

*Krzysztof Simon, Aleksandra Szymczak*

## WIRUSOLOGIA MOLEKULARNA A LECZENIE PRZEWLEKŁYCH ZAPALEŃ WĄTROBY TYPU C

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów  
Odpornościowych Akademii Medycznej we Wrocławiu  
Kierownik: Andrzej Gładysz

*W pracy omówiono współczesne metody leczenia zakażeń HCV. Opierając się na postępkach i osiągnięciach biologii molekularnej nad budową i funkcją poszczególnych białek HCV, jak i procesami replikami tego wirusa, przedstawiono również prawdopodobne przyszłe możliwości terapeutyczne.*

*Słowa kluczowe: HCV, struktura molekularna HCV, leczenie przewlekłego zapalenia wątroby typu C, interferon alfa, peginterferon alfa, rybawiryna,*

*Key words: HCV, molecular structure of HCV, management of hepatitis C, interferon alfa, peginterferon alfa, ribavirin*

### WSTĘP

Zakażenia innym, niż HBV i HAV, wirusem hepatotropowym, określane jako nie A nie B zapalenie wątroby znane były już wcześniej. W połowie lat 80-tych XX wieku, mimo braku identyfikacji wirusa, korzystając z doświadczeń w leczeniu pzw. t.B, nawet podjęto próby ich leczenia IFNalfa. Dopiero w 1989 po raz pierwszy zidentyfikowano i scharakteryzowano HCV (Houghton-Chiron Corp.) wykorzystując do tego wyłącznie techniki biologii molekularnej, ponieważ tradycyjne metody identyfikacyjne były nieskuteczne. Według raportów Państwowego Zakładu Higieny w Polsce w 2004 roku zapadalność na zakażenie HCV wyniosła 5,4/100 tys (1), co stanowi w wartościach bezwzględnych 2058 nowo wykrytych przypadków zakażonych tym wirusem. Wartości te niewątpliwie są niedoszacowane. Z wieloletnich obserwacji klinicznych wynika, że u około 70-80% zakażonych osób dochodzi do przejścia zakażenia w postać przewlekłą. Spośród tych pacjentów 20-30%, po 20-30 latach rozwija marskość wątroby, ze wszystkimi jej konsekwencjami, takimi jak niewydolność wątroby, nadciśnienie wrotne, pierwotny rak wątrobowokomórkowy (HCC). Znane są też liczne objawy pozawątrobowe zakażeń HCV. Rzeczywista liczba chorych na pzw t. C jest bardzo trudna do oceny ze względu na często skąpo- lub bezobjawowy przebieg kliniczny i, co z tym związane, niską wykrywalność; liczbę tę szacuje się w Polsce na około 700 tys., a w świecie na ok. 150 mln. (2).

Metody badań molekularnych nie tylko umożliwiły wykrycie HCV, ocenę organizacji genomu, podział na genotypy i „*quasispecies*” oraz poznanie sposobów i miejsca replika-

cji tego wirusa; stworzyły także podstawy racjonalnej diagnostyki serologicznej zakażenia HCV, stały się podstawą badań epidemiologicznych występowania poszczególnych genotypów HCV, a także ich filogenezy. Umożliwiły śledzenie przebiegu zakażenia i kinetyki replikacji, a także precyzyjną ocenę odpowiedzi na dotychczas stosowane leczenie. Stanowią też podstawę planowania przyszłych metod terapeutycznych.

### BUDOWA HCV

HCV jest małym jednoniciowym, RNA wirusem zaliczanym wg współczesnej klasyfikacji do rodzaju *Hepacivirus* z rodziny *Flaviviridae*. Z uwagi na brak efektywnego modelu hodowli, jego budowa morfologiczna, jak i funkcje poszczególnych elementów, nie zostały do chwili obecnej w pełni poznane. HCV występuje w 6 podstawowych genotypach i licznych quasispecies (i to u tej samej osoby), co wiąże się z brakiem funkcji sprawdzania błędów polimerazy RNA. Nić RNA (9,5 kb) zlokalizowana jest w nukleokapsydzie, otoczonym otoczką zawierającą dwa białka powierzchniowe E1 i E2 oraz lipidy. Szereg genów HCV odpowiada za syntezę licznych białek strukturalnych i niestrukturalnych, których tylko część ma poznane funkcje. Translacja prowadzi do powstania polipeptydu o długości 3000 aminokwasów, dzielonego przez proteazy komórkowe i wirusowe na następujące białka, idąc od końca N: białka rdzenia, białka otoczkowe E1 i E2, białko p7, i białka niestrukturalne NS2, NS3, NS4A/B i NS5A/B. Nowo wytworzony HCV RNA i białka niestrukturalne tworzą w cytoplazmie zakażonej komórki (głównie hepatocyt, ale może też być monocyt) kompleks rybonukleinowy, w którym następuje replikacja wirusa i ostateczne składanie jego cząsteczki (3).

**Białka strukturalne – charakterystyka.** Białko strukturalne C jest fosfoproteiną wiążącą RNA, z której prawdopodobnie złożony jest nukleokapsyd HCV. Białko to wpływa na procesy metaboliczne zakażonej komórki, wskazano też jego właściwości onkogenne.

Białka otoczki E1 i E2 będące glikoproteinami tworzą stabilny heterodimer. Przy N-końcu białka E2 znajduje się wysoce zróżnicowana struktura-region HVR1, który może odgrywać rolę w przewlekaniu się procesu zakażenia HCV.

Białko p7 od którego zaczynają się białka niestrukturalne, do chwili obecnej nie ma jasno określonej funkcji.

**Białka niestrukturalne – charakterystyka.** Białko NS2 ma właściwości metaloproteazy i proteazy cysteinowej. Od końca C wykazuje aktywność autokatalityczną/ enzymatyczną. Wpływa na kształtowanie miejsca wiązania białek NS2/NS3.

Białko NS3 ma dwie domeny wykazujące zróżnicowaną aktywność enzymatyczną. Od N-końca wykazuje aktywność proteazy serynowej uczestniczącej w autokatalitycznym podziale dużej poliproteiny NS3/NS5, a więc w procesie uwalniania własnej cząsteczki. Ponadto współdziałając i tworząc stabilny kompleks NS4A ułatwia wiązanie NS3 z białkami komórkowymi. Przy C-końcu wykazuje aktywność NPT-azy/helikazy niezbędnej do tworzenia w trakcie replikacji struktury drugorzędowej HCV.

Białko NS4A tworzy jak, wyżej zaznaczono, istotny czynnościowo kofaktor proteazy NS3/4A i uczestniczy w procesie fosforylacji białka NS5A.

Wyraźnie hydrofobowe białko NS4B jest słabo poznane. Przepuszcza się, że uczestniczy w procesie replikacji HCV. W ostatnich doniesieniach wykazano hamujący wpływ

NS4B na procesy translacji, modulowanie funkcji NS5B, wpływ na transformację komórkową, reorganizację błon śródkomórkowych, i tworzenie kompleksów replikacyjnych związanych z błonami komórkowymi. Dowiedziono też, że zawiera w swoim fragmencie istotny dla replikacji fragment łączący nukleotydy (ang. nucleotide binding motif-NBM).

Białko NS5A powstaje w wyniku kolejnych procesów fosforylacji (zależnej od NS4B) i występuje w dwóch formach różniących się masą cząsteczkową. Wykazano że białko to interferuje z systemem przekazywania sygnałów wewnątrzkomórkowych (funkcja transaktywacyjna) i równocześnie pełni funkcje inhibitora komórkowej kinezy białkowej, zależnej od RNA i stymulowanej przez interferon. W ten sposób może hamować mechanizmy obrony przeciwwirusowej; jest więc formą obrony HCV przeciwko mechanizmom obrony immunologicznej gospodarza. Okazuje się też, że białko to pełni kluczową funkcję w procesach replikacji RNA związanej z błonami śródkomórkowymi, wiążąc się w skomplikowany sposób z tymi błonami.

Białko NS5B wykazuje podobieństwo do innych RNA zależnych polimeraz RNA, ma jednak pewne swoje unikalne cechy. Obecność NS5B zaobserwowano w cytoplazmie otaczającej jądro komórkowe (3).

### CELE LECZENIA ZAKAŻEŃ HCV

Niezależnie od sposobu i metody terapii cel leczenia zakażenia HCV na obecnym poziomie wiedzy jest taki sam: eliminacja HCV RNA z surowicy i być może z tkanek (odpowiedź wirusologiczna – VR). Dzięki skutecznej terapii można osiągnąć zahamowanie, spowolnienie lub nawet regresję zapalenia i włóknienia wątroby (odpowiedź histologiczna – HR), normalizację biochemiczną procesu zapalnego (odpowiedź biochemiczna – BR), zmniejszenie ryzyka rozwoju HCC, poprawę jakości życia i ograniczenie zaraźliwości i szerzenia się zakażenia HCV. Zmniejszenie częstości występowania ciężkich powikłań pzwz t. C prowadzi do zwiększenia przeżywalności zakażonych osób (4).

### AKTUALNE MOŻLIWOŚCI LECZNICZE I ICH SKUTECZNOŚĆ – TZW. I GENERACJA LEKÓW

Obecnie dostępne są jedynie dwie grupy leków, i to stosowane dopiero od 1998 roku w terapii skojarzonej: interferon alfa i rybawiryna. Przydatne w leczeniu zakażenia HCV są następujące preparaty interferonu: rekombinowany IFN  $\alpha$ , pegylowany IFN  $\alpha$ , consensus IFN będący mieszaniną IFN  $\alpha$ , IFN  $\beta$  i IFN  $\gamma$ , oraz naturalny IFN  $\alpha$  z ludzkich leukocytów. Najbardziej rozpowszechnione w praktyce klinicznej jest stosowanie interferonów alfa, które mają działanie przeciwwirusowe, immunomodulujące, antyproliferacyjne i przeciw włóknieniowe. Indukują w komórce produkcję polipeptydów działających przeciwwirusowo oraz zwiększają odpowiedź immunologiczną przeciwko zainfekowanym komórkom (5). Rybawiryna jest syntetycznym analogiem nukleozydowym, wykazującym aktywność wobec wielu RNA- i DNA- wirusów. Dokładny mechanizm jej działania jest dotąd nie w pełni wyjaśniony. Prawdopodobnie hamuje ona produkcję GTP, niezbędnego do procesów translacji, transkrypcji i replikacji wirusowych kwasów nukleinowych, a także hamuje aktywność RNA-polimerazy wirusowej oraz wykazuje działanie immunomodulacyjne (6).

Obecnie najskuteczniejszą opcją terapeutyczną jest stosowanie interferonu pegylowanego w połączeniu z rybawiryną. Skuteczność tej terapii u optymalnie zakwalifikowanego pacjenta, przy dostosowaniu dawki rybawiryny i PEG IFN do wagi pacjenta, wynosi ok. 72%, biorąc pod uwagę wszystkie genotypy łącznie, natomiast w przypadku genotypu 1 skuteczność jest najniższa i wynosi 1-61%, a przy zakażeniu genotypem 2 lub 3 – 88% (7). W porównaniu z leczeniem zwykłym interferonem największe korzyści odnoszą pacjenci zakażeni genotypem 1 HCV (8,9). Tak więc wykazanie metodami molekularnymi zróżnicowania HCV na genotypy, jak i określenie liczby kopii HCV w surowicy krwi przed i po 12 tygodniach od rozpoczęcia terapii, umożliwiło ekonomiczną racjonalizację prowadzenia terapii.

Leczenie prowadzi się według schematu: PEG-IFN alfa + rybawiryna w dawce > 10,6 mg/kg cc, w zależności od genotypu HCV, przez 12 miesięcy (genotyp 1b – najczęstszy w Polsce, 4, 5 i 6) lub 6 miesięcy (genotyp 2 i 3).

Kryteria kwalifikacyjne do leczenia obejmują:

- wiek poniżej 65-70 roku życia (zasadniczo nie leczy się dzieci poniżej 2 roku życia);
- przeciwciała anty-HCV stwierdzone przez okres powyżej 6 miesięcy;
- HCV RNA wykrywalny w surowicy lub w tkance (przy czym celowe jest oznaczenie genotypu i badanie ilościowe wirerii, zwłaszcza w przypadku genotypu 1b, kiedy oznaczenie ilościowe HCV RNA służy jako wartość referencyjna do porównania z wysokością wirerii po 12 tygodniach leczenia) (10);

- aktywność aminotransferaz co najmniej dwukrotnie przekraczająca normę (wykazano, że skuteczność leczenia IFN  $\alpha$  i RBV pacjentów z prawidłową aktywnością aminotransferaz mimo histologicznych cech przewł. C jest mniejsza niż pacjentów z aktywnością aminotransferaz przekraczającą normę ponad dwukrotnie);

- w badaniu histopatologicznym biopsji wątroby obecne cechy przewlekłego zapalenia wątroby, z włóknieniem przekraczającym stopień I w ocenie punktowej 0-4 (11);

- pisemna zgoda na leczenie i systematyczne monitorowanie.

Zaawansowanie włóknienia stanowi wykładnik pilności rozpoczęcia terapii przeciw-wirusowej, a jak dotychczas nie udało się znaleźć jednoznacznie wiarygodnych markerów biochemicznych włóknienia; bierze się pod uwagę produkty syntezy i rozpadu kolagenu, enzymy biorące udział w syntezie i degradacji macierzy międzykomórkowej, glikoproteiny i proteoglikany. W chwili obecnej, w odniesieniu do oceny stopnia włóknienia tkanki wątrobowej, nie ma alternatywy dla badania histopatologicznego biopsji wątroby.

Liczba kopii wirusa w badaniu ilościowym ani też genotyp HCV nie wykazują korelacji z ciężkością przebiegu zakażenia. Natomiast badania te konieczne są przy kwalifikacji do terapii przeciw-wirusowej i monitorowaniu jej skuteczności. U osób kwalifikowanych do leczenia przeciw-wirusowego należy wykluczyć schorzenia o podłożu autoimmunologicznym (badanie autoprzeciwciał), patologię tarczycy, choroby neuropsychiatryczne, w tym depresję, oraz chorobę niedokrwienną serca (12).

Przeciwwskazania do leczenia interferonem to:

A. bezwzględne:

- brak możliwości współpracy z pacjentem,
- niespełnianie kryteriów kwalifikacyjnych,
- ciężkie współistniejące choroby ogólnoustrojowe,
- choroby autoimmunologiczne,

- psychoza lub depresja!?
- niepoddająca się leczeniu padaczka,
- niewyrównana marskość wątroby,
- ciąża i okres karmienia,
- neutropenia  $<1500$  kom/mm<sup>3</sup> lub trombocytopenia  $<50$  tys/mm<sup>3</sup>,
- alkoholizm lub uzależnienie od leków i środków odurzających aktualnie lub w okresie poniżej 6 miesięcy przed leczeniem.

B. względne: wiek powyżej 70 lat, niewyrównana cukrzyca, nefropatia cukrzycowa, łuszczyca, aktualnie prowadzone leczenie immunosupresyjne.

Natomiast przeciwwskazania do leczenia rybawiryną obejmują:

- schyłkową niewydolność nerek (klirens kreatyniny poniżej 50 ml/min),
- niedokrwistość, w tym hemolityczną i hemoglobinopatie,
- chorobę niedokrwienną serca,
- choroby naczyń mózgowych,
- ciężkie choroby naczyń obwodowych,
- artropatię w przebiegu dny moczanowej,
- ciążę,
- brak wiarygodnej antykoncepcji u kobiet (13).

Niezależnie od powyższych kryteriów dyskwalifikujących, do leczenia przyczynowego nie kwalifikują się: osoby z obecnymi przeciwciałami anti-HCV, ale nieobecny HCV RNA w surowicy i tkance, pacjenci z prawidłowymi aktywnościami aminotransferaz, oraz bez włóknienia w obrazie histopatologicznym bioptatu wątroby, mimo aktywnej replikacji HCV.

## TERAPIA EKSPERYMENTALNA ZAKAŻEŃ HCV

Aktualne możliwości terapeutyczne leczenia zakażeń HCV są w znacznym stopniu ograniczone, co wynika:

1) z licznych wymienionych wyżej przeciwwskazań do bezpiecznej terapii IFNalfa stosowanego z lub bez rybawiryny;

2) ograniczonej skuteczności aktualnie dostępnej terapii IFNalfa/RBV, nawet przy: idealnej kwalifikacji pacjentów, wzorowym monitorowaniu procesu leczenia, jak i dobrej, co nie bez znaczenia, współpracy pacjenta z lekarzem prowadzącym leczenie;

3) wysokich kosztów leczenia, które w wielu krajach jest po prostu niedostępne.

Stąd poszukiwanie nowych metod terapeutycznych, szczególnie tych swoiście działających na HCV. Ich podstawą są postępy wiedzy nad strukturą i funkcją poszczególnych elementów składowych genomu HCV, jak i produktów genów HCV, co omówiono wyżej.

## LEKI SKIEROWANE NA WYBRANE FRAGMENTY GENOMU HCV (NS3 I NS5B)

### – LEKI TZW. II GENERACJI W TRAKCIE BADAŃ KLINICZNYCH

W przeciwieństwie do preparatów IFN i rybawiryny, które nie są swoiste dla HCV, do grupy tej zaliczamy leki, które zostały zaprojektowane wybiórczo przeciwko najlepiej poznanym strukturalnie i czynnościowo białkom niestrukturalnym HCV, będących enzymami koniecznymi dla cyklu replikacyjnego HCV (14).

Do leków blokujących aktywność proteazy kompleksu NS3/NS4A, znajdujących się na różnym etapie badań przedklinicznych i klinicznych zaliczamy: BILN 2062 (Boehringer Ingelheim), VX-950 (Vertex Pharmaceuticals), SCH6 (Schering-Plough), a także inhibitory proteazy firm: Chiron, Aguron i Bristol-Myers Squibb? ATT.

Również w trakcie badań przedklinicznych znajdują się inhibitory helikazy-drugiej domeny w obrębie NS3 (Vertex Pharmaceuticals), choć wyników tych prac jeszcze nie opublikowano.

Dobrze scharakteryzowanym celem dla potencjalnych leków jest białko NS5B wykazujące swoistą dla wirusa aktywność polimerazy RNA. Wykazano jednak, że replikacja HCV wymaga obecności innych białek NS. Stąd niewykluczone, że preparaty skierowane wybiórczo przeciw NS5B mogą okazać się mało skuteczne. Aktualnie w badaniach klinicznych znajduje się kilka nukleozydowych lub nienukleozydowych inhibitorów polimerazy w tym VP 50406 (Viropharma Inc) i preparat firmy Biocryst (15).

#### POTENCJALNE MOŻLIWOŚCI INTERWENCJI TERAPEUTYCZNYCH – TZW. LEKI III GENERACJI

Nowe potencjalne możliwości terapeutyczne leczenia HCV wiążą się z postępem badań nad znaczeniem i funkcją mało do tej pory poznanych białek HCV NS5A NS4B, p7, NS2, ARFP czy enzymów komórkowych gospodarza uczestniczących w kształtowaniu kompleksu replikacyjnego dla HCV. Atrakcyjnym celem projektowanych leków może być także białko ARFP kodowane na drugiej ramce odczytu tego samego genomu HCV. Wykazano także, że potencjalnym miejscem działania leków przeciw wirusowych może być sam genom HCV, a szczególnie jego cis-aktywnie działające elementy obejmujące IRES i konserwatywne fragmenty RNA nie ulegające translacji. Rzecz ciekawa, taką sekwencję opisano w obrębie genomu kodującego białko NS5B. HCV RNA ulega translacji po związaniu się z wewnętrznym wiążącym miejscem rybosomów za pośrednictwem sekwencji wirusowej w obszarze 5'UTR (czyli IRES). Istnieje możliwość zablokowania tego procesu przy pomocy 1) tzw. krótkich RNA – hamują one zależną od IRES translację wirusów (niestety efekt jak dotychczas jedynie krótkotrwały); 2) rybozymów – które katalizują swoisty pod względem sekwencji podział RNA (obiecujące badania nad preparatem Heptazyme są w fazie badań klinicznych); 3) antysensowych nukleotydów – cząstki komplementarne do wirusowego RNA i tworzące z nimi hybrydy (preparat IBIS 14803, IBIS Pharmaceutical/ Elan znajduje się w II fazie badań klinicznych) (14, 15, 16).

Inną, zupełnie odmienną, możliwością terapeutyczną jest wpływ na niektóre enzymy komórkowe, co pośrednio może utrudniać replikację HCV. Okazuje się, że podanie inhibitora prenylacji lipidów (GGTI-286) hamuje tworzenie kompleksu replikacyjnego w zakażonej komórce i uniemożliwia replikację RNA. Podobnie działają inhibitory komórkowej dehydrogenazy inozyno-jednofosforanowej – IMPDH: mykofenolan mofetilu, VX-497, VX-148, VX-944, inhibitory CpG-oligo (dezoksy) nukleotydów np. WF-10, HE 2000, UML-600. Wreszcie wykazano również, że stymulacja niektórych genów komórkowych (IRF-3) może modulować odpowiedź antywirusową, co odnosi się nie tylko do zakażenia HCV. Bada się także skuteczność terapeutyczną substancji dotąd niestosowanych w leczeniu przewlekłego zakażenia C, np.: immunomodulatorów interleukiny 2, 10, 12, tymozyny alfa 1, histaminy. Osobne zagadnienie stanowią badania, będące w fazie eksperymentu

klinicznego, ze szczepionkami terapeutycznymi zawierającymi różne struktury antygenowe HCV (2,4,15,16).

Wydaje się, że kluczem do dalszego postępu badań nad farmakoterapią zakażeń HCV jest stworzenie wysoce wydajnego modelu systemu hodowli komórkowej, w której mógłby się namnażać wirus –niestety brak do chwili obecnej takiej linii komórkowej.

Pewien przełom w tym względzie przyniosły prace *Lohmana* i wsp. (17), którzy skonstruowali za pomocą metod molekularnych, bi-cystronowy subgenomowy replikon HCV i wprowadzili go do linii komórkowej HUB-7. W ten sposób po dalszych modyfikacjach uzyskano możliwość ciągłej replikacji prawie całego genomu HCV (18).

*K Simon, A Szymczak*

#### MOLECULAR VIROLOGY AND TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

##### SUMMARY

Chronic hepatitis C remains the significant epidemiological and clinical problem. Its serious sequelae include cirrhosis, liver failure and hepatocellular carcinoma. The only approved treatment of chronic hepatitis C are interferon (IFN) alfa-based regimens. Pegylated IFN alfa in combination with ribavirin has been proved to be the most effective therapy with sustained virological response rate of 72%, regardless of HCV genotype. Qualifying for antiviral therapy needs careful initial assessment, regarding of contraindications and certain conditions, and then close monitoring during treatment. Despite the significant progress in hepatitis C management currently available therapies are often ineffective and unsuitable for certain patient populations. The results of molecular researches on HCV biology give rise to the new therapeutic approaches to HCV therapy.

##### PIŚMIENNICTWO

1. Komunikat Zakładu Epidemiologii, PZH, Warszawa, 2004.
2. Marcellin P. Hepatitis B and Hepatitis C in 2004. Mat International Conference on the Management of Patients with Viral Hepatitis Paris, 2004;1-17.
3. Reed KE, Rice CM. Overview of hepatitis C virus genome structure, polyprotein processing and protein properties. *Curr Topics Microbiol Immunol* 2000;242:55-84.
4. Alberti A, Benvegnu L. Management of hepatitis C. *J Hepatol* 2003;38:104-118.
5. Hu K-Q, Vierling JM, Redeker AG. Viral, host and interferon-related factors modulating the effect of interferon therapy for hepatitis C virus infection. *J Viral Hepatol* 2001;8:1-7.
6. Cameron CE, Castro C. The mechanism of action of ribavirin: lethal mutagenesis of RNA virus genomes mediated by the viral RNA – dependent RNA polymerase. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14:757-767.
7. McHutchison JG – informacja ustna. Schering-Plough Satellite Symposium, 11th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Diseases, 6-10 April 2003, Sydney, Australia.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, i in. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
9. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, i in. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001, 358, 958-965.
10. Ferreira-Gonzales A, Schiffman ML. Use of Diagnostic Testing for Managing Hepatitis C Virus Infection. *Sem Liv Dis* 2004;24,suppl.2:9-18.

11. Fried MW, Hadziyannis SJ. Treatment of Chronic Hepatitis C Infection with Peginterferons Plus Ribavirin. *Sem Liv Dis* 2004;24,suppl.2:47-54.
12. Fontana RJ, Lok ASF. Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36, Suppl 1:S57-63
13. McHutchison JG, Manns MP, Poynard T, Wong JB, i in. *Current hepatitis C infection*. Life Science Communications Ltd 2002, London.
14. Glenn J. HCV viral life cycle and targets for drug development. AASLD. Postgraduated Course. 2004, Liver diseases-from bench to bedside, 3-10.
15. Sarrazin U, Sarrazin C, Zeuzem St. Terapia eksperymentalna w przewlekłym zapaleniu wątroby typu C. W: *Zapalenie wątroby a zakażenie HIV*, red. Mauss S, Rockstroh JK, Jager H, red. wyd. polskiego: Simon K, Wrocław Urban i Partner, 2004;111-137.
16. Seng-Lai Tan, Yupeng He, Ying Huang, Gale M. Strategies for hepatitis C therapeutic intervention: now and next. *Curr Opin in Pharmacol* 2004;4:465-470.
17. Lohman V, Korner F, Koch JO, i in. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in hepatoma cell line. *Science* 1999;285:110-113.
18. Randall G, Rice ChM. Hepatitis C virus cell culture replication systems: their potential use for the development of antiviral therapies. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14:743-747.

**Adres autora:**

prof. dr hab.med. Krzysztof Simon  
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych  
Akademii Medycznej we Wrocławiu  
ul. Koszarowa 5, 51-149 Wrocław,  
tel. (71) 326 13 25  
Adres prywatny: ul. Moniuszki 27/1, 51610 Wrocław  
tel. (71) 348 15 26  
e-mail: [krzysimon@poczta.onet.pl](mailto:krzysimon@poczta.onet.pl)