowe dojrzewanie białek komórkowych. Wykazano, że cyklofilina A wchodzi w skład kompleksu replikacyjnego wirusa HCV przez oddziaływanie z białkami NS5A i NS5B i odgrywa główną rolę w tym procesie [11,12]. Farmakologiczne hamowanie działania cyklofilin za pomocą cyklosporyny A powoduje zahamowanie procesu replikacji HCV. Ponieważ terapeutyk ten działa immunosupresyjnie i obniża odporność organizmu, zsyntetyzowana została jego pochodna pozbawiona właściwości immunosupresyjnych o nazwie alisporivir (DEB-O25, Novartis). Lek ten powoduje zahamowanie replikacji HCV u pacjentów zakażonych genotypami 1, 2, 3 i 4 zarówno w monoterapii, jak i terapii dwulekowej w połączeniu z interferonem [19,63]. 7 sierpnia 2014 r. firmy Novartis i Enanta Pharmaceuticals Inc. ogłosiły rozpoczęcie badań nad terapią łączoną obejmującą alisporivir oraz inhibitor NS5A (EDP-239) w układzie bez IFN.

Obiecującym celem przyszłej terapii anty-HCV jest także miR-122. Jest to jednoniciowa cząsteczka RNA (mikro-RNA), której wysoki poziom ekspresji obserwuje się w wątrobie, a który wiąże się do dwóch swoistych miejsc silnie konserwowanego rejonu niekodującego – 5' UTR wirusowego RNA stabilizując ten rejon, co ułatwia replikację HCV [41]. W badaniach drugiej fazy bezpieczeństwa i skuteczności znajduje się inhibitor miR-122 – miravirsen (Santaris) [51]. Związek jest antysensownym oligonukleotydem tiofosforanowym, który tworząc heterodupleks z miR-122 blokuje jego działanie. Wykazano, że lek jest aktywny zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby zainfekowanych HCV genotypu 1, jednak konieczne są bardziej szczegółowe badania z użyciem tego związku [40]. Wadą preparatu, w przeciwieństwie do innych leków, jest konieczność podawania go w iniekcji, co w całkowicie doustnych terapiach WZW C, wyklucza przyszłe zastosowanie tego leku.

Kombinacje leków z grupy DAAs – terapie z wyłączeniem interferonu

Przypuszcza się, że kilka terapii łączonych z zastosowaniem kombinacji różnych DAAs[±]/rybawiryna (terapię trzy i czterolekowe) zostanie wprowadzonych na rynek jeszcze w tym roku. Największy nacisk kładzie się obecnie na nowe doustne formuły z wyłączeniem interferonu, aby zredukować związane z nim silne działania niepożądane. Jest

Tabela 4. Terapie łączone z użyciem DAAs z wykluczeniem interferonu, będące na ostatnim etapie wdrażania (faza III badań klinicznych, ukończone oczekujące na decyzję) na podstawie [13,21]

Nazwy leków podawanych w kombinacji / aktywność biologiczna	Producent	Etap wdrażania
ABT-450/r (inhibitor proteazy) Ombitasvir/ABT-267 (inhibitor NS5A) Dasabuvir/ABT-333 (inhibitor polimerazy)	Abbott/Enanta	Faza III zakończona, zgłoszone do FDA oczekiwanie na decyzję
Daclatasvir (inhibitor NS5A) Asunaprevir (inhibitor proteazy)	Bristol-Myers Squibb	Faza III zakończona, zgłoszone do FDA oczekiwanie na decyzję
Daclatasvir (inhibitor NS5A) Asunaprevir (inhibitor proteazy) BMS-791325 (inhibitor polimerazy)	Bristol-Myers Squibb	Faza III zakończona, zgłoszone do FDA oczekiwanie na decyzję
Sofosbuvir (inhibitor polimerazy) Ledipasvir (inhibitor NS5A)	Gilead	Faza III zakończona, zgłoszone do FDA oczekiwanie na decyzję
MK-5172 (inhibitor proteazy) MK-8742 (inhibitor NS5A)	Merck	Faza III badań klinicznych
Simeprevir (inhibitor proteazy) Sofosbuvir (inhibitor polimerazy)	Janssen	Faza III badań klinicznych
Daclatasvir (inhibitor NS5A) Sofosbuvir (inhibitor polimerazy)	Bristol-Myers Squibb/ Gilead	Faza III badań klinicznych

to również niezwykle istotne z punktu widzenia chorych niekwalifikujących się do leczenia z użyciem interferonu oraz tych, dla których dotychczasowe leczenie było nieskuteczne. Wiele tego typu terapii skojarzonych, jest obecnie w fazie badań. W czterech przypadkach badania zakończono, a nowe terapie zgłoszono do FDA (decyzja oczekiwana jest jeszcze w 2014 r.). W tabeli 4 podsumowano ukończone i najbardziej zaawansowane (III faza) badania obejmujące kombinacje DAAs z wyłączeniem interferonu.

Możliwość zastosowania różnych kombinacji DAAs u osób, u których poprzednia terapia z użyciem innych inhibitorów wirusowych była nieskuteczna daje realną szansę na wyleczenie podczas ponownej terapii. Analiza danych z badań klinicznych wskazuje dużą skuteczność powyższych terapii w granicach 90-100% SVR. Część z nich pozwala nawet na skrócenie leczenia do 8 tygodni (sofosbuvir+ledipasvir) oraz na wyeliminowanie rybawiryny, której stosowanie wiąże się z poważnymi działaniami niepożądanymi. O ile jest prawie pewne, że pierwsze tego typu terapie zostaną dopuszczone w IV kwartale 2014 r., to ze względu na spodziewane wysokie koszty z pewnością nie będą ogólnodostępne.

CZYNNIKI PROGNOZYSTYCZNE ODPOWIEDZI NA LECZENIE WZW C

Koszty leczenia z zastosowaniem DAAs i jego ograniczona dostępność wymagają dokładnej selekcji pacjentów pod kątem spodziewanej skuteczności nowych terapii w stosunku do klasycznego układu dwulekowego PEG-IFN+RBV oraz bilansu „zysków i strat” ustalanych dla każdego chorego indywidualnie. Uważa się, że jedynie spersonalizowane podejście do leczenia WZW C jest ekonomicznie uzasadnione oraz umożliwia kontrolowanie choroby w skali lokalnej, regionalnej, czy krajowej.

Czynniki mające wpływ na przebieg leczenia WZW C zależą zarówno od chorego jak i zmiennych wirusowych, a ich współzależność decyduje o wyniku terapii. Decyzja o rozpoczęciu leczenia i wyborze terapii jest podstawowa zarówno z perspektywy osób nieleczonych jak i tych, u których wcześniejsza terapia była nieskuteczna. W przypadkach drastycznych działań niepożądanych dobrze zdefiniowane czynniki prognostyczne mogą motywować zarówno pacjentów, jak i lekarzy do kontynuacji bądź zaprzestania terapii. W obliczu wprowadzenia nowych leków generacji z grupy DAAs bardzo ważnym aspektem będzie świadomy wybór między różnymi metodami leczenia ze względu na jego spodziewane rezultaty.

Rola czynników osobniczych jako wskaźników skuteczności leczenia

Z pozytywnym wynikiem leczenia silnie korelują, takie czynniki osobnicze, wiek poniżej 40 lat, płeć żeńska oraz niski wskaźnik BMI (body mass index). Ważne parametry zdrowotne to również infekcje towarzyszące, np. HIV (human immunodeficiency virus) czy HBV (hepatitis B virus) oraz insulinooporność, stłuszczenie wątroby, a także wysoki stopień zaawansowania zmian zapalnych w wątrobie, które obniżają skuteczność leczenia zarówno w układzie dwu- jak i trójlekowym. Biorąc pod uwagę uniwersalną pięciostopniową skalę METAVIR (F0-F4) zwłóknienie w granicach 0-2 koreluje z częstszą SVR, szczególnie w terapii trójlekowej (BOC: F0-2 67 % SVR; F3-4 41-52%; TVR: F0-2 81% SVR; F3-4 46%) [39,70]. Obecnie do leczenia kwalifikowani są w pierwszej kolejności pacjenci z zaawansowanym zwłóknieniem ze względu na możliwe dalsze powikłania prowadzące do marskości i raka wątroby, choć jego skuteczność w tej fazie choroby jest znacznie niższa.

Podłoże genetyczne

Rola tła genetycznego pacjentów, jako niezależnego parametru prognostycznego pozostaje sporna. W 2009 r. wykazano korelację między odpowiedzią na leczenie interferonem i rybawiryną, a kilkoma polimorfizmami allelicznymi typu SNP (single nucleotide polymorphism - SNP) umiejscowionymi na chromosomie 9 w okolicy genu *IL28B*. Gen ten koduje interferon gamma, który uczestniczy w aktywacji szlaku nieswoistej odpowiedzi immunologicznej [25,90,92]. Polimorfizmy typu SNP występują powszechnie w genomie człowieka i są związane z dziedziczeniem cech po obojgu rodzicach. Przejawiają się występowaniem różnych alleli (pojedynczych nukleotydów w sekwencji DNA), w odpowiadających sobie miejscach (*loci*) na dwóch chromosomach homologicznych. Allele tego samego genu różnią się zazwyczaj jednym lub kilkoma nukleotydami, a występowanie więcej niż jednej wersji danego genu określa się jako polimorfizm.

Badania porównawcze całych genomów pozwalają na skorelowanie polimorfizmów genetycznych z występowaniem różnych cech fenotypowych w tym z podatnością na choroby i wrażliwością na leczenie, jak w przypadku WZW C. Dane o największej wartości prognostycznej uzyskano dla dwóch *loci* w obrębie genu *IL28B*: rs12979860 i rs8099917, a genotypy korelujące z wyleczeniem to odpowiednio CC (wobec możliwych wariantów CT lub TT) oraz TT (wobec TG lub GG). Genotyp CC w *locus* rs12979860 koreluje również ze spontaniczną eliminacją wirusa w fazie ostrej infekcji [97]. Wyniki te uznano za niezwykle obiecujące, co doprowadziło do wprowadzenia na rynek komercyjnych testów genetycznych. Niemniej jednak po wprowadzeniu bezpośrednich inhibitorów wirusa HCV rola diagnostyczna polimorfizmu *IL28B* może mieć mniejsze znaczenie. O ile w wypadku leczenia skojarzonego można z dość dużym prawdopodobieństwem powiązać genotyp *IL28B* ze spodziewanym rezultatem terapii, o tyle wartość prognostyczna skuteczności leczenia z zastosowaniem DAAs jest niższa i zależy od rodzaju inhibitora. W przypadku sofosbuviru wykazano brak korelacji genotypu *IL28B* ze skutecznością leczenia [23], podobne wyniki otrzymano dla simepreviru [3], jednak dla telapreviru i bocepreviru zachodzi pewna korelacja, a co za tym idzie wartość prognostyczna genotypu *IL28B* nadal istnieje, zwłaszcza w odniesieniu do genotypu 1a wirusa [42].

Wartość prognostyczna polimorfizmów *IL28B* pozostaje aktualna w przypadku decyzji o wyborze terapii, szczególnie u pacjentów zakażonych genotypem 1 leczonych po raz pierwszy, którzy w przypadku korzystnego genotypu *IL28B* mogliby rozpocząć terapię od formuły dwulekowej (PEG-IFN+RBV) z ewentualnym włączeniem DAAs w przypadku braku odpowiedzi typu RVR. U tych pacjentów oba rodzaje terapii osiągają podobną skuteczność. Pacjenci z genotypem CC, którzy w wyniku leczenia uzyskali RVR, mogą być kwalifikowani do krótszej terapii niż w przypadku genotypów CT i TT, gdyż korzystny genotyp *IL28B* w połączeniu z odpowiedzią RVR dają prawie 100% prawdopodobieństwo trwałej odpowiedzi wirusologicz-

nej. W przypadku genotypów innych niż 1 korelacja polimorfizmów *IL28B* ze skutecznością terapii skojarzonej (PEG-IFN+RBV) wydaje się niższa, choć dane literaturowe nie są jednoznaczne [1,53,78].

Parametrem osobniczym powiązany z wynikiem leczenia WZW C jest też poziom ekspresji genów odpowiedzi na interferon (interferon stimulated genes - ISG). Pacjenci z wysoką wyjściową ekspresją ISG mają mniejsze szanse na osiągnięcie SVR w leczeniu interferonem. Dogodnym biomarkerem do oceny ekspresji ISG jest stężenie chemokiny prozapalnej IP-10 (interferon gamma-inducible protein-10) w surowicy krwi. U chorych nieodpowiadających na leczenie obserwuje się zwiększone stężenie IP-10 w surowicy w porównaniu z tymi, którzy osiągnęli SVR, co koreluje również z nasileniem zmian zapalnych i zaawansowaniem procesu włóknienia wątroby [44]. Wykazano też, że duże stężenie IP-10 wiąże się z częstszym przechodzeniem infekcji ostrej w postać przewlekłą [28]. Oznaczanie stężenia IP-10 w połączeniu z polimorfizmem *IL28B* mają ważne znaczenie prognostyczne zarówno w ocenie szans powodzenia terapii z zastosowaniem interferonu jak i prawdopodobieństwa samoistnej eliminacji wirusa podczas ostrej fazy infekcji.

Znaczenie prognostyczne parametrów wirusowych

Obecnie w dobie DAAs najprawdopodobniej najistotniejszymi parametrami wpływającymi na skuteczność leczenia będą dane wirusologiczne definiujące wrażliwość danych szczepów wirusa na inhibitory stosowane w terapii oraz monitorowanie zjawiska lekooporności.

Najsilniejszym wirusowym czynnikiem prognostycznym jest genotyp wirusa HCV. Do najtrudniejszych w leczeniu zalicza się genotypy 1 i 4, a zakażenia tymi genotypami korelują z niższym odsetkiem SVR w terapii skojarzonej PEG-IFN+RBV (40-50%) [26], niż dla genotypów 2 i 3 (70-80%) [83]. Niewiele informacji jest dostępnych o genotypach 5 i 6, jednak istniejące dane wskazują na profil odpowiedzi zbliżony do genotypów 2 i 3 [8,45,68,93]. W przypadku terapii trójlekowej częstsze SVR (7-10%) obserwuje się dla subtypu 1b genotypu 1, co wiąże się najprawdopodobniej z częstszym występowaniem mutacji opornych na inhibitory proteazy pierwszej generacji (BOC i TVR) w przypadku genotypu 1a [31]. Subtyp 1a jest również najtrudniejszy w leczeniu z zastosowaniem simepreviru ze względu na naturalny polimorfizm w obrębie kodonów NS3 Q80K występujący w tym subtypie. Również polimorfizmy L31M i Y93H w NS5A związane z opornością na inhibitory tego białka wirusowego są częstsze w genotypie 1 [71]. Zauważa się także różnice w skuteczności leczenia z zastosowaniem DAAs między pozostałymi genotypami HCV (np. sofosbuvir [37,47]), a genotyp 3 jest uznawany za najtrudniejszy w leczeniu z zastosowaniem DAAs.

Ważnym parametrem wirusologicznym jest też wyjściowy poziom wirerii HCV mierzony przed podjęciem leczenia. W przypadku genotypu 1 niskie miano wirusa silnie koreluje z większym prawdopodobieństwem odpowiedzi SVR

na leczenie skojarzone PEG-IFN+RBV [30]. Poziom wirerii HCV jest uważany za niezależny czynnik prognostyczny. Wartość progowa między niskim a wysokim poziomem waha się w różnych badaniach między 400 000-600 000, a 800 000 IU/ml. W przypadku genotypów 2 i 3 oraz terapii z zastosowaniem inhibitorów proteazy wyjściowe miano wirusa ma dużo mniejszą wartość predykcyjną, jednak również w tych przypadkach niższy poziom wirerii wiąże się z lepszą odpowiedzią na leczenie [96].

Pozostałe parametry wirusologiczne, takie jak np. wariacja quasi-gatunków HCV określająca strukturę i dynamikę rozwoju populacji wirusowej w zakażonym organizmie, czy zróżnicowanie i zmienność w genach białek wirusowych również mają wpływ na przebieg leczenia WZW C, jednak ze względu na znaczną obszerność i niejednoznaczność danych literaturowych zostaną pominięte; wyczerpujące informacje na ten temat można znaleźć w innych pracach [48,52].

Wraz z wprowadzaniem nowych leków z rodziny DAAs, nowe parametry wirusologiczne będą niezbędne do właściwego dopasowania schematu leczenia dla indywidualnego pacjenta. Bardzo istotne będą wówczas badania mutacji powstających pod wpływem terapii w genomie wirusowym. Mutacje tego typu powinny być definiowane jednocześnie z wprowadzaniem na rynek nowych inhibitorów w celu skutecznego monitorowania powstawania wariantów lekoopornych wirusa HCV i zastępowania nieskutecznych leków innymi kombinacjami DAAs.

Parametry związane z wczesną odpowiedzią na leczenie

Mimo występowania wielu przedstawionych wyżej czynników predykcyjnych, nadal największą wartość prognostyczną w leczeniu WZW C mają parametry wczesnej odpowiedzi wirusologicznej zbierane w czasie trwania leczenia. Kinetyka spadku liczby kopii wirusowego RNA mierzona w 4 i 12 tygodniu kuracji jest najsilniejszym prognostykiem końcowej odpowiedzi wirusologicznej zarówno w układzie dwu- jak i trójlekowym niezależnie od innych bazowych parametrów prognostycznych [38,80]. Pacjenci z typem odpowiedzi RVR oraz korzystnym genotypem IL28B mają 80-94% szans na uzyskanie SVR, podczas gdy ci, u których wirusowe RNA jest wciąż wykrywalne w 12 tygodniu leczenia, mają bardzo małe prawdopodobieństwo wyleczenia. Bezpośredni związek wczesnej kinetyki odpowiedzi wirusologicznej z odpowiedzią na leczenie WZW C stał się podstawą nowego podejścia terapeutycznego „Response-Guided Therapy” (RGT). RGT jest to schemat leczenia, w którym o kolejnych etapach terapii decydują zmiany poziomu wirerii mierzonej jako liczba kopii RNA wirusa HCV. Dopiero RVR i EVR w połączeniu z przedstawionymi wyżej parametrami osobniczymi i wirusologicznymi pozwalają określić z bardzo dużym prawdopodobieństwem szansę uzyskania SVR, czy też braku odpowiedzi na leczenie [66]. Ma to bezpośrednie przełożenie na dalsze decyzje terapeutyczne dotyczące zaprzestania lub kontynuacji leczenia, jego długości czy też włączenia do terapii nowych leków.

EKSPERYMENTALNE SZCZEPIONIA PRZECIWKO WIRUSOWI ZAPALENIA WĄTROBY TYPU C

Wyzwania w produkcji szczepionki przeciwko WZW C

Ze względu na działania niepożądane oraz wysoki koszt leczenia wciąż poszukuje się nowych metod zapobiegania WZW C. Skuteczne szczepienie mogłoby być obiecującą alternatywą bądź, co bardziej prawdopodobne, uzupełnieniem terapii, jednak jeszcze żadna szczepionka anty-HCV nie została wprowadzona na rynek. W przypadku wirusa HCV rozważa się zastosowanie zarówno szczepionek profilaktycznych jak i terapeutycznych. Szczepionka terapeutyczna byłaby podawana przewlekłym chorym w celu pobudzenia odpowiedzi immunologicznej pozwalającej na zwalczenie infekcji. Zastosowanie szczepienia terapeutycznego pozwoliłoby na zminimalizowanie działań niepożądanych i obniżenie kosztów terapii [35]. Obecnie testy na obecność wirusa HCV są przeprowadzane rutynowo przy zabiegach medycznych, co znacznie zmniejszyło zapadalność na WZW C. W krajach rozwiniętych problem zachorowań na WZW C dotyczy głównie osób dożylnie zażywających narkotyki oraz pracowników służby zdrowia. Jednak wciąż źródło prawie 20% infekcji jest niepoznane, a zakażenia HCV są nadal bardzo powszechne w krajach Trzeciego Świata, gdzie możliwości leczenia i diagnostyki są ograniczone. Z tych przyczyn istnieje duże zapotrzebowanie na szczepionkę profilaktyczną. Uważa się, że szczepionka taka nie musiałaby chronić przed infekcją, ale raczej pozwalałaby na uniknięcie stanu przewlekłego [81].

Większość dostępnych na rynku szczepionek przeciwwirusowych zawiera atenuowane, żywe wirusy o obniżonej patogenności lub inaktywowane cząstki wirusowe. Zaletą obu rodzajów szczepionek jest wprowadzenie do organizmu licznych antygenów wirusowych i wzbudzenie wielu swoistych reakcji odpornościowych. Niestety, strategie te nie mogą być zastosowane do szczepienia przeciwko WZW C ze względu na brak wydajnego systemu pozwalającego na wytwarzanie cząstek wirusa HCV na dużą skalę. Dlatego też testowane obecnie szczepionki przeciwko wirusowi HCV to głównie szczepionki podjednostkowe oparte na białkach lub peptydach wirusowych produkowanych w różnych systemach ekspresji, bądź szczepionki genetyczne wprowadzające do organizmu materiał genetyczny wirusa HCV, na podstawie którego w komórkach gospodarza zachodzi wytwarzanie i prezentacja antygenów wirusowych. Szczepienia genetyczne obejmują szczepienia plazmidowym DNA oraz użycie wektorów, a więc niepatogennych organizmów, do których metodami inżynierii genetycznej wprowadza się geny HCV.

Aspektem istotnym w konstrukcji szczepionek anty-HCV jest konieczność wzbudzenia odporności organizmu celującej we wszystkie izolaty i genotypy wirusowe. Dlatego też reakcje immunologiczne wywołane szczepieniem powinny być skierowane wobec najmniej zmiennym białkom wirusa. Podstawową kwestią jest wybór odpowiednich antygenów szczepionkowych – wzbudzających silne reakcje immuno-

Tabela 5. Wykaz szczepionek przeciwko WZW C testowanych w próbach klinicznych (wg bazy ClinicalTrials.gov)

Antygeny wirusa HCV	Sposób dostarczenia antygenów	Numer badania w bazie clinicaltrials.gov	Badana grupa	Instytucja sponsorująca
Białka niestrukturalne NS3/4a	Plazmidowy DNA dostarczany za pomocą elektroporacji (CHRONVAC-C)	NCT01335711 faza II	Pacjenci z przewlekłą infekcją HCV gt 1	ChronTech Pharma AB
Białka niestrukturalne NS3-5B	2 wektory adenowirusowe pochodzenia ludzkiego i szympaniego	NCT01094873 faza I	Pacjenci z przewlekłą infekcją HCV	Okairos
Białka niestrukturalne NS3-5B	Wektor adenowirusowy i wektor MVA	NCT01296451 faza I	Zdrowi ochotnicy i zakażeni pacjenci	Okairos
		NCT01436357 faza I/II	Osoby o podwyższonym ryzyku zakażenia	NIAID
Białka niestrukturalne NS3, NS4, NSSB	Wektor MVA (TG4040) + SOC	NCT01055821 faza II	Nieleczeni pacjenci z przewlekłym zakażeniem gt1	Transgene
Białko rdzenia C, białko niestrukturalne NS3	Inaktywowane komórki drożdżowe wytwarzające białka HCV (GI-5005) + SOC	NCT00606086 faza II	Pacjenci z przewlekłą infekcją HCV gt 1	Globelimmune

SOC – (standard of care) – terapia standardowa, MVA – (modified vaccinia Ankara), NIAID - National Institute of Allergy and Infectious Diseases

logiczne, a jednocześnie zawierających konserwowane sekwencje. Jako antygeny szczepionkowe stosuje się zarówno białka strukturalne jak i niestrukturalne HCV [35,81].

Odpowiedź immunologiczna a przebieg WZW C

Spontaniczne wyleczenie WZW C koreluje z wykształceniem swoistej odpowiedzi immunologicznej wobec wirusa. Dokładne poznanie związku między poszczególnymi elementami odpowiedzi a skutecznym zwalczaniem infekcji mogłoby pozwolić na zaprojektowanie skutecznej szczepionki wzbudzającej wszystkie niezbędne elementy odpowiedzi anty-HCV. Analizy porównawcze odpowiedzi u pacjentów rozwijających przewlekłą infekcję i pacjentów zwalczających zakażenie wykazały, że do pozbycia się wirusa konieczne jest współdziałanie wielu elementów odpowiedzi immunologicznej.

Silna i długotrwała odpowiedź komórkowa działająca za pośrednictwem limfocytów T cytotoksycznych i pomocniczych skierowana przeciwko wielu epitopom wirusa HCV jest konieczna do zwalczania zakażenia [86,87], natomiast osłabienie odpowiedzi typu komórkowego powoduje rozwinięcie stanu przewlekłego [20]. Spadek liczby cząstek wirusa we krwi pacjentów zwalczających infekcję koreluje czasowo z pojawieniem się limfocytów T swoistych dla HCV i zwiększoną ekspresją IFN- γ w wątrobie [84].

Przeprowadzone w ostatniej dekadzie dwa niezależne badania w grupach pacjentów zakażonych tym samym szczepem wirusa wykazały, że wytwarzanie we wczesnej fazie infekcji przeciwciał neutralizujących, a więc blokujących wnikanie wirusa do komórek, koreluje ze skutecznym zwalczaniem

zakażenia [67]. Także badania prowadzone na szympaniach oraz myszach z humanizowaną wątrobą wykazały ochronną rolę przeciwciał neutralizujących [46,58].

Większość przeciwciał wytwarzanych podczas infekcji nie ma aktywności przeciwwirusowej. Przeciwciała są skierowane przeciwko zdegradowanym lub niedojrzałym białkom lub rejonom białkowym nieodgrywającym roli w infekcji. Nieliczne przeciwciała neutralizujące blokują wnikanie wirusa do komórek zapobiegając rozprzestrzenianiu się infekcji. Dla wirusa HCV zidentyfikowano wiele przeciwciał neutralizujących skierowanych przeciwko białkom osłonkowym wirusa E1 i E2, zwłaszcza przeciwko rejonom białka E2 wiążącym główny receptor komórkowy dla wirusa HCV - CD81 [34,46] oraz rejonowi nadzmiennemu HVR1 [34]. Ze względu na dużą zmienność genetyczną rejonu HVR1 wirus HCV skutecznie unika odpowiedzi skierowanej wobec HVR1, a przeciwciała anty-HVR1 neutralizują jedynie wirusy tego samego szczepu. Natomiast przeciwciała skierowane wobec konserwowanych regionów białek osłonkowych mogą neutralizować krzyżowo wirusy z różnych genotypów [94].

Efektywna szczepionka powinna wzbudzać optymalną odpowiedź układu immunologicznego czyli odpowiedź limfocytów T cytotoksycznych i pomocniczych wobec różnych epitopów wirusowych, w tym epitopów białek niestrukturalnych, a także wytwarzanie przeciwciał neutralizujących wiążących konserwowane części białek osłonkowych.

PODJEDNOSTKOWE SZCZEPIONKI PRZECIW WZW C

W ostatnich latach wiele nowych szczepionek eksperymentalnych przetestowano na gryzoniach i ssakach naczelnych,

a nieliczne z nich zostały wprowadzone do prób klinicznych u ludzi. Większość badań dotyczyła szczepień terapeutycznych. Testowane szczepionki to przede wszystkim szczepionki podjednostkowe, szczepionki DNA oraz szczepionki wektorowe. Lista testowanych obecnie w próbach klinicznych szczepionek przedstawiono w tab. 5.

Ze względu na trudności w uzyskaniu całych cząstek wirusa HCV w komórkach, w testowanych szczepionkach podjednostkowych dostarcza się pojedyncze białka wirusowe lub ich kombinacje. Wprowadzenie oczyszczonych białek lub peptydów do organizmu wywołuje reakcje immunologiczne oparte w głównej mierze o wytwarzanie swoistych przeciwciał.

SZCZEPIONKI OPARTE O BIAŁKA E1/E2

Ze względu na swoje położenie na zewnątrz wirionu, białka osłonkowe E1/E2 wirusa HCV są odpowiedzialne za oddziaływanie między wirionem a receptorami komórkowymi i umożliwiają wnikanie wirusa do komórek [98]. Jako białka powierzchniowe E1/E2 stanowią główny cel przeciwciał neutralizujących wytwarzanych w czasie zakażenia. Największym wyzwaniem związanym z użyciem białek osłonkowych do szczepień jest ich duża zmienność i konieczność wyeksponowania najbardziej konserwowanych regionów białkowych.

Szczepionka E1/E2 opracowana przez koncern Chiron (teraz Novartis) oparta została na rekombinowanych białkach osłonkowych wirusa HCV genotypu 1a oczyszczonych z hodowli komórek ssaczych. Szczepionkę przetestowano na gryzoniach i szympankach i w obu przypadkach wzbudziła wytwarzanie przeciwciał neutralizujących różne izolaty wirusa HCV [59,89]. W 2010 r. została przetestowana jako szczepionka profilaktyczna w pierwszej fazie prób klinicznych na 60 zdrowych ochotnikach. Wykazano dobrą tolerancję szczepionki, a także jak w poprzednich modelach badawczych, stymulację wytwarzania przeciwciał neutralizujących krzyżowo różne izolaty wirusa HCV [72,88]. Szczegółowa analiza odpowiedzi komórkowej nie została przedstawiona. Niewątpliwym sukcesem było wykazanie, że mimo zmienności białek osłonkowych HCV, szczepienie białkami E1E2 jednego izolatu wirusowego może wywołać odpowiedź swoistą dla wielu różnych izolatów.

• Szczepionki oparte o białko C

Białko rdzenia (C) jest białkiem strukturalnym kapsydu wirusowego. Jest najbardziej konserwowanym białkiem w różnych genotypach wirusa HCV, a przeciwciała anty-C są pierwszymi przeciwciałami wykrywanymi u zakażonych pacjentów.

Szczepionka G15005 koncernu GlobeImmune zawierająca zabite komórki drożdżowe wytwarzające białko C-NS3 została w 2010 r. przetestowana w pierwszej fazie, a w 2013 r. w drugiej fazie prób klinicznych na pacjentach z przewlekłą postacią WZW C. W drugiej fazie badań G15005 stosowano razem z terapią standardową u 66 pacjentów

z przewlekłą infekcją genotypem 1a HCV. Według doniesienia z 2010 r. [69] podanie G15005 znacząco zwiększyło odpowiedź wirusologiczną, jednak szczegółowe dane nie zostały jeszcze opublikowane.

Genetyczne szczepionki przeciw WZW C

Szczepionki genetyczne to szczepionki najnowszej generacji. Przy szczepieniu genetycznym do komórek gospodarza wprowadza się geny wirusa HCV, które ulegają ekspresji, co prowadzi do syntezy antygenów. Antygeny są produkowane w sposób zbliżony do naturalnego – synteza białka zachodzi w komórkach gospodarza, co efektywnie pobudza odpowiedź humoralną i komórkową. Geny wirusowe wprowadza się przez iniekcje plazmidowego DNA lub z użyciem wektorów.

Szczepionki genetyczne testowane w próbach klinicznych najczęściej dostarczają geny białek niestrukturalnych wirusa HCV. Białka NS nie wchodzi w skład wirionów, ale są wytwarzane w zakażonych komórkach podczas infekcji. Odpowiedź immunologiczna wobec tych białek to głównie odpowiedź limfocytów T, które do podjęcia działań efektorowych potrzebują prezentacji antygenów przez cząstki zgodności tkankowej obecne na komórkach. Białka NS mają stosunkowo niezmienną sekwencję w różnych izolatach wirusa HCV i wydają się dobrymi antygenami szczepionkowymi. Szczególnie białko NS3 jest obiecującym antygenem szczepionkowym, gdyż cechuje się wysoką immunogennością i znacznym konserwowaniem sekwencji [75,81].

• Szczepionki DNA

Szczepionki DNA charakteryzują się dużym bezpieczeństwem i łatwością produkcji, jednak są mało immunogenne i słabo indukują wytwarzanie przeciwciał. W celu zwiększenia immunogenności podaje się je z adiuwantami lub stosuje elektroporację – za pomocą impulsów elektrycznych wytwarza się pory w błonach komórkowych, co zwiększa wydajność wnikania DNA do wnętrza komórek [9].

Najbardziej obiecującą z kilku testowanych szczepionek DNA wydaje się szczepionka ChronVac-C firmy Tripep. W szczepionce tej DNA plazmidowy niosący geny NS3/4A wirusa HCV jest wprowadzany przez elektroporację. Przeprowadzono próby pierwszej i drugiej fazy u osób przewlekle zakażonych, pierwsze wyniki wskazały na redukcję wirerii i odpowiedź limfocytów T u części pacjentów [75].

• Szczepionki wektorowe

Zastosowanie wektorów wirusowych do szczepień jest nowym podejściem w wakcynologii. W testach przedklinicznych szczepionek anty-HCV na zwierzętach wykorzystano wektory oparte na adenowirusach, wirusie odry, pokswirusach, alfawirusach czy zmodyfikowanym wirusie krowianki (modified vaccinia virus Ankara – MVA) [2,15,50,73]. W próbach klinicznych przetestowano wektory szczepionkowe oparte na adenowirusach i wirusie MVA.

Wirus MVA to osłabiony szczep wirusa krowianki, należącego do pokswirusów. Wektory MVA wywołują silną odpowiedź immunologiczną i nie replikują się w komórkach gospodarza. Bezpieczeństwo stosowania wektorów MVA zostało wielokrotnie potwierdzone, także u pacjentów z supresją immunologiczną.

Szczepionka terapeutyczna TG4040 koncernu Transgene zawiera wektor MVA niosący geny niestrukturalne wirusa HCV NS3/4/5B. Szczepionka została przetestowana w badaniach pierwszej fazy, a obecnie trwają badania drugiej fazy, w których jest stosowana razem z terapią standardową [29].

Wektory adenowirusowe są oparte na adenowirusach – wirusach powodujących łagodne infekcje układu oddechowego i pokarmowego. Do celów szczepionkowych używa się wirusów pozbawionych genów odpowiedzialnych za replikację, które nie namnażają się w komórkach gospodarza [95]. Adenowirusy powszechnie infekują ludzi i z tego względu większość populacji ludzkiej posiada przeciwciała skierowane przeciwko białkom adenowirusowym, które mogą osłabić wydajność szczepienia wektorem. Można temu zapobiec przez stosowanie rzadkich serotypów adenowirusów lub adenowirusów pochodzących z innych gatunków, np. szympansov [14].

Firma Okairos testuje w próbach klinicznych szczepionkę składającą się z wektora opartego na rzadko występującym adenowirusie ludzkim oraz wektora opartego na adenowirusie szympansim. Oba wektory niosą geny NS3-5B wirusa HCV i są podawane jako szczepienie typu „prime-boost”, w którym po szczepieniu jednym typem adenowirusa następuje doszczepienie następnym. Użycie dwóch różnych wektorów zapobiega powstaniu przy pierwszym szczepieniu odpowiedzi mogącej neutralizować wektor po podaniu kolejnej dawki. Szczepionka adenowirusowa została przetestowana na zdrowych ochotnikach, wykazując bezpieczeństwo i immunogenność [5]. Obecnie testowa-

na jest na przewlekle chorych, a także na dużej grupie osób o podwyższonym ryzyku infekcji. Testowane są także szczepienia łączące podanie wektora adenowirusowego i wektora MVA zawierających niestrukturalne geny HCV.

Szczepienie wektorami adenowirusowymi z genami E1E2 oraz rekombinowanym białkiem E1/E2 (Chiron) wzbudziło silną i neutralizującą odpowiedź anty-HCV w badaniach na gryzoniach i jest obecnie testowane na makakach [1]. Sugeruje się, że połączenie szczepień wzbudzających silną odpowiedź komórkową wobec białek niestrukturalnych i białek osłonkowych, a także odpowiedź neutralizacyjną mogłoby umożliwić optymalną ochronę organizmu.

PODSUMOWANIE

Wprowadzenie na rynek dwóch inhibitorów proteazy serynowej NS3/4A – telapreviru i bocepreviru w istotny sposób zwiększyło SVR u pacjentów zainfekowanych genotypem 1 HCV. Obecna terapia z zastosowaniem DAAs ma kilka ograniczeń, co sprawia, że poszukuje się leków, które mogłyby poprawić skuteczność tradycyjnego leczenia. Wiele nowych związków znajduje się obecnie w różnych fazach badań klinicznych w wielu kombinacjach; zarówno w połączeniu jak i bez interferonu lub rybawiryny. Uważa się, że skuteczna, uniwersalna, dobrze tolerowana, doustna metoda leczenia wirusowego zapalenia wątroby typu C będzie dostępna dopiero w przeciągu 5-10 lat.

Niestety, wiadomo, że nowa antywirusowa terapia nie będzie dostępna dla wszystkich zakażonych na świecie osób z powodu wysokich kosztów (tab. 3) oraz braku dostępności do świadczeń opieki zdrowotnej głównie w krajach Trzeciego Świata.

Z tego powodu konieczne jest opracowanie skutecznej szczepionki profilaktycznej, która zmniejszyłaby ryzyko nowych zachorowań lub terapeutycznej, która zmniejszyłaby koszty i uciążliwość terapii.

PIŚMIENICTWO

[1] Abdo A.A., Al-Ahdal M.N., Khalid S.S., Helmy A., Sanai F.M., Alswat K., Al-Hamoudi W., Ali S.M., Al-Ashgar H.I., Al-Mdani A., Albenmoussa A., Al Faleh F.Z., Al-Anazi M., Khalaf N., Al-Qahtani A.: IL28B polymorphisms predict the virological response to standard therapy in patients with chronic hepatitis C virus genotype 4 infection. *Hepatology*, 2013; 7: 533-538

[2] Abraham J.D., Himoudi N., Kien F., Berland J.L., Codran A., Bartosch B., Baumert T., Paranhos-Baccala G., Schuster C., Inchauspé G., Kieny M.P.: Comparative immunogenicity analysis of modified vaccinia Ankara vectors expressing native or modified forms of hepatitis C virus E1 and E2 glycoproteins. *Vaccine*, 2004; 22: 3917-3928

[3] Aerssens J., Fanning G., Scholliers A., Lenz O., Peeters M., De Smedt G., Fried M.: Impact of IL28B genotype and pretreatment serum IP-10 in treatment-naïve genotype-1 HCV patients treated with TMC435 in combination with peginterferon α -2A and ribavirin in PILLAR Study. *J. Hepatol.*, 2011; 54 (Suppl. 1): S5-S6

[4] Bacon B.R., Gordon S.C., Lawitz E., Marcellin P., Vierling J.M., Zeuzem S., Poordad F., Goodman Z.D., Sings H.L., Boparai N., Burroughs

M., Brass C.A., Albrecht J.K., Esteban R., for the HCV RESPOND-2 Investigators: Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 1207-1217

[5] Barnes E., Folgori A., Capone S., Swadling L., Aston S., Kurioka A., Meyer J., Huddart R., Smith K., Townsend R., Brown A., Antrabus R., Ammendola V., Naddeo M., O'Hara G. i wsp.: Novel adenovirus-based vaccines induce broad and sustained T cell responses to HCV in man. *Sci. Transl. Med.*, 2012; 4: 115ra1

[6] Benito J.M., Sánchez-Parra C., Maida I., Aguilera A., Rallón N.I., Rick F., Labarga P., Fernández-Montero J.V., Barreiro P., Soriano V.: Triple combination therapy for hepatitis C with telaprevir exhibits greater early antiviral activity than with boceprevir. *Antivir. Ther.*, 2013; 18: 709-715

[7] Brainard D.M., Perty A., van Dyck K., Nachbar R.B., de Lepeleire I.M., Caro L., Stone J.A., Sun P., Uhle M., Wagner F.D., O'Mara E., Wagner J.A.: Safety and antiviral activity of MK-5172, a novel HCV NS3/4A protease inhibitor with potent activity against known resistance mutants, in genotype 1 and 3 HCV-infected patients. *Hepatology*, 2010; 52 (Suppl.): 706A-707A

- [8] Bunchorntavakul C., Chavalitdhamrong D., Tanwandee T.: Hepatitis C genotype 6: A concise review an response-guided therapy proposal. *World J. Hepatol.*, 2013; 5: 496-504
- [9] Capone S., Zampaglione I., Vitelli A., Pezzanera M., Kierstead L., Burns J., Ruggeri L., Arcuri M., Cappelletti M., Meola A., Ercole B.B., Tafi R., Santini C., Luzzago A., Fu T.M. i wsp.: Modulation of the immune response induced by gene electrotransfer of a hepatitis C virus DNA vaccine in nonhuman primates. *J. Immunol.*, 2006; 177: 7462-7471
- [10] Chmielewska A.M., Naddeo M., Capone S., Ammendola V., Hu K., Meredith L., Verhoye L., Rychlowska M., Rappuoli R., Ulmer J.B., Colloca S., Nicosia A., Cortese R., Leroux-Roels G., Balfe P. i wsp.: Combined adenovirus vector and hepatitis C virus envelope protein prime-boost regimen elicits T cell and neutralizing antibody immune responses. *J. Virol.*, 2014; 88: 5502-5510
- [11] Ciesek S., Steinmann E., Wedemeyer H., Manns M.P., Neyts J., Tautz N., Madan V., Bartenschlager R., von Hahn T., Pietschmann T.: Cyclosporine A inhibits hepatitis C virus nonstructural protein 2 through cyclophilin A. *Hepatology*, 2009; 50: 1638-1645
- [12] Coelmont L., Hanoulle X., Chatterji U., Berger C., Snoeck J., Bobardt M., Lim P., Vlieghe L., Paeshuysse J., Vuagniaux G., Vandamme A.M., Bartenschlager R., Gallay P., Lippens G., Neyts J.: DEB025 (Alisporivir) inhibits hepatitis C virus replication by preventing a cyclophilin A induced cis-trans isomerisation in domain II of NS5A. *PLoS One*, 2010; 5: e13687
- [13] Collins S., Swan T.: EASL 2014: summary of interferon-free HCV studies with new DAAs. *HIV Treatment Bulletin*. <http://i-base.info/htb/25055>
- [14] Colloca S., Barnes E., Folgori A., Ammendola V., Capone S., Cirillo A., Siani L., Naddeo M., Grazioli F., Esposito M.L., Ambrosio M., Sparacino A., Bartiromo M., Meola A., Smith K. i wsp.: Vaccine vectors derived from a large collection of simian adenoviruses induce potent cellular immunity across multiple species. *Sci. Transl. Med.*, 2012; 4: 115ra2
- [15] Deng Y., Zhang K., Tan W., Wang Y., Chen H., Wu X., Ruan L.: A recombinant DNA and vaccinia virus prime-boost regimen induces potent long-term T-cell responses to HCV in BALB/c mice. *Vaccine*, 2009; 27: 2085-2088
- [16] Dieterich D., Rockstroh J.K., Orkin C., Gutierrez F., Klein M.B., Reynes J., Tambuyzer L., Peeters M., Jenkins A., De La Rosa G., Jesner W.: Simeprevir (TMC435) plus pegIFN/ribavirin in HCV genotype-1/HIV-1 coinfection (study C212). Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI) 2014. March 3-6, 2014. Boston. Abstract 24
- [17] Dubuisson J.: Hepatitis C virus proteins. *World J. Gastroenterol.*, 2007; 13: 2406-2415
- [18] Feld J.J., Hoofnagle J.H.: Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C. *Nature*, 2005; 436: 967-972
- [19] Flisiak R., Horban A., Gallay P., Bobardt M., Selvarajah S., Wiercinska-Drapalo A., Siwak E., Cielniak I., Higersberger J., Kierkus J., Aeschlimann C., Grosgrin P., Nicolas-Métral V., Dumont J.M., Porchet H. 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: 817-826
- [20] Folgori A., Spada E., Pezzanera M., Ruggeri L., Mele A., Garbuglia A.R., Perrone M.P., Del Porto P., Piccolella E., Cortese R., Nicosia A., Vitelli A., Acute Hepatitis C Italian Study Group: Early impairment of hepatitis C virus specific T cell proliferation during acute infection leads to failure of viral clearance. *Gut*, 2006; 55: 1012-1019
- [21] Franciscus A.: Hepatitis C treatments in current clinical development (updated 11.06.2014). http://www.hcvadvocate.org/hepatitis/hepC/Quick_Ref_Guide.pdf
- [22] Fried M.W., Buti M., Dore G.J., Flisiak R., Ferenci P., Jacobson I., Marcellin P., Manns M., Nikitin I., Poordad F., Sherman M., Zeuzem S., Scott J., Gilles L., Lenz O. i wsp.: Once-daily simeprevir (TMC435) with pegylated interferon and ribavirin in treatment-naïve genotype 1 hepatitis C: the randomized PILLAR study. *Hepatology*, 2013; 58: 1918-1929
- [23] Gane E.J., Stedman C.A., Hyland R.H., Ding X., Svarovskaia E., Symonds W.T., Hindes R.G., Berrey, M.M.: Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 368: 34-44
- [24] Gao M., Nettles R.E., Belema M., Snyder L.B., Nguyen V.N., Friedell R.A., Serrano-Wu M.H., Langley D.R., Sun J.H., O'Boyle D.R.2nd, Lemm J.A., Wang C., Knipe J.O., Chien C., Colonna R.J. i wsp.: Chemical genetics strategy identifies an HCV NS5A inhibitor with a potent clinical effect. *Nature*, 2010; 465: 96-100
- [25] Ge D., Fellay J., Thompson A.J., Simon J.S., Shianna K.V., Urban T.J., Heinzen E.L., Qiu P., Bertelsen A.H., Muir A.J., Sulkowski M., McHutchison J.G., Goldstein D.B.: Genetic variation in *IL28B* predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*, 2009; 461: 399-401
- [26] Ghany M.G., Nelson D.R., Strader D.B., Thomas D.L., Seeff L.B.: An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 2011; 54: 1433-1444
- [27] Godzik P., Kołakowska A., Madaliński K., Stępień M., Zieliński A., Góralewska A., Kazimierska M., Kunc-Kozioł R., Nadolska B., Pawłowska A., Piskorek A., Równiak J., Rosińska M.: Rozpowszechnienie przeciwciał any-HCV wśród osób dorosłych w Polsce – wyniki badania przekrojowego w populacji ogólnej. *Przegl. Epidemiol.*, 2012; 66: 575-580
- [28] Grebely J., Feld J.J., Applegate T., Matthews G.V., Hellard M., Sherker A., Petoumenos K., Zang G., Shaw I., Yeung B., George J., Teutsch S., Kaldor J.M., Cherepanov V., Bruneau J. i wsp.: Plasma interferon-gamma-inducible protein-10 (IP-10) levels during acute hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 2013; 57: 2124-2134
- [29] Habersetzer F., Honnet G., Bain C., Maynard-Muet M., Leroy V., Zarski J.P., Feray C., Baumert T.F., Bronowicki J.P., Doffoël M., Trépo C., Agathon D., Toh M.L., Baudin M., Bonnefoy J.Y. i wsp.: A poxvirus vaccine is safe, induces T-cell responses, and decreases viral load in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 2011; 141: 890-899
- [30] Hadziyannis S.J., Sette H., Morgan T.R., Balan V., Diago M., Marcellin P., Ramadori G., Bodenheimer H.Jr., Bernstein D., Rizzetto M., Zeuzem S., Pockros P.J., Lin A., Ackrill A.M., PEGASYS International Study Group: Peginterferon-a2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann. Intern. Med.*, 2004; 140: 346-355
- [31] Halfon P., Locarnini S.: Hepatitis C virus resistance to protease inhibitors. *J. Hepatol.*, 2011; 55: 192-206
- [32] Halota W., Flisiak R., Boroń-Kaczmarska A., Juszczyk J., Cianciara J., Pawłowska M., Simon K., Małkowski P.: Standardy leczenia wirusowych zapaleń wątroby typu C. Rekomendacje Polskiej Grupy Ekspertów HCV-2011. *Przegl. Epidemiol.*, 2012; 66: 83-88
- [33] Herbst D.A.Jr., Reddy K.R.: Sofosbuvir, a nucleotide polymerase inhibitor, for the treatment of chronic hepatitis C virus infection. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2013; 22: 527-536
- [34] Hsu M., Zhang J., Flint M., Logvinoff C., Cheng-Mayer C., Rice C.M., McKeating J.A.: Hepatitis C virus glycoproteins mediate pH-dependent cell entry of pseudotyped retroviral particles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 7271-7276
- [35] Ip P.P., Nijman H.W., Wilschut J., Daemen T.: Therapeutic vaccination against chronic hepatitis C virus infection. *Antiviral Res.*, 2012; 96: 36-50
- [36] Jacobson I.M., Dore G.J., Foster G.R., Fried M.W., Radu M., Rafalsky V.V., Moroz L., Craxi A., Peeters M., Lenz O., Ouwkerk-Mahadevan S., De La Rosa G., Kalmeijer R., Scott J., Sinha R., Beumont-Mauviel M.: Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a plus ribavirin

in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-1): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2014; 384: 403-413

[37] Jacobson I.M., Gordon S.C., Kowdley K.V., Yoshida E.M., Rodriguez-Torres M., Sulkowski M.S., Shiffman M.L., Lawitz E., Everson G., Bennett M., Schiff E., Al-Assi M.T., Subramanian G.M., An D., Lin M. i wsp.: Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 368: 1867-1877

[38] Jacobson I.M., Marcellin P., Zeuzem S., Sulkowski M.S., Esteban R., Poordad F., Bruno S., Burroughs M.H., Pedicone L.D., Boparai N., Deng W., DiNubile M.J., Gottesdiener K.M., Brass C.A., Albrecht J.K. i wsp.: Refinement of stopping rules during treatment of hepatitis C genotype 1 infection with boceprevir and peginterferon/ribavirin. *Hepatology*, 2012; 56: 567-575

[39] Jacobson I.M., McHutchison J.G., Dusheiko G., Di Bisceglie A.M., Reddy K.R., Bzowej N.H., Marcellin P., Muir A.J., Ferenci P., Flisiak R., George J., Rizzetto M., Shouval D., Sola R., Terg R.A. i wsp.: Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 2405-2416

[40] Janssen H.L., Reesink H.W., Lawitz E.J., Zeuzem S., Rodriguez-Torres M., Patel K., van der Meer A.J., Patick A.K., Chen A., Zhou Y., Persson R., King B.D., Kauppinen S., Levin A.A., Hodges M.R.: Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 368: 1685-1694

[41] Jopling C.L., Schutz S., Sarnow P.: Position-dependent function for a tandem microRNA miR-122-binding site located in the hepatitis C virus RNA genome. *Cell Host Microbe*, 2008; 4: 77-85

[42] King L.Y., Chung R.T.: IL28B testing in a rapidly changing world: Still relevant? *J. Hepatol.*, 2013; 58: 847-849

[43] Kwo P.Y.: Boceprevir: a novel nonstructural 3 (NS3) protease inhibitor for the treatment of chronic hepatitis C infection. *Therap. Adv. Gastroenterol.*, 2012; 5: 179-188

[44] Lagging M., Askarieh G., Negro F., Bibert S., Soderholm J., Westin J., Lindh M., Romero A., Missale G., Ferrari C., Neumann A.U., Pawlowsky J.M., Haagmans B.L., Zeuzem S., Bochud P.Y. i wsp.: Response prediction in chronic hepatitis C by assessment of IP-10 and IL28B-related single nucleotide polymorphisms. *PLoS One*, 2011; 6: e17232

[45] Lam K.D., Trinh H.N., Do S.T., Nguyen T.T., Garcia R.T., Nguyen T., Phan Q.Q., Nguyen H.A., Nguyen K.K., Nguyen L.H., Nguyen M.H.: Randomized controlled trial of pegylated interferon-alfa 2a and ribavirin in treatment-naïve chronic hepatitis C genotype 6. *Hepatology*, 2010; 52: 1573-1580

[46] Law M., Maruyama T., Lewis J., Giang E., Tarr A.W., Stamatakis Z., Gastaminza P., Chisari F.V., Jones I.M., Fox R.L., Ball J.K., McKeating J.A., Kneteman N.M., Burton D.R.: Broadly neutralizing antibodies protect against hepatitis C virus quasispecies challenge. *Nat. Med.*, 2008; 14: 25-27

[47] Lawitz E., Mangia A., Wyles D., Rodriguez-Torres M., Hassanein T., Gordon S.C., Schultz M., Davis M.N., Kayali Z., Reddy K.R., Jacobson I.M., Kowdley K.V., Nyberg L., Subramanian G.M., Hyland R.H. i wsp.: Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 368: 1878-1887

[48] Le Guillou-Guillemette H., Vallet S., Gaudy-Graffin C., Payan C., Pivert A., Goudeau A., Lunel-Fabiani F.: Genetic diversity of the hepatitis C virus: impact and issues in the antiviral therapy. *World J. Gastroenterol.*, 2007; 13: 2416-2426

[49] Liang T.J., Ghany M.G.: Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 368: 1907-1917

[50] Lin Y., Kwon T., Polo J., Zhu Y.F., Coates S., Crawford K., Dong C., Winger M., Hall J., Selby M., Coit D., Medina-Selby A., McCain C., Ng P., Drane D. i wsp.: Induction of broad CD4+ and CD8+ T-cell responses and cross-neutralizing antibodies against hepatitis C virus by vaccination with Th1-adjuvanted polypeptides followed by defective alpha-viral particles expressing envelope glycoproteins gpE1 and gpE2

and nonstructural proteins 3, 4, and 5. *J. Virol.*, 2008; 82: 7492-7503

[51] Lindow M., Kauppinen S.: Discovering the first microRNA-targeted drug. *J. Cell Biol.*, 2012; 199: 407-412

[52] Maekawa S., Enomoto N.: Viral factors influencing the response to the combination therapy of peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol.*, 2009; 44: 1009-1015

[53] Mangia A., Thompson A.J., Santoro R., Piazzolla V., Tillmann H.L., Patel K., Shianna K.V., Mottola L., Petruzzellis D., Bacca D., Carretta V., Minerva N., Goldstein D.B., McHutchison J.G.: An *IL28B* polymorphism determines treatment response of hepatitis C virus genotype 2 or 3 patients who do not achieve a rapid virologic response. *Gastroenterology*, 2010; 139: 821-827

[54] Manns M., Marcellin P., Poordad F., de Araujo E.S., Buti M., Horskans Y., Janczewska E., Villamil F., Scott J., Peeters M., Lenz O., Ouwerkerk-Mahadevan S., De La Rosa G., Kalmeijer R., Sinha R., Beumont-Mauviel M.: Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2014; 384: 414-426

[55] Marcellin P., Gish R.G., Gitlin N., Heise J., Halliman D.G., Chun E., Rodriguez-Torres M.: Safety and efficacy of virmidine versus ribavirin in ViSER2: randomized, double-blind study in therapy-naïve hepatitis C patients. *J. Hepatol.* 2010; 52: 32-38

[56] Martell M., Esteban J.L., Quer J., Genesca J., Weiner A., Esteban R., Guardia J., Gómez J.: Hepatitis C virus (HCV) circulates as a population of different but closely related genomes: quasispecies nature of HCV genome distribution. *J. Virol.*, 1992; 66: 3225-3229

[57] McHutchison J.G., Manns M.P., Muir A.J., Terrault N.A., Jacobson I.M., Afdhal N.H., Heathcote E.J., Zeuzem S., Reesink H.W., Garg J., Bsharat M., George S., Kauffman R.S., Adda N., Di Bisceglie A.M. for the PROVE3 Study Team: Telaprevir for previously treated chronic HCV infection. *N. Engl. J. Med.*, 2010; 362: 1292-1303

[58] Meuleman P., Bukh J., Verhoye L., Farhoudi A., Vanwolleghem T., Wang R.Y., Desombere I., Alter H., Purcell R.H., Leroux-Roels G.: *In vivo* evaluation of the cross-genotype neutralizing activity of polyclonal antibodies against hepatitis C virus. *Hepatology*, 2011; 53: 755-762

[59] Meunier J.C., Gottwein J.M., Houghton M., Russell R.S., Emerson S.U., Bukh J., Purcell R.H.: Vaccine-induced cross-genotype reactive neutralizing antibodies against hepatitis C virus. *J. Infect. Dis.*, 2011; 204: 1186-1190

[60] Muir A.J., Arora S., Everson G., Flisiak R., George J., Ghalib R., Gordon S.C., Gray T., Greenbloom S., Hassanein T., Hillson J., Horga M.A., Jacobson I.M., Jeffers L., i wsp.: A randomized phase 2b study of peginterferon lambda-1a for the treatment of chronic HCV infection. *J. Hepatol.*, 2014; 61: 1238-1246

[61] Nakamoto S., Kanda T., Wu S., Shirasawa H., Yokosuka O.: Hepatitis C virus NS5A inhibitors and drug resistance mutations. *World J. Gastroenterol.*, 2014; 20: 2902-2912

[62] Paeshuyse J., Dallmeier K., Neyts J.: Ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C virus infection: a review of the proposed mechanisms of action. *Curr. Opin. Virol.*, 2011; 1: 590-598

[63] Patel H., Heathcote E.J.: Sustained virological response with 29 days of Debio 025 monotherapy in hepatitis C virus genotype 3. *Gut*, 2011; 60: 879

[64] Pawlowsky J.M.: Treatment failure and resistance with direct-acting antiviral drugs against hepatitis C virus. *Hepatology*, 2011; 53: 1742-1751

[65] Pawlowsky J.M.: Treatment of chronic hepatitis C: current and future. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2013; 369: 321-342

[66] Pawlowsky J.M.: Treatment of hepatitis C: how will we use viral kinetics, response-guided therapy? *Curr. Gastroenterol. Rep.*, 2013; 15: 309

- [67] Pestka J.M., Zeisel M.B., Bläser E., Schürmann P., Bartosch B., Cosset F.L., Patel A.H., Meisel H., Baumert J., Viazov S., Rispeter K., Blum H.E., Roggendorf M., Baumert T.F.: Rapid induction of virus-neutralizing antibodies and viral clearance in a single-source outbreak of hepatitis C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 6025-6030
- [68] Pham V.H., Nguyen H.D., Ho P.T., Banh D.V., Pham H.L., Pham P.H., Lu L., Abe K.: Very high prevalence of hepatitis C virus genotype 6 variants in southern Vietnam: large-scale survey based on sequence determination. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 2011; 64: 537-539
- [69] Pockros P., Jacobson I., Boyer T.D., Schiff E.R., Everson G.T., Lee W.M., Vierling J.M., Lawitz E., Kugelmas M., Tsai N., Shiffman M.L., Brown R.S., Armstrong B.R., Mattson A., Rodell T.C. i wsp.: GI-5005 Therapeutic vaccine plus peg-IFN/ribavirin improves sustained virologic response versus peg-IFN/ribavirin in prior non-responders with genotype 1 chronic HCV Infection. *Hepatology*, 2010; 52: 404A-405A
- [70] Poordad F., McCone J.Jr., Bacon B.R., Bruno S., Manns M.P., Sulkowski M.S., Jacobson I.M., Reddy K.R., Goodman Z.D., Boparai N., DiNubile M.J., Sniukiene V., Brass C.A., Albrecht J.K., Bronowicki J.P., for the SPRINT-2 Investigators: Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 1195-1206
- [71] Poveda E., Wyles D.L., Mena A., Pedreira J.D., Castro-Iglesias A., Cachay E.: Update on hepatitis C virus resistance to direct-acting antiviral agents. *Antiviral Res.*, 2014; 108: 181-191
- [72] Ray R., Meyer K., Banerjee A., Basu A., Coates S., Abrignani S., Houghton M., Frey S.E., Belshe R.B.: Characterization of antibodies induced by vaccination with hepatitis C virus envelope glycoproteins. *J. Infect. Dis.*, 2010; 202: 862-866
- [73] Reyes-del Valle J., de la Fuente C., Turner M.A., Springfield C., Apte-Sengupta S., Frenzke M.E., Forest A., Whidby J., Marcotrigiano J., Rice C.M., Cattaneo R.: Broadly neutralizing immune responses against hepatitis C virus induced by vectored measles viruses and a recombinant envelope protein booster. *J. Virol.*, 2012; 86: 11558-11566
- [74] Roberts S.S., Miller R.K., Jones J.K., Lindsay K.L., Greene M.F., Maddrey W.C., Williams I.T., Liu J., Spiegel R.J.: The ribavirin pregnancy registry: findings after 5 years of enrollment, 2003-2009. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.*, 2010; 88: 551-559
- [75] Roohvand F., Kossari N.: Advances in hepatitis C virus vaccines, part two: advances in hepatitis C virus vaccine formulations and modalities. *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2012; 22: 391-415
- [76] Sarasin-Filipowicz M.: Interferon therapy of hepatitis C: molecular insights into success and failure. *Swiss Med. Wkly.*, 2010; 140: 3-11
- [77] Sarrazin C., Kieffer T.L., Bartels D., Hanzelka B., Müh U., Welker M., Winchering D., Zhou Y., Chu H.M., Lin C., Weegink C., Reesink H., Zeuzem S., Kwong A.D.: Dynamic hepatitis C virus genotypic and phenotypic changes in patients treated with the protease inhibitor telaprevir. *Gastroenterology*, 2007; 132: 1767-1777
- [78] Sarrazin C., Susser S., Doehring A., Lange C.M., Müller T., Schleckner C., Herrmann E., Lötsch J., Berg T.: Importance of *IL28B* gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients. *J. Hepatol.*, 2011; 54: 415-421
- [79] Sherman K.E.: Advanced liver disease: what every hepatitis C virus treater should know. *Top. Antivir. Med.*, 2011; 19: 121-125
- [80] Sherman K.E., Flamm S.L., Afdhal N.H., Nelson D.R., Sulkowski M.S., Everson G.T., Fried M.W., Adler M., Reesink H.W., Martin M., Sankoh A.J., Adda N., Kauffman R.S., George S., Wright C.I. i wsp.: Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 365: 1014-1024
- [81] Shi C., Ploss A.: Hepatitis C virus vaccines in the era of new direct-acting antivirals. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2013; 7: 171-185
- [82] Shiffman M.L.: What future for ribavirin? *Liver Int.*, 2009; 29 (Suppl. 1): 68-73
- [83] Shiffman M.L., Suter F., Bacon B.R., Nelson D., Harley H., Solá R., Shafran S.D., Barange K., Lin A., Soman A., Zeuzem S. for the ACCELERATE Investigators: Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N. Engl. J. Med.*, 2007; 357: 124-134
- [84] Shin E.C., Seifert U., Kato T., Rice C.M., Feinstone S.M., Kloetzl P.M., Rehmann B.: Virus-induced type I IFN stimulates generation of immunoproteasomes at the site of infection. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 3006-3014
- [85] Smith D.B., Bukh J., Kuiken C., Muerhoff A.S., Rice C.M., Stapleton J.T., Simmonds P.: Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*, 2014; 59: 318-327
- [86] Smyk-Pearson S., Tester I.A., Lezotte D., Sasaki A.W., Lewinsohn D.M., Rosen H.R.: Differential antigenic hierarchy associated with spontaneous recovery from hepatitis C virus infection: implications for vaccine design. *J. Infect. Dis.*, 2006; 194: 454-463
- [87] Spada E., Mele A., Berton A., Ruggeri L., Ferrigno L., Garbuglia A.R., Perrone M.P., Girelli G., Del Porto P., Piccolella E., Mondelli M.U., Amoroso P., Cortese R., Nicosia A., Vitelli A. i wsp.: Multispecific T cell response and negative HCV RNA tests during acute HCV infection are early prognostic factors of spontaneous clearance. *Gut*, 2004; 53: 1673-1681
- [88] Stamatakis Z., Coates S., Abrignani S., Houghton M., McKeating J.A.: Immunization of human volunteers with hepatitis C virus envelope glycoproteins elicits antibodies that cross-neutralize heterologous virus strains. *J. Infect. Dis.*, 2011; 204: 811-813
- [89] Stamatakis Z., Coates S., Evans M.J., Wininger M., Crawford K., Dong C., Fong Y.L., Chien D., Abrignani S., Balfe P., Rice C.M., McKeating J.A., Houghton M.: Hepatitis C virus envelope glycoprotein immunization of rodents elicits cross-reactive neutralizing antibodies. *Vaccine*, 2007; 25: 7773-7784
- [90] Suppiah V., Moldovan M., Ahlenstiel G., Berg T., Weltman M., Abate M.L., Bassendine M., Spengler U., Dore G.J., Powell E., Rordan S., Sheridan D., Smedile A., Fragomeli V., Müller T. i wsp.: *IL28B* is associated with response to chronic hepatitis C interferon- α and ribavirin therapy. *Nat. Genet.*, 2009; 41: 1100-1104
- [91] Susser S., Welsch C., Wang Y., Zettler M., Domingues F.S., Karey U., Hughes E., Ralston R., Tong X., Herrmann E., Zeuzem S., Sarrazin C.: Characterization of resistance to the protease inhibitor boceprevir in hepatitis C virus-infected patients. *Hepatology*, 2009; 50: 1709-1718
- [92] Tanaka Y., Nishida N., Sugiyama M., Kurosaki M., Matsuura K., Sakamoto N., Nakagawa M., Korenaga M., Hino K., Hige S., Ito Y., Mita E., Tanaka E., Mochida S., Murawaki Y. i wsp.: Genome-wide association of *IL28B* with response to pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat. Genet.*, 2009; 41: 1105-1109
- [93] Tangkijvanich P., Komolmit P., Mahachai V., Poovorawan K., Akkarathamrongsin S., Poovorawan Y.: Response-guided therapy for patients with hepatitis C virus genotype 6 infection: a pilot study. *J. Viral Hepat.*, 2012; 19: 423-430
- [94] Tarr A.W., Owsianka A.M., Timms J.M., McClure C.P., Brown R.J., Hickling T.P., Pietschmann T., Bartenschlager R., Patel A.H., Ball J.K.: Characterization of the hepatitis C virus E2 epitope defined by the broadly neutralizing monoclonal antibody AP33. *Hepatology*, 2006; 43: 592-601
- [95] Tatsis N., Ertl H.C.: Adenoviruses as vaccine vectors. *Mol. Ther.*, 2004; 10: 616-629
- [96] Thomas D.L.: Predicting the response to the treatment of hepatitis C virus infection. *Clin. Liv. Dis.*, 2012; 1: 46-48
- [97] Thomas D.L., Thio C.L., Martin M.P., Qi Y., Ge D., O'Huigin C., Kidd J., Kidd K., Khakoo S.I., Alexander G., Goedert J.J., Kirk G.D., Donfield S.M., Rosen H.R., Tobler L.H. i wsp.: Genetic variation in *IL28B* and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*, 2009; 461: 798-801

[98] Voisset C., Dubuisson J.: Functional hepatitis C virus envelope glycoproteins. *Biol. Cell*, 2004; 96: 413-420

[99] Zeuzem S., Andreone P., Pol S., Lawitz E., Diago M., Roberts S., Focaccia R., Younossi Z., Foster G.R., Horban A., Ferenci P., Nevens F., Mullhaupt B., Pockros P., Terg R. i wsp.: Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 2417-2428

[100] Zeuzem S., Berg T., Gane E., Ferenci P., Foster G.R., Fried M.W., Hezode C., Hirschfield G.M., Jacobson I., Nikitin I., Pockros P., Poorad F., Lenz O., Peeters M., Sekar V. i wsp.: TMC435 in HCV genotype 1 patients who have failed previous pegylated interferon/ribavirin treatment: final SVR24 results of the ASPIRE TRIAL. *J. Hepatol.*, 2012; 56 (Suppl. 2): S1-S2

[101] Zeuzem S., Berg T., Gane E., Ferenci P., Foster G.R., Fried M.W., Hezode C., Hirschfield G.M., Jacobson I., Nikitin I., Pockros P.J., Poorad F., Scott J., Lenz O. i wsp.: Simeprevir increases rate of sustained virologic response among treatment-experienced patients with HCV genotype-1 infection: a phase IIb trial. *Gastroenterology*, 2014; 146: 430-441

[102] Zeuzem S., Dusheiko G.M., Salupere R., Mangia A., Flisiak R., Hyland R.H., Illeperuma A., Svarovskaia E., Brainard D.M., Symonds W.T., Subramanian G.M., McHutchison J.G., Weiland O., Reesink H.W., Ferenci P. i wsp.: Sofosbuvir and ribavirin in HCV genotypes 2 and 3. *N. Engl. J. Med.*, 2014; 370: 1993-2001

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.