

Г.М. Курманова, К.Б. Курманова, Ш.С. Садыкова

**ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ
ГЕПАТИТОВ
ПРЕПАРАТАМИ ЦИТОКИНОВ**
Пособие для врачей

Алматы, 2008

Содержание

Список сокращений	3
ВВЕДЕНИЕ	4
ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ	4
Особенности иммунопатогенеза вирусного гепатита В	9
Особенности иммунопатогенеза вирусного гепатита С	11
Течение и прогноз при ХВГ или почему надо лечить хронический вирусный гепатит	15
ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА ПРЕПАРАТАМИ α -ИНТЕРФЕРОНА	18
Механизм действия α -интерферона при ХВГ	18
Схемы лечения ХВГ с использованием препаратов ИНФ	21
Побочные эффекты интерферонотерапии ХВГ и противопоказания	26
Интерферонрезистентность	27
Основные направления совершенствования лечения ХВГ	29
РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИНТЕРЛЕЙКИН-2 В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА	31
Механизм действия интерлейкина-2 при ХВГ	31
Опыт применения Ронколейкина при ХВГ	33
Схемы лечения ХВГ с использованием препаратов ИЛ-2	37
РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИНТЕРЛЕЙКИН-1 β В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА	38
Механизм действия интерлейкина-1 β при ХВГ	38
Опыт применения Беталейкина при ХВГ	40
Схемы лечения ХВГ с использованием беталейкина	42
Что необходимо учитывать при назначении препаратов цитокинов при ХВГ	43
Литература	45

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ИНТЕРЛЕЙКИН-2 В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА

Еще одним препаратом, способным сдвигать соотношение Тх1/Тх2 в сторону более эффективного при вирусной инфекции Тх1-типа является интерлейкин-2.

Рекомбинантный ИЛ-2 – лекарственная форма рекомбинантного интерлейкина-2 человека (rIL-2), выделенного и очищенного из клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, в генетический аппарат которых встроен ген человеческого ИЛ-2. Рекомбинантный ИЛ-2 действует как аналог естественного цитокина и восполняет дефицит эндогенного цитокина при вторичной иммунной недостаточности. Кроме того, в качестве иммунокорректора rIL-2 может считаться универсальным препаратом, поскольку его действие не зависит от природы фактора, индуцировавшего иммунную дисфункцию

Механизм действия интерлейкина-2 при ХВГ

ИЛ-2 обладает выраженной иммунокорригирующей активностью, направленной на усиление и оптимизацию противобактериального, противовирусного и противогрибкового иммунитета.

ИЛ-2 относится к факторам роста и дифференцировки Т-лимфоцитов и NK-клеток. ИЛ-2 способен клонально активировать Т- и В-составляющие адаптивного иммунитета в ответ на конкретный антиген, что позволяет констатировать наличие у него свойств, характерных для активной иммуноотерапии. Более того, ИЛ-2 самостоятельно (без антигенной стимуляции) активизирует Т-лимфоциты и NK-клетки с высокоаффинными (Т-лимфоциты) и промежуточными по аффинности (NK-клетки) рецепторами к ИЛ-2. В ответ на прямое действие ИЛ-2 способны пролиферировать даже предшественники Т-лимфоцитов.

ИЛ-2 препятствует развитию толерантности к антигенам, отменяя в некоторых случаях уже сформировавшуюся иммунную неответаемость; действует как один из ростовых факторов на предварительно активированные В-лимфоциты и усиливает синтез плазматическими клетками иммуноглобулинов М, G, А классов.

Наконец, ИЛ-2 интенсифицирует процесс образования эозинофилов и тромбоцитов.

ИЛ-2 и его рекомбинантные препараты способны активировать процессы репарации и регенерации тканей.

ИЛ-2 также способствует дифференцировке NK-клеток в лимфокинактированные киллерные клетки (ЛАК-клетки), отличающиеся высокой цитолитической активностью и широким спектром действия.

ИЛ-2 может выступать в качестве как проапоптического, так и антиапоптического цитокина в отношении активированных Т-лимфоцитов. Как проапоптический агент ИЛ-2 стимулирует входжение Т-клеток в пролиферацию, при этом именно в поздней G₁-фазе и S-фазе клеточного цикла, когда клетки более чувствительны к индукции апоптоза. ИЛ-2 вызывает повышение чувствительности Т-клеток к апоптозу. Установлено, что под действием ИЛ-2 усиливается как индукция, так и образование FasL и ФНО-α.

Выбор пути (проапоптотического и антиапоптотического) происходит согласно теории обратной связи в контроле апоптоза Т-лимфоцитов. Согласно этой теории,

ИЛ-2 вызывает повышение чувствительности Т-лимфоцитов к апоптозу. Дальнейший путь клетки будет зависеть от уровня антигенного и костимулирующего воздействия. В случае отсутствия антигенного воздействия (через TCR) уровень секретируемого ИЛ-2 и его клеточного рецептора падает, в результате Т-клетки подвергаются «пассивному» апоптозу, связанному с нехваткой ИЛ-2. В этом случае механизм апоптоза связан с митохондриями. «Пассивный» апоптоз снижается или отменяется под действием следующих цитокинов: ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-15, ИЛ-21. «Активный» апоптоз опосредуется воздействием на активированную Т-клетку FasL и ФНО- α . Активный апоптоз выступает механизмом ограничения гиперактивации антигенспецифического клона эффекторных клеток, например при аутоиммунных реакциях, при повреждении вирусинфицированных клеток, аллергии, а также при формировании периферической толерантности.

Таким образом, действие ИЛ-2 весьма разнообразно: он воздействует как на структурную (клеточную), так и на функциональную (регуляторную) составляющие иммунной системы.

Обоснованием применения ИЛ-2 являются следующие особенности иммунопатогенеза вирусного гепатита:

- снижение численности популяций CD3- и CD4-лимфоцитов;
- девиация иммунного ответа по Т-хелперному 2 типу;
- дисбаланс цитокинового звена иммунитета в сторону повышения индукции провоспалительных цитокинов (TNF- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4) наряду со снижением индуцированной продукции ИЛ-2.

ИЛ-2 способствует активации лимфоцитов Тх1 клона, продуцирующих интерферон γ (ИНФ- γ), интерлейкин-2 (ИЛ-2), ведет к стимуляции Т-лимфоцитов, макрофагов и развитию иммунного ответа по клеточному типу, который играет решающую роль в защите от внутриклеточных возбудителей, включая вирусы. Тх1-зависимый иммунный ответ ассоциируется со спонтанным выздоровлением при остром вирусном гепатите или же соответствует более благоприятному течению болезни с меньшей выраженностью воспаления и способен контролировать вирусную нагрузку.

Поэтому применение рекомбинантного ИЛ-2 на фоне интерферонотерапии может способствовать устранению дисбаланса цитокиновой регуляции. ИЛ-2, являясь Тх1 цитокином, способен компенсировать проявления иммунной недостаточности, восстанавливать баланс Тх1/Тх2 – лимфоцитов в сторону Тх1, что ведет к регуляции продукции противо- и провоспалительных цитокинов и их содержания в сыворотке крови и биоптатах печени. ИЛ-2 активизирует продукцию ИЛ-2, γ -ИНФ, TNF- α , способствует уменьшению выработки ИЛ-1 β и ФНО- α . Кроме того, ИЛ-2 служит ростовым фактором для CD4+ (Тх1 и Тх2), а также CD8+ Т – лимфоцитов, которые пролиферируют под действием ИЛ-2. В отличие от ИЛ-4, способного стимулировать пролиферацию только CD4+ Тх2 клона, ИЛ-2 является ростовым фактором для обоих типов CD4+. CD4+ Тх1 также продуцируют ИЛ-2, который является для них ау-

токринным ростовым фактором, тогда как CD8+ не продуцируют данный цитокин, однако отвечают на его действие.

При применении рИЛ-2 повышается количество Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-цитотоксических, снижается иммунорегуляторный индекс и количество недифференцированных «нулевых» лимфоцитов. Также снижается количество В-лимфоцитов и иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA. Отмечается снижение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α .

Продукция и роль ИЛ-2 и ИНФ взаимосвязаны, они выполняют регуляторную роль в отношении друг друга. ИНФ способен не только вызвать повышение продукции эндогенного ИЛ-2, но и повысить экспрессию его рецепторов. ИЛ-2 стимулирует рост и дифференцировку ИКК, тем самым увеличивая число клеток-продуцентов ИНФ. ИНФ и ИЛ-2 потенцируют действие друг друга в отношении функции НК-клеток: ИНФ – повышает их активность в 2 раза, ИЛ-2 – превращает их в ЛАК.

Ряд исследований показал эффективность применения ИЛ-2 в комбинации с рибавирином или α -2а-ИНФ у пациентов с 1b генотипом HCV, ранее не ответивших на стандартную терапию (α -2а-ИНФ+рибавирин 12 мес), т.е. интерферонрезистентных.

В плацебо-контролируемом слепом исследовании с контролем вирусной нагрузки не только в сыворотке крови, но и в форменных элементах крови, было показано, что применение рИЛ-2 (монотерапия) способствует элиминации вируса из мононуклеаров периферической крови у 50% пролеченных больных. Таким образом, применение ИЛ-2 позволяет добиться подавления репликации и внепеченочно расположенных вирусов.

**Применение ИЛ-2 способно решить несколько проблем
неэффективности интерферонотерапии:**

- Преодоление толерантности рецепторов к ИНФ,
- Преодоление девиации иммунного ответа в сторону T χ 2-зависимого и стимулирование T χ -1 зависимого
- Подавление внепеченочной репликации вирусов
- Показана эффективность при инфицировании 1b генотипом HCV

Опыт применения Ронколейкина при ХВГ

Одним из препаратов рекомбинантного интерлейкина-2 является Ронколейкин®. Активной субстанцией Ронколейкина® является одноцепочечный полипептид из 133 аминокислот с молекулярной массой 15,3 \pm 0,2 кДа. Из существующих в мире рекомбинантных интерлейкинов-2 только Ронколейкин® является полным структурным и функциональным аналогом ИЛ-2 человека. Ронколейкин® создан на основе продуцента непатогенных штаммов дрожжей-сахаромицетов (*S. cerevisiae*) и не содержит токсичных компонентов. В отличие от западных аналогов, созданных на основе кишечной бактерии (*E. coli*), препарат хорошо переносится пациентами и практически не обладает побочными эффектами. Клинический опыт демонстрирует более высокую токсичность бактериальных препаратов по сравнению с дрожжевым ронколейкином. Лихорадка, тошнота, рвота, печеночная токсичность, наблюдаемые при их введении, не проявляются при использовании Ронколейкина®, инфузии которого могут сопровождаться лишь кратковременным подъемом температуры. Ронко-

лейкин® практически не имеет побочных эффектов в отличие от Пролейкина и легко переносится пациентами.

Наибольшее число данных в изучении целесообразности и эффективности лечения больных ХВГ С и В препаратом рИЛ-2, а также его переносимости получено при использовании режима монотерапии. Доза препарата была определена в 500 000 МЕ с кратностью введения 2 или 3 раза в неделю (или с интервалом в 48-72 часа между введениями). Препарат предлагалось вводить внутривенно капельно очень медленно (в течение 4-6 часов), что было сопряжено с большими неудобствами для пациента и медперсонала. Введение препарата подкожно (в 1 мл воды для инъекций) аналогично введению интерферона оказалось удобнее, давало меньше побочных эффектов (лихорадочная реакция при в/в введении при подкожном - отсутствовала), давала возможность больному получать курс лечения амбулаторно, не меняя обычного режима. Длительность лечения в первых исследованиях составляла 8 недель (на курс 14-6 инъекций). Наше мнение основывается на том, что длительность лечения должна зависеть от времени вирусологического ответа (отрицательные результаты ПЦР сыворотки крови) плюс 1-2 месяца, но не менее 8 недель.

Эффективность монотерапии Ронколейкином (14-16 введений в дозе 500 000 МЕ) в разных исследованиях оценивалась от 40% до 60% - первичная полная ремиссия (негативация ПЦР сыворотки крови сразу после окончания курса).

В большинстве исследований отдаленных исходов интерферонотерапии указывается на то, что после окончания курса терапии количество больных со стойкой ремиссией уменьшается со временем. Результаты терапии Ронколейкином® значительно улучшаются при обследовании в более поздние сроки после проведения терапии Ронколейкином®: число пациентов с нормализовавшимися показателями АЛАТ и негативацией ПЦР во всех исследованиях почти в два раза превышает результаты, полученные после ее окончания: длительная полная ремиссия у 73-80% больных в сроки до одного года после курса лечения.

У детей эффективность ронколейкина была выше, чем у взрослых пациентов: после окончания терапии первичная биохимическая ремиссия отмечалась у 90% детей, первичная негативация ПЦР - у 86,6%.

Лечение с применением ронколейкина было эффективным не только у больных, имеющих предикторы эффективности (например, умеренное повышение трансаминаз), но и у больных с нормальным уровнем трансаминаз.

При изучении действия препарата рИЛ-2 (Ронколейкина®) при ХВГС отмечены сдвиги клеточного иммунитета после применения препарата: возрастало количество CD3, CD4, CD16, CD25 лимфоцитов. После окончания терапии Ронколейкином® (8 недель) отмечено возрастание сывороточных уровней α -ИНФ до нормального ($17,5 \pm 2,7$ пг/мл), повышение уровня γ -ИНФ, достоверное снижение повышенных уровней α TNF, ИЛ-1 α и ИЛ-4 в сыворотках крови и биоптатах печени пациентов.

Следующим шагом на пути повышения эффективности терапии ХВГ (прежде всего ХВГ С) явилось использование комбинации двух цитокинов - α -ИНФ и рИЛ-2. Наш опыт применения ронколейкина (500 000 тыс. МЕ 1 раз в 3 дня) в сочетании с α -ИНФ (3 млн. МЕ 1 раз в 3 дня) в течение 2-4 месяцев в сравнении со стандартной интерферонотерапией у больных с системными (но не аутоиммунными) проявлениями HВV и HCV-инфекций показал, что:

– применение α -ИНФ+рИЛ-2 позволило достигнуть стойкого вирусологического ответа у 86,7% больных, в том числе у интерферонорезистентных пациентов;

– полное клиническое выздоровление с купированием всех симптомов наблюдалось у 80% больных, получивших α -ИНФ+рИЛ-2, в то время как у большинства больных, получивших монотерапию α -ИНФ сохранялись клинические проявления патологии внепеченочного характера.

– у больных наблюдалась к нормализации содержания CD3+, CD4+ CD8+ лимфоцитов при повышенном содержании CD16+, CD20+, CD95+ и адекватном повышении содержания CD25+ клеток с сохранением благоприятного баланса между апоптирующими и активными лимфоцитами (CD95/CD25+) уже на 2-3 месяце лечения.

В дальнейшем мы провели анализ иммунологических показателей больных ХВГ С и ХВГ В+С в зависимости от ответа на комбинированную терапию α -ИНФ+рИЛ-2. По результатам наблюдения и обследования в сроки до 2 лет больные, получившие комбинированную терапию были разделены на 2 группы: группу со стойким вирусологическим и биохимическим ответом; группу не ответивших на проведенное лечение (с положительными результатами ПЦР на HCV РНК и/или HBV ДНК в течение всего периода проведения лечения).

У больных с полным вирусологическим ответом на комбинированную терапию в сроки через 3 месяца после курса лечения наблюдается нормализация содержания CD3+, CD4+ лимфоцитов, значительное повышение всех популяций цитотоксических клеток (CD8+, CD16+, CD56+), В-лимфоцитов; повышение экспрессии всех активационных маркеров с устранением дисбаланса между апоптирующими и активированными лимфоцитам (CD95+/CD25+=1,0).

У больных с отсутствием ответа на комбинированную терапию к концу лечения наблюдается достоверное снижение абсолютного содержания CD56+ лимфоцитов; повышение относительного содержания CD16+ лимфоцитов и повышение содержания клеток, экспрессирующих активационные маркеры (CD95, CD25 и HLA-DR) относительно показателей контрольной группы; повышение резервов кислород-зависимой бактерицидной активности нейтрофильных фагоцитов.

Необходимо отметить, что наиболее выраженные положительные изменения в иммунологических показателях периферической крови больных, в полном и стойким ответом на лечение запаздывали от сроков негативации ПЦР на 3-4 месяца. Индивидуальная продолжительность лечения определялась именно по подавлению репликации HCV (или HCV и HBV) и исчезновению вирусемии. Таким образом, выраженная стимуляция иммунитета приходилась на тот период, когда введение экзогенных цитокинов уже прекращалось. Можно предположить, что при комбинированной терапии с использованием двух цитокинов, регулирующих активность противовирусных механизмов иммунной защиты, потенцирующих эффекты друг друга, достигается не просто подавление репликации вирусов гепатита, но и восстанавливается нормальный ответ иммунной системы на присутствие вирусов и их антигенов. Именно восстановление адекватной иммунной реактивности с активацией механизмов, обеспечивающих элиминацию вирусов, обеспечивало стойкий ответ на лечение у всех больных, у которых было достигнуто подавление репликации вирусов в период применения цитокинотерапии. Подтверждением этому служит тот факт, что ни в одном случае не наблюдалось возобновления репликации HCV (или

НСV и HBV) на протяжении достаточно длительного периода наблюдения (до 4 лет).

При вирусном гепатите С и В+С применение комбинированной терапии рИЛ-2 и α -ИНФ позволило сформировать адекватный уровень иммунной реактивности, что привело к достижению полного вирусологического ответа у 78,6% больных с минимальной и низкой активности инфекционного процесса.

Переносимость и побочные эффекты:

У больных, получивших комбинированную терапию ронколейкина+интерферон была менее выражена «гриппоподобная» реакция в ответ на введение интерферона – такая реакция наблюдалась у большинства больных только на первые 2-4 инъекции (в то время как при монотерапии интерфероном такая реакция наблюдается на первые 5-10 инъекций, иногда в течение всего курса). Снижения массы тела, характерного для интерферонотерапии, не наблюдалось ни у одного больного. Напротив, 4 больных отметили повышение массы тела на 2-4 кг, которое они связывали с улучшением самочувствия и повышением аппетита. В целом больные отмечали хорошую переносимость препаратов, в том числе больные с внутричерепной гипертензией и энцефалопатией. Все больные продолжали вести привычный образ жизни и продолжали работать.

В ответ на введение Ронколейкина+интерферон отмечалось:

- усиление головной боли – 10 больных
- недомогание, общая слабость в день инъекции – 2 больных
- повышение аппетита – 6 больных
- повышение массы тела – 4 больных
- повышение температуры на 1-1,5°C в ответ на 1-2-ю инъекцию интерферона – у 3 больных
- снижение массы тела – не было
- эйфории – не было

Выводы по результатам применения ронколейкина+интерферон

- ✓ Эффективность лечения ХВГ комбинацией Ронколейкин+интерферон сопоставима с вирусологической эффективностью стандартной схемы лечения интерфероном (у больных с РВО),
- ✓ Клиническая эффективность в отношении внепеченочных проявлений – значительно лучше
- ✓ Эффект был получен у ИНФ-резистентных больных
- ✓ Комбинация Ронколейкин+интерферон лучше переносится больными, в том числе больными с синдромом внутричерепной гипертензии
- ✓ Длительность лечения существенно короче стандартной – до 4 месяцев
- ✓ Стоимость лечения существенно ниже стандартной терапии интерфероном

Таким образом, многолетний опыт применения препаратов ИЛ-2 (монотерапии или в комбинации с интерфероном, аналогами нуклеозидов) показывает, что

pИЛ-2 может быть рекомендован в тех случаях, когда эффективность стандартной терапии α -ИНФ представляется сомнительной или интерферонотерапия противопоказана.

Схемы лечения ХВГ с использованием препаратов ИЛ-2

<p>Ронколейкин (рекомбинантный ИЛ-2) 500 тыс. МЕ п/к с интервалом 72 часа α-интерферон 3 млн МЕ п/к на следующий день после ронколейкина при хорошей переносимости – в тот же день Курс – от 2 мес (20 инъекций) до 4 мес. (40 инъекций) в зависимости от вирусологического ответа</p>
<p>Ронколейкин (рекомбинантный ИЛ-2) 500 тыс. МЕ п/к с интервалом 72 часа курсом 2-4 месяца</p>
<p>Ронколейкин (рекомбинантный ИЛ-2) 500 тыс. МЕ п/к с интервалом 72 часа курсом 2-4 месяца + рибавирин (ребетол) 1000-1200 мг/сут</p>
<p>Ронколейкин (рекомбинантный ИЛ-2) 500 тыс. МЕ п/к с интервалом 72 часа курсом 2-4 месяца + ламивудин (зэффикс) 300 мг/сут</p>
<p>При симптомах холестаза – урсодезоксихолевая кислота (урсосан, урсофальк)</p>

Показания к применению Ронколейкина (монотерапия или в сочетании):

- больные, не ответившие на интерферонотерапию
- при непереносимости и наличии противопоказаний к применению аналогов нуклеозидов и α -ИНФ*
- с внепеченочной репликацией возбудителей HBV- и HCV-инфекции
- с минимальной и низкой биохимической активностью ХВГ
- в детской практике с 1 года жизни*
- в начальной стадии цирроза печени*
- больные с синдромом внутричерепной гипертензии
- преодоление развивающейся резистентности к интерферону[^]
- больные с генотипом HCV 1b
- возможно, больные с HBe-мутантом

* - ронколейкин в монотерапии или в сочетании с аналогами нуклеозидов (рибавирин, ламивудин)

[^] - у больных на интерферонотерапии при отсутствии РВО дополнительно к интерферону

Побочные явления при использовании препарата обычно не наблюдаются, однако инфузии препарата могут сопровождаться ознобом и кратковременным повышением температуры тела. Риск развития аутоиммунной патологии при лечении ИЛ-2, как и при ИНФ-терапии требует особого контроля за иммунным статусом пациентов, функцией щитовидной железы.

Противопоказания к лечению:

- выраженная активность ХВГ (АЛТ более 10 норм),
- аутоиммунный гепатит; другие аутоиммунные заболевания.
- декомпенсированный цирроз печени
- развитие ГЦК
- декомпенсированные легочно-сердечные заболевания
- алкоголизм
- наркомания
- ВИЧ-инфекция
- беременность
- лица старше 60 лет

Обследование больных до начала лечения, в течение курса терапии и контроль эффективности лечения не отличаются от таковых при стандартной интерферонотерапии.