

Leczenie przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B i lekooporność

Treatment of chronic hepatitis B and drug resistance

Khalil Nazzal

Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Przegląd Gastroenterologiczny 2009; 4 (1): 7–11

Słowa kluczowe: WZW B, analog nukleozydowy, leczenie, mutacja, lekooporność.

Key words: hepatitis B, nucleoside analogue, therapy, mutation, drug resistance.

Adres do korespondencji: lek. Khalil Nazzal, Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Wolska 37, 01-201 Warszawa, tel. +48 22 335 53 40, faks +48 22 631 05 35, e-mail: khalil@nazzal.pl

Streszczenie

Przez ponad 10 lat standardowe leczenie przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B (PZW B) było ograniczone do stosowania interferonu α (IFN- α) i lamiwudyny. Interferon ten jest obciążony licznymi działaniami ubocznymi, a podawaniu lamiwudyny towarzyszy zjawisko lekoopornych mutantów wirusa zapalenia wątroby typu B (*hepatitis B virus* – HBV). W ostatnich kilku latach zarejestrowano nowe analogi nukleozydowe/nukleotydydowe. W celu osiągnięcia optymalnego celu, jakim jest całkowita eradykacja zakażenia HBV, konieczne są badania nad nowymi preparatami różniącymi się od obecnie stosowanych m.in. mechanizmem działania.

Wprowadzenie

Zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B (*hepatitis B virus* – HBV) są jednym z głównych problemów zdrowotnych współczesnej medycyny. W niektórych krajach wirusowe zapalenie wątroby typu B (WZW B) zalicza się do chorób społecznych. Stosowanie wyjątkowo efektywnej szczepionki doprowadziło do znacznego zmniejszenia liczby nowych zakażeń HBV, zwłaszcza wśród dzieci i młodzieży. Mimo to ponad 350–400 mln ludzi na świecie jest przewlekle zakażonych tym wirusem. Szacuje się, że jest on przyczyną śmierci ok. miliona ludzi rocznie [1, 2].

Wirus zapalenia wątroby typu B należy do rodziny *Hepadnaviridae*, ma podwójną kolistą nić DNA [3]. Średnica cząstki wirusa HBV, zwanej cząstką Dane'a, wynosi ok. 42 nm, a rdzenia wirusa – 27 nm. Zawiera on HBV-DNA oraz polimerazę DNA otoczoną przez antygen rdzeniowy wirusa (HBcAg). Częścią HBcAg jest antygen e

Abstract

For more than ten years standard therapy of chronic hepatitis B was limited to interferon- α and lamivudine. Interferon- α is known to have several adverse effects, while the use of lamivudine is associated with HBV (*hepatitis B virus*) mutations. New nucleoside/nucleotide analogues have been registered during the last few years. New antiviral agents with different mechanisms of action than that of nucleotide/nucleoside analogues should be used in the future to achieve the optimal goal of therapy: the total eradication of HBV infection.

(HBcAg). Lipoproteinowy płaszcz zawierający antygen powierzchniowy (HBsAg) otacza HBcAg [2, 4].

HBV DNA zawiera cztery główne geny kodujące różne białka: gen białek otoczkowych kodujący trzy białka (w tym HBsAg), gen C kodujący białko rdzeniowe, gen P kodujący odwrotną transkryptazę (rt) i RNA-azę oraz gen X kodujący białka pośredniczące w procesie translacji [2].

Jedną z podstawowych cech wirusa HBV decydującą o przebiegu zakażenia i występowaniu niektórych jego powikłań, takich jak pierwotny rak wątroby, jest zdolność HBV DNA do integracji z DNA zakażonych hepatocytów.

Z punktu widzenia skuteczności leczenia i dalszego rozwoju choroby istotne znaczenie ma fakt, że HBV ma znaczną zdolność replikacyjną. Szacuje się, że do krwioobiegu osoby przewlekle zakażonej codziennie jest wydanych ok. 10^{11} cząstek wirusa. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że odwrotna transkryptaza HBV wykazuje

słabą zdolność do korekcji błędów odczytu, co w rezultacie daje wysoki wskaźnik mutacji [5]. Z czasem doprowadza to do powstania nowych wariantów ze zmianami wielosekwencyjnymi, tzw. ewolucyjnych sekwencji. Niektóre z nich powstałe na drodze selekcji mogą być odpowiednim materiałem do powstawania mutantów lekoopornych podczas leczenia przeciwwirusowego [5, 6].

Zakażenie HBV może przebiegać w różnych postaciach klinicznych – od bezobjawowego, poprzez jawne ostre wirusowe zapalenie wątroby, do przewlekłego zapalenia, którego konsekwencją mogą być marskość wątroby i pierwotny rak wątroby [2, 3, 7].

Leczenie przewlekłych zakażeń wirusem zapalenia wątroby typu B

Zgodnie z aktualnym stanowiskiem Polskiej Grupy Ekspertów HBV – zalecenia terapeutyczne na 2008 r. (leczenie przeciwwirusowe przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B) – *głównym celem leczenia jest, niezależnie od stosowanego leku, uzyskanie trwałej supresji replikacji HBV do poziomu umożliwiającego zahamowanie, spowolnienie oraz regresję zmian zapalnych i włóknienia wątroby oraz ochrona przed nowotworami w związku z zakażeniem HBV, gdyż eradykacja HBV jest prawdopodobnie nieosiągalna z powodu epizymalnej postaci HBV DNA, tj. cccDNA* (źródło: www.choroby-zakazne.pl).

Stanowisko Polskiej Grupy Ekspertów jest zgodne z zaleceniami EASL (*European Association for the Study of the Liver*) [8].

Do leczenia pacjentów zakażonych HBV zarejestrowano następujące leki: interferon α (INF- α), adefowir, entekawir, lamiwudynę i telbivudynę.

Interferon

Pierwszym lekiem stosowanym w leczeniu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B (PZW B) był IFN- α . Przez wiele lat był jedynym zarejestrowanym lekiem, obarczonym licznymi objawami niepożądanymi oraz licznymi przeciwwskazaniami do stosowania, stosunkowo drogim. Tylko 30–35% pacjentów leczonych IFN- α mogło osiągnąć trwałą odpowiedź wirusologiczną i biochemiczną, definiowaną jako eliminacja HBeAg i HBV-DNA oraz normalizacja aktywności aminotransferazy alaninowej (*alanine transferase* – ALT) [7].

Mechanizm działania IFN- α jest dwukierunkowy. Cytokina ta wykazuje działanie przeciwwirusowe polegające na upośledzeniu translacji wirusowego mRNA, blokowaniu syntezy i elongacji białek oraz hamowaniu procesu dojrzewania wirionów [3, 7, 9–11]. Interferon wykazuje ponadto działanie immunomodulacyjne, m.in.

wskutek zwiększenia ekspresji MHC1 (*major histocompatibility complex*), prezentujące peptydy dla cytotoksycznych T-limfocytów, oraz stymulacji limfocytów cytotoksycznych (*cytotoxic C-limfocytes* – CTL) [7].

Obecnie stosuje się nową postać IFN- α – interferon pegylowany. Pegylacja jest procesem polegającym na przyłączeniu jednego lub więcej łańcuchów glikolu polietylenowego do cząsteczki białka, co umożliwia stworzenie bariery ochronnej, zapobiegającej szybkiej absorpcji, metabolizmowi i wydalaniu interferonu [10–12]. Dzięki poddaniu cząsteczki IFN- α procesowi pegylacji uzyskano zmniejszenie częstości podawania leku i zwiększono jego skuteczność.

Interferon pegylowany pozostaje lekiem z wyboru w leczeniu chorych zakażonych HBV dotychczas nieleczonych. W porównaniu z analogami nukleozydowymi/nukleotydowymi jest bardziej skuteczny i nie powoduje lekooporności [13].

Liczne przeciwwskazania do stosowania interferonu, objawy uboczne z nim związane oraz uciążliwa droga podawania w formie zastrzyków podskórnych lub domięśniowych stanowiły impuls do poszukiwania nowych leków przeciwko zakażeniom HBV.

Lamiwudyna

Lamiwudyna (LMV = 3TC) jest najstarszym analogiem nukleozydowym stosowanym w leczeniu przewlekłych zakażeń HBV. W 1998 r. uzyskała akceptację Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków (*Food and Drug Administration* – FDA). Jest lekiem powszechnie stosowanym w kompleksowej terapii antyretrowirusowej u osób zakażonych ludzkim wirusem niedoboru odporności (*human immunodeficiency virus* – HIV). W badaniach klinicznych wykazano, że do hamowania replikacji HBV potrzebna jest znacznie mniejsza dawka leku (100 mg/dobę) niż stosowana w zakażeniu HIV (300 mg/dobę) [7, 13].

Lamiwudyna – po penetracji do hepatocytów – jest metabolizowana do jej aktywnej pochodnej – trójfosforanu lamiwudyny. Dalsze tworzenie się wirusowego DNA jest blokowane przez włączenie trójfosforanu lamiwudyny do łańcucha i wynikające z tego procesu zakończenie jego powstawania [7, 10, 12, 14].

Lamiwudyna znalazła szerokie zastosowanie w leczeniu przewlekłych zakażeń HBV, szczególnie u chorych z przeciwwskazaniami do leczenia IFN- α [7, 13, 15]. Jest lekiem skutecznym i dobrze tolerowanym, powodującym zmniejszenie stężenia HBV DNA o 3–4 \log_{10} w pierwszych miesiącach leczenia [7, 13, 15]. Przez kilka lat była jedynym zarejestrowanym analogiem nukleozydowym do leczenia HBV. W miarę jej stosowania okazało się, że powoduje powstawanie mutantów HBV lekoopornych. Im dłużej trwa kuracja, tym odsetek

mutantów jest większy. Szacuje się, że po rocznej terapii lekooporność na lamiwudynę sięga 20%, a po 5-letniej – już ok. 70% ogólnej puli wirusa [7, 16].

Mutacje o znaczeniu klinicznym w przebiegu leczenia lamiwudyną dotyczą dwóch pozycji genu odwrotnej transkryptazy (*reverse transcriptase* – *rt*), tj. mutacja w pozycji *rt204* – substytucja aminokwasów z metioniny (M) na izoleucynę (I) oznaczona jako *rtM204I* oraz zmiana metioniny na walinę (V) w tej samej pozycji *rt204* (*rtM204V*). Tej ostatniej mutacji towarzyszy mutacja w pozycji *rt180* polegająca na zmianie leucyny (L) na metioninę – (*rtL180M*) [5, 7, 17]. Mutacja *rtM204I* może być izolowana, ale mutacji *rtM204V* zawsze towarzyszy mutacja *rtL180M* [17].

Przyjmuje się, że mutanty *rtM204V/I* w motywie YMDD są odporne na lamiwudynę, emtrycyabinę oraz telbiwudynę. Jeśli substytucji *rtM204V/I* towarzyszą inne substytucje w pozycjach *rt184*, *rt202* lub *rt250*, to powstają mutanty HBV odporne na entekawir [5, 17, 18].

W badaniach *in vitro* wykazano, że mutanty lekooporne YMDD mają mniejszą zdolność replikacyjną w porównaniu z dzikim wirusem HBV [19]. Stężenie ALT zwykle pozostaje poniżej wartości sprzed rozpoczęcia kuracji, jeśli terapię lamiwudyną kontynuowano mimo *przetomu wirusologicznego* definiowanego *wzrostem miana HBV DNA przynajmniej o jeden log₁₀ w porównaniu z najmniejszą wartością, jaką osiągnięto w trakcie leczenia, u pacjentów, u których kuracja była dotychczas skuteczna*. W niektórych przypadkach mutanty YMDD, oprócz *przetomu wirusologicznego*, powodują *przełom biochemiczny*, definiowany jako zwiększenie stężenia ALT powyżej górnej granicy normy.

Mutanty odporne na lamiwudynę są wrażliwe na adefowir i entekawir, ale wykazują krzyżową oporność na inne analogi nukleozydowe, takie jak emtrycytabina i telbiwudyna [20].

Adefowir

Adefowir (ADV) został zarejestrowany do leczenia chorych zakażonych HBV w 2002 r. Jest analogiem nukleozydowym stosowanym doustnie w dawce 10 mg/dobę. Stanowi ona dawkę skuteczną i bezpieczną w przypadku chorych na PZW B [21, 22]. Przyjmowaniu większych dawek leku przez zakażonych HIV często towarzyszyła nefrotoksyczność.

Skuteczność adefowiru w monoterapii jest porównywalna ze skutecznością lamiwudyny, z tą jednak przewagą, że zjawisko lekooporności występuje znacznie rzadziej w czasie kuracji adefowirem – 0% po 1. roku, 1,3% po 2 i 29% po 5 latach kuracji [23, 24]. W nowszych badaniach wykazano jednak częstsze występowanie mutantów lekoopornych, towarzyszących leczeniu adefowirem [23, 25]. Terapia skojarzona adefo-

wirem i lamiwudyną pacjentów dotychczas nieleczonych wymaga dalszych badań [13], natomiast połączenie to jest skuteczne w przypadku chorych z lekoopornością na lamiwudynę. Dodawanie adefowiru do lamiwudyny w tej grupie pacjentów daje lepsze efekty niż odstawienie lamiwudyny i przejście na adefowir [23, 26–28].

Entekawir

W 2005 r. entekawir (ETV) uzyskał akceptację FDA. Mechanizm działania tego analogu nukleozydowego jest podobny do innych analogów. Po penetracji do hepatocytów pod wpływem kinaz komórkowych ulega on 3-krotnej fosforylacji do ETV-TP [29]. Skuteczność tego leku w dawce 0,5 mg/dobę potwierdzono w licznych badaniach klinicznych [16, 30–32]. W badaniach wykazano wyższość entekawiru nad lamiwudyną zarówno w ocenie obrazu histologicznego wątroby, jak i odpowiedzi wirusologicznej, definiowanej redukcją wiremii, utratą HBeAg i serokonwersją do anty-HBe oraz poprawą parametrów biochemicznych wyrażonych zmniejszeniem stężenia ALT.

Dobrej aktywności przeciwwirusowej entekawiru towarzyszy długa skuteczność tego leku, ponieważ cechuje się on brakiem indukcji lekooporności u pacjentów dotychczas nieleczonych. W przypadku chorych z lekoopornością na lamiwudynę dawka leku musi być jednak większa (1 mg/dobę). Wykazano, że w tej grupie chorych ryzyko pojawienia się mutantów opornych na entekawir po 2-letniej kuracji wynosi ok. 10%. Po 48 tyg. leczenia entekawirem u 50–70% osób uzyskuje się eliminację HBV DNA, a u 50–68% – normalizację stężenia ALT [33–35].

Dotychczas opisano cztery mutacje związane z lekoopornością na entekawir: *rtS184G*, *rtI169T*, *rtS202I* oraz *rtM250V*. Warunkiem pojawienia się tych mutantów jest obecność lekooporności na lamiwudynę [36].

Telbiwudyna

Telbiwudyna (L-dT) została zarejestrowana przez FDA w 2007 r. Ten analog nukleozydowy stosowany doustnie w dawce 600 mg/dobę cechuje się udowodnioną wysoką aktywnością przeciwwirusową w odniesieniu do HBV. W badaniu klinicznym trwającym rok wykazano, że telbiwudyna powoduje znaczną redukcję HBV DNA ($> 6 \log_{10}$) w porównaniu z lamiwudyną (ok. $4,5 \log_{10}$) [37]. W przypadku pacjentów z obecnym antygenem HBe zmniejszenie HBV DNA po 24-tygodniowym leczeniu telbiwudyną było wyraźnie większe ($6,3 \log_{10}$) niż w przypadku kuracji adefowirem ($4,97 \log_{10}$) [38].

Dotychczas opisano tylko jedną mutację związaną z telbiwudyną – *rtM204I* [37]. Telbiwudyna wykazuje

większą skuteczność w leczeniu zakażonych HBV niż lamiwudyna czy adefowir. Pojawienie się mutantów lekoopornych już po pierwszym roku leczenia u 4,4% osób może jednak ograniczyć stosowanie tego leku. Mutanty odporne na lamiwudynę mają ponadto krzyżową oporność na telbivudynę [20].

Inne leki

Oprócz powyższych leków zarejestrowanych do leczenia przewlekłych zakażeń HBV istnieje wiele leków znajdujących się w różnych fazach badań klinicznych.

Tenofowir (TDF) jest lekiem zarejestrowanym do leczenia chorych zakażonych HIV. W badaniach wykazano, że w przypadku pacjentów zakażonych wirusami HIV i HBV tenofowir wykazuje skuteczność przeciwwirusową zarówno w stosunku do *dzikiego* HBV, jak i mutantów opornych na lamiwudynę i adefowir [7].

Emtrycytabinę (FTC) – podobnie jak tenofowir – zarejestrowano do leczenia chorych zakażonych HIV. Obecnie lek ten jest w fazie III badań klinicznych u chorych przewlekle zakażonych HBV. W badaniu z zastosowaniem tego leku w dawce 200 mg/dobę u chorych przewlekle zakażonych HBV wykazano, że 2-letnia kuracja była obciążona dużym (18%) ryzykiem lekooporności [39]. Obserwowane mutacje to izolowana rtM204I/V albo w połączeniu z rtL180M oraz rtV173L.

Klewudyna (L-FMAU) jest analogiem nukleozydowym o potencjalnym działaniu przeciwwirusowym w stosunku do HBV. W badaniu *in vitro* wykazano, że może być ona skuteczna przeciwko mutantom HBV opornym na lamiwudynę [13].

Podsumowanie

Wszystkie powyżej opisane leki, z wyjątkiem IFN- α , mają zbliżone mechanizmy działania. Z tego też powodu dwulekowa terapia skojarzona jest uzasadniona jedynie w przypadku chorych z mutacjami warunkującymi oporność na te leki. Od kilku lat prowadzone są badania nad lekami o innych mechanizmach działania. Najbardziej zaawansowane badania dotyczą tymozyny α , interferonu γ , witaminy E, szczepionki terapeutycznej, terapii genowej, interleukiny 2 oraz 12 [7, 13].

Cele przyszłych badań nad leczeniem zakażeń HBV wynikają z lepszego poznania cyklu życiowego tego wirusa [40] i poszukiwania substancji hamujących jego replikację. Hamowanie penetracji wirusa do komórek wątrobowych wskutek zastosowania specyficznych immunoglobulin anty-HBV (HBIg) wydaje się obiecującą opcją terapeutyczną, mimo że receptor HBV nie został jeszcze zidentyfikowany. Kolejnym etapem w procesie replikacji HBV jest faza transkrypcji wirusa, którą próbuje się zablokować, stosując mały interferujący RNA (siRNA) [41]. Najtrudniejszym celem do osiągnięcia

okazuje się eliminacja hepatocytów, w których cccDNA przetrwał bez replikacji, ponieważ tylko eliminacja cccDNA oznacza całkowite wyleczenie [40].

Mimo znacznego postępu wiedzy i licznych badań klinicznych nad zastosowaniem kolejnych leków przeciwwirusowych, leczenie przewlekłych zakażeń HBV jest poważnym problemem dotyczącym milionów ludzi na świecie. Najbardziej efektywną metodą walki z zakażeniami HBV okazuje się powszechne stosowanie szczepień przeciwko WZW B.

Piśmiennictwo

1. World Health Organization. Dostępne na: www.who.org (26.02.2007).
2. Juszczyk J. Clinical course and consequences of hepatitis B infection. *Vaccine* 2000; 18: Suppl: S23-5.
3. Halota W, Pawłowska M. Zakażenie HBV po 40 latach od odrycia „antygeny Australia”. *Med Sci Rev Hepatologia* 2008; 8: 5-7.
4. Tiollais P, Charnay P, Vyas GN. Biology of hepatitis B virus. *Science* 1981; 213: 406-11.
5. Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A i wsp. Nomenclature for antiviral resistant of human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology* 2001; 33: 751-7.
6. Rong Zhu, Hui-Ping Zhang, Hui Y i wsp. Hepatitis B virus mutations associated with in situ expression of hepatitis B core antigen, viral load and prognosis in chronic hepatitis B patients. *Pathol Res Pract* 2008; 204: 731-42.
7. Ferir G, Kaptein S, Neyts J i wsp. Antiviral treatment of chronic hepatitis B virus infections: the past, the present and the future. *Rev Med Virol* 2008; 18: 19-34.
8. European Association For The Study Of The Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50: 227-42.
9. Marcellin P, Lau GK, Bonino F i wsp. Peginterferon alone, Lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2004; 351: 1206-17.
10. Pawłowska M, Halota W. Pegylowany INF-alfa w leczeniu przewlekłego zapalenia wątroby typu B u pacjentów z nieobecny antygenem HBe. *Przegl Epidemiol* 2006; 60: 5-108.
11. Thomas H, Foster G, Platis D. Mechanisms of action of interferon and nucleoside analogues. *J Hepatol* 2003; 39 (Suppl 1): S93-8.
12. Niesiobędzka-Krężel J, Paluszewska M. Pegylowane interferony. *Współcz Onkol* 2001; 5: 148-51.
13. Padro M, Bartolome J, Carreno V. Current therapy of chronic hepatitis B. *Arch Med Res* 2007; 38: 661-77.
14. Dostępne na: <http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/Zeffix/H-242-PI-pl.pdf>.
15. Diestang JL, Cianciara J, Karayalcin S i wsp. Durability of serologic response after lamivudine treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2003; 37: 748-55.
16. Lampertico P. Entecavir versus lamivudine for HBeAg positive and negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006; 45: 457-60.
17. Enomoto M, Tamori A, Toyama Kohmoto M i wsp. Mutational patterns of hepatitis B virus genome and clinical outcomes after emergence of drug-resistant variants during lamivudine

- therapy: analysis of the polymerase gene and full length sequence. *J Med Virol* 2007; 79: 1664-70.
18. Locarnini S, Hatzakis A, Heathcote J i wsp. Management of antiviral resistance in patients with chronic hepatitis B. *Antivir Ther* 2004; 9: 679-93.
 19. Ono SK, Kato N, Shiratori Y i wsp. The polymerase L528M mutation cooperates with nucleotide Winding-site mutations, increasing hepatitis B virus replication and drug resistance. *J Clin Invest* 2001; 107: 449-55.
 20. Yang H, Qi X, Sabogal A i wsp. Cross resistance testing of next-generation nucleoside and nucleotide analogues against lamivudine-resistant HBV. *Antivir Ther* 2005; 10: 625-33.
 21. Ingliz P, Valantin MA, Thibault V i wsp. Efficacy and safety of adefovir dipivoxil plus pegylated interferon alfa2a for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection in HIV infected patients. *Antivir Ther* 2008; 13: 895-900.
 22. Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M i wsp. Tenofovir dipivoxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2008; 359: 2442-55.
 23. Fung SK, Chae HB, Fontana RJ i wsp. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006; 44: 283-90.
 24. Yeon J, Yoo W, Hong SP i wsp. Resistance to adefovir dipivoxil in lamivudine resistant chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil. *Gut* 2006; 55: 1488-95.
 25. Lee YS, Suh DJ, Lim YS i wsp. Increased risk of adefovir resistance in patients with lamivudine resistant chronic hepatitis B after 48 weeks of adefovir dipivoxil monotherapy. *Hepatology* 2006; 43: 1385-91.
 26. Lampertico P, Marzano A, Levrero M i wsp. A multicenter italian study of rescue adefovir dipivoxil therapy in lamivudine resistant patients: a 2 year analysis of 604 patients. *Hepatology* 2005; 42: 591A
 27. Lampertico P, Marzano A, Levrero M i wsp. Adefovir and lamivudine combination therapy is superior to adefovir monotherapy for lamivudine resistant patients with HBeAg negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 2006; 44: 693A.
 28. Fung SK, Chae HB, Fontana RJ i wsp. Virologic response and resistance to adefovir in patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2006; 44: 283-90.
 29. Yamanaka G, Wilson T, Innaimo S i wsp. Metabolic studies on BMS-200475, a new antiviral compound active against hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 190-3.
 30. Leung N, Peng CY, Hann HW i wsp. Early hepatitis B virus DNA reduction in hepatitis B antigen-positive patients with chronic hepatitis B: a randomized international study of entecavir versus adefovir. *Hepatology* 2009; 49: 72-9 [Abstract].
 31. Chang TT, Gish RG, de Man R i wsp. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1001-10.
 32. Lai CL, Shouval D, Lok AS i wsp. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1011-20.
 33. Zoulim F. Entecavir: a new treatment option for chronic hepatitis B. *J Clin Virol* 2006; 36: 8-12 [Abstract].
 34. Sherman M, Yurdaydin C, Sollano J i wsp.; A1463026 BEHoLD Study Group. Entecavir for treatment of lamivudine refractory HBeAg positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2006; 130: 2039-49.
 35. Chang TT, Gish RG, Hadziyannis SJ i wsp. A dose-ranging study of the efficacy and tolerability of entecavir in lamivudine-refractory chronic hepatitis B patients. *Gastroenterology* 2005; 129: 1198-209.
 36. Tenney DJ, Levine SM, Rose RE i wsp. Clinical emergence of entecavir resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3498-507.
 37. Lai CL, Leung L, Teo EK i wsp. A 1-year trial of telbivudine, lamivudine and the combination in patients with hepatitis B antigen-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2005; 129: 528-36.
 38. Heathcote EJ, Chan HL, Lai CL i wsp. A randomized trial of telbivudine vs adefovir for HBeAg-positive chronic hepatitis B: efficacy through week 76, predictors of response and effects of switching to telbivudine. DDW 2007 Washington DC, May 19-24, 2007.
 39. Gish RG, Trinh H, Leung N i wsp. Safety and antiviral activity of emtricitabine (FTC) for the treatment of chronic hepatitis B infection: a two year study. *J Hepatol* 2005; 43: 60-6.
 40. Pawlotsky JM. Virology of hepatitis B and C viruses and antiviral targets. *J Hepatol* 2006; 44 (1 Suppl): S10-3.
 41. Taylor JA, Naoumov N. The potential of RNA interference as a tool in the management of viral hepatitis. *J Hepatol* 2005; 42: 139-44.