

ПРИМЕНЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С У ПАЦИЕНТОВ, НЕ ОТВЕТИВШИХ НА ПЕРВИЧНУЮ ПРОТИВОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

Фазылов В. Х., Ткачева С. В., Манапова Э. Р.

Казанский государственный медицинский университет, Россия, 420012, Казань, ул. Бутлерова 49

APPLYING OF RECOMBINANT INTERLEUKIN-1 β TO TREAT CHRONIC HEPATITIS C FOR PATIENTS, NON-RESPONSE TO THE PREVIOUS ANTIVIRAL THERAPY

Fazylov V. H., Tkacheva S. V., Manapova E. R.

Kazan state medical university, Russia, Butlerova str., 49, Kazan, Tatarstan, 420055

Фазылов
Вильдан Хайруллаевич
Fazylov Vildan H.
E-mail:
vildan47@rambler.ru

Фазылов Вильдан Хайруллаевич Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней КГМУ
Ткачева Светлана Васильевна Кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней КГМУ
Манапова Эльвира Равилевна Кандидат медицинских наук, ассистент кафедры инфекционных болезней КГМУ
Fazylov Vildan Hairullaevich, Doctor of Medical Science/Professor, Kazan state medical university
Tkacheva Svetlana Vasilevna, MD Ph.D., department of infectious diseases, Kazan state medical university
Manapova Elvira Ravilevna MD Ph.D., department of infectious diseases, Kazan state medical university

Резюме

Поиск рациональных методов лечения ХГС у пациентов, неответивших на первичную противовирусную терапию (ПВТ), преимущественно при неблагоприятных генотипах по интерлейкину-28В (ИЛ-28В), остается актуальным. Цель исследования: оценить эффективность и безопасность применения рекомбинантного ИЛ-1 β (Беталейкин®) в комбинированной ПВТ у пациентов с ХГС, неответивших на предыдущее лечение. Материалы и методы: в исследование было включено 26 пациентов с HCV-1. Пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от схемы повторной комбинированной терапии: 1 группа (n=10) получала рекомбинантный ИФН- α 2в (препарат Интэраль®-П) по 5 млн. МЕ ежедневно, подкожно (п/к) в течение 12 недель, затем через день до окончания лечения; рибавирин в зависимости от массы тела (800–1200 мг/сут) и Беталейкин® п/к по 0,005 мкг/кг через день в течение 12 недель (45 инъекций); 2 группа (n=16) — рекомбинантный ИФН- α 2в (препарат Интэраль®-П) по 3 млн. МЕ через день, п/к в течение 48 недель; рибавирин по 1000 мг/сут (для массы тела < 75 кг), по 1200 мг/сут (для массы тела > 75 кг) и Беталейкин® п/к по 0,005 мкг/кг через день, всего 5 курсов по 3 недели (50 инъекций). Результаты: комбинированная ПВТ (α -ИФН2в и рибавирин) ХГС с включением цитокинового препарата Беталейкин® у пациентов, неответивших на предыдущую терапию, с преобладанием неблагоприятного генетического фона по ИЛ-28В типированию способствовало повышению УВО (44%) с большей эффективностью 45-дневного введения препарата в первые 12 недель ПВТ в сочетании с индукционным методом α -ИФН-терапии и достижению биохимического ответа к 24 неделе лечения. Нежелательные явления препарата Беталейкин® ограничивались преимущественно лихорадочной и умеренной местной болевой реакциями, не требовавшие отмены терапии.

Ключевые слова: хронический гепатит С; противовирусная терапия; интерферон-альфа; рибавирин; интерлейкин-1 β ; интерлейкин-28В.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2014; 110 (10):64–69

Summary

The search for rational treatment of CHC patients, non-response to the primary antiviral therapy especially with unfavorable genotypes for interleukin-28B, remains valid. Purpose: to evaluate the efficacy and safety of recombinant IL-1β (Betaleukin®) in combined antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C who did not respond to previous treatment. The study included 26 patients with HCV-1. Patients were divided into 2 groups depending on retreatment scheme: group 1 (n=10) was treated with recombinant IFN-α2b («Interal»®-P) 5 million IU daily subcutaneously for 12 weeks then every other day until the end of treatment; ribavirin, depending on body weight (800–1200 mg/day) and «Betaleukin»® subcutaneously 0,005 mcg/kg every other day for 12 weeks (45 injections); group 2 (n=16) — recombinant IFN-α2b («Interal»®-P) 3 million IU every other day subcutaneously for 48 weeks; ribavirin — 1000 mg/day (for a body weight <75 kg), 1200 mg/day (for a body weight > 75 kg) and «Betaleukin»® subcutaneously 0,005 mcg/kg every other day, five courses for 3 weeks (50 injections). Results: Combined antiviral therapy (α-IFN2b and RIB) with IL-1β (Betaleukin®) in patients who had not responded to previous therapy, with a predominance of unfavorable genetic background for IL-28B typing helped to improve SVR (44%) with more efficient 45-day administration of the medications in the first 12 weeks in combination with inductive α-IFN therapy and achieve biochemical response at week 24 of treatment. Adverse effects of the IL-1β mainly limited with fever, moderate local reactions and do not require discontinuation of treatment.

Keywords: chronic hepatitis C; antiviral therapy; interferon alpha; ribavirin; interleukin -1β; interleukin -28B.

Экспериментальная и Клиническая Gastroenterologiya 2014; 110 (10):64–69

Сочетание пегилированного интерферона-альфа (ПегИФН-α) и рибавирина (РИБ) в этиотропной терапии хронического гепатита С (ХГС) у наивных пациентов применяется с 2001 года [1], с достижением устойчивого вирусологического ответа (УВО) при генотипе 1 HCV (HCV-1) у 40–50% пациентов. Определение генотипов пациента по интерлейкину — 28В (ИЛ-28В) позволяет прогнозировать при благоприятном генотипе СС полиморфизма rs12979860 ИЛ-28В получение УВО у 70–80% больных, получающих в течение 48 недель ПегИФН-α и РИБ [2]. Ежедневное введение стандартных интерферонов-альфа (ИФН-α) в высоких дозах часто и не без успеха используется в практической медицине, поскольку авторы во многом ориентируются на аналогичные исследования за рубежом, где в качестве основного аргумента подобного терапевтического режима рассматривается их максимальное приближение к профилю ПегИФН-α [3–5]. Остается актуальным поиск рациональных методов терапии ХГС у «неответчиков», так как даже использование у них ингибиторов протеаз в комбинированной терапии позволяет достичь УВО у 29–88% пациентов в зависимости от вариантов ответа на предыдущую противовирусную терапию (ПВТ) [6–9]. Вирус гепатита С имеет механизмы противодействия защитным реакциям

организма за счет блокирования биологического действия ИФН-α, что может быть причиной «неответа» на терапию. В то же время известно, что в осуществлении противовирусной активности помимо ИФН-α участвуют и другие цитокины, в частности интерлейкин-1β (ИЛ-1β). Иммуностимулирующее действие и способность индуцировать продукцию ИФН лежат в основе противовирусной активности ИЛ-1β [10,11,12]. Однако наиболее интересными являются данные о том, что сам ИЛ-1β обладает прямым ингибирующим действием на репликацию HCV в клетках гепатомы человека [13]. В ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России (Санкт-Петербург) в 1995 г. разработана лекарственная форма рекомбинантного ИЛ-1β человека — препарат Беталейкин®, разрешенный к клиническому использованию в качестве иммуностимулятора при вторичных иммунодефицитных состояниях. В пилотном исследовании [14] частота УВО составила 32,5% при включении рекомбинантного ИЛ-1β в комплексную ПВТ пациентов с ХГС при отсутствии УВО на предшествующую комбинированную ПВТ ПегИФН-α или стандартным ИФН-α и рибавирином.

Цель исследования: оценить эффективность и безопасность применения рекомбинантного ИЛ-1β (Беталейкин®) в комбинированной ПВТ пациентов с ХГС, неответивших на предыдущее лечение.

Материал и методы исследования

В исследование было включено 26 пациентов (69% мужчин и 31% женщин) с HCV-1, неответивших на первичную ПВТ. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от схемы повторной комбинированной терапии и сопоставимы по основным исходным показателям (табл. 1). Первичная ПВТ была проведена у 30% больных стандартными ИФН-α2в,

у 70% — пегилированными ИФН-α (ПегИФН-α2а, ПегИФН-α2в) в сочетании с рибавирином.

Схемы повторной комбинированной ПВТ в исследуемых группах представлены в табл. 2.

Диагноз ХГС устанавливался на основании эпидемиологических, клинико-лабораторных данных и подтверждался выявлением специфических

Таблица 1.
Исходные показатели пациентов.

Характеристика пациентов	1 группа (n=10)	2 группа (n=16)
Мужчины, n (%)	7 (70)	11(69)
Возраст (годы, M±m)	35,0±2,56	33,0±2,11
Срок инфицирования (годы, M±m)	10,7±1,5	7,63±0,1
ИМТ (M±m)	24,2±1,25	23,0±1,02
Вирусная нагрузка РНК-НСV, n (%)		
-<400000 МЕ/мл	6 (60)	7 (44)
->400000 МЕ/мл	4 (40)	9(56)
АлАТ (M±m), ед/л	59,06±3,7	48,6±5,35
Степень фиброза по METAVIR, n(%) ≤F3	10 (100%)	16(100%)
Первичная комбинированная ПВТ:		
- стандартные ИФН-α2в	4(40%)	4 (25%)
- PegИФН-α2а, PegИФН α2в	6(60%)	12(75%)

Таблица 2.
Схемы противовирусной терапии у пациентов исследуемых групп.

I группа (n=10)	II группа (n=16)
Стандартный ИФНα2в («ИНТЕРАЛЬ-П») по 5 млн МЕ/сут. в течение 12 недель, затем по 5 млн. МЕ/сут. через день до окончания терапии. Курс 48 недель.	Стандартный ИФНα2в («ИНТЕРАЛЬ-П») по 3 млн МЕ/сут. через день в течение 48 недель.
РИБАВИРИН: 15мг/кг/сут. (800-1200 мг/сут.)	РИБАВИРИН по 1000 мг/сут. (для массы тела <75 кг) и по 1200 мг/сут. (для массы тела >75 кг)
ИЛ-1 бета («БЕТАЛЕЙКИН») по 0,005 мкг/кг подкожно через день в течение первых 12 недель (45 инъекций)	ИЛ-1 бета («БЕТАЛЕЙКИН») — 10 подкожных инъекций по 0,005 мкг/кг через день, всего 5 курсов по 3 недели (50 инъекций)

маркеров инфицирования HCV методом ИФА; детекцией РНК-НСV с чувствительностью качественного метода ПЦР для обнаружения РНК-НСV 100 МЕ/мл, количественного — 275 МЕ/мл. Всем пациентам, как в ходе подготовки к терапии, так и на ее фоне (4, 12, 24, 48 недели ПВТ), а также через 24 недели после ее окончания проводился следующий комплекс исследований: общепринятые методы (определение спектра антител к HCV в ИФА, функциональные пробы печени, протеинограмма, общий анализ крови, общий анализ мочи и т.д.); ПЦР-детекция и генотипирование РНК-НСV; оценка функции щитовидной железы (определение гормонов: ТТГ, Т4 свобод., Т3 свобод., АТПО и ультразвуковое исследование); анализ крови на аутоантитела (ANA, AMA, ASMA, LKM); УЗИ органов гепатобилиарной зоны, фиброэластометрия печени. Выявление полиморфизма единичных нуклеотидов (ПЕН) в локусах rs8099917 и rs12979860 гена ИЛ-28В проводилось с помощью набора реагентов «АмплиСенс Геноскрин-IL28B-FL» (лаборатория

вирусных гепатитов отделения молекулярной диагностики ЦНИИЭ г. Москва — зав. лаб. Чуланов В. П.). Показатель ИЛ-1β до лечения определялся в сыворотке крови методом твердофазного ИФА (использована тест-система ООО «Цитокин»). В исследование не включались: лица с аутоиммунными и другими хроническими декомпенсированными системными заболеваниями; пациенты с микст-гепатитами; с циррозом печени, а также имеющие степень фиброза больше F3 (по результатам фиброэластометрии по шкале METAVIR); больные с алкогольной болезнью или принимающие алкоголь, психоактивные вещества (ПАВ); с нейтропенией <1500 кл/мкл, тромбоцитопенией <90 тыс. кл/мкл, низкой концентрацией гемоглобина для женщин — <120 г/л, для мужчин — <130 г/л, а также беременные и кормящие женщины; мужчины, имеющие беременных половых партнеров.

Статистическую обработку данных проводили с использованием «MS Excel-2003» и подсчетом критерия Стьюдента (t).

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании цитокинового профиля у пациентов до лечения показатели ИЛ-1β были достоверно ниже по сравнению с показателями здоровых лиц (5,2±2,12 и 41,7±16,4 пкг/мл, p<0,001, соответственно) без статистических различий между группами, что способствовало формированию показателей к назначению препарата Беталейкин*.

В последние годы ведется поиск предикторов эффективности ПВТ. Наряду с вирусной нагрузкой, генотипом вируса, стадией фиброза, все большее внимание клиницистов привлекает возможность персонализированного подхода к лечению

заболевания, основанного на проведении генотипирования самого хозяина, и таким образом, определения предрасположенности к исходу терапии. В ходе проведенного генетического анализа (рис.1) выявлено, что в 1-й группе все больные имели неблагоприятные генотипы по ИЛ-28В, а во 2-й — благоприятный генотип СС полиморфизма rs12979860 отмечен лишь у одного пациента (6,3%) .

Динамика вирусологического ответа представлена на рис.2. Быстрый вирусологический ответ получен у 22,2% больных в 1-й группе и у 6,3% во 2-й; ранний вирусологический ответ — у 55,6% и 56,0%

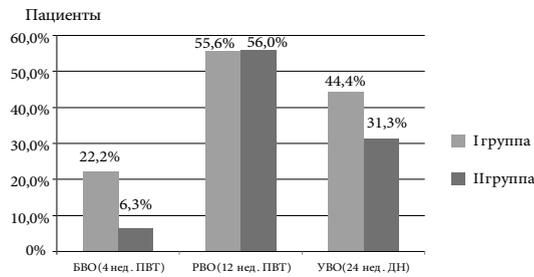
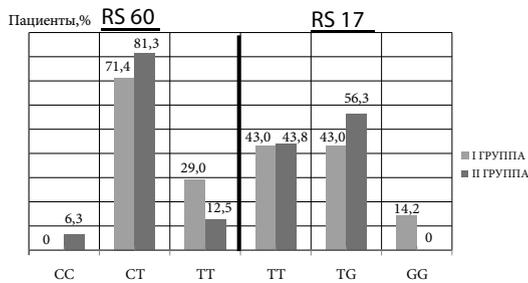


Рисунок 1. Частота распределения генотипов СС, СТ, ТТ (rs12979860) и ТТ, ТG, GG (rs8099917) ИЛ-28В у пациентов ХГС.

Рисунок 2. Динамика вирусологического ответа у больных ХГС в исследуемых группах.

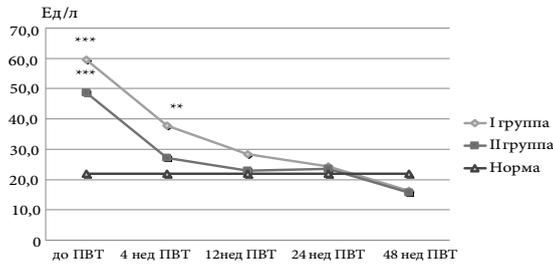


Рисунок 3. Показатели АлАТ у пациентов с ХГС до и на фоне ПВТ.

Примечание: ** (p<0,01), *** (p<0,001) -показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц.

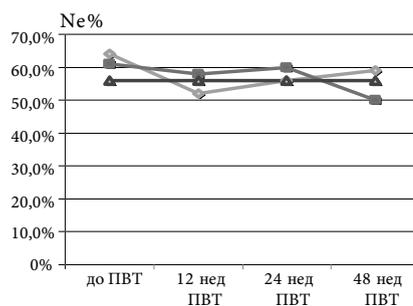
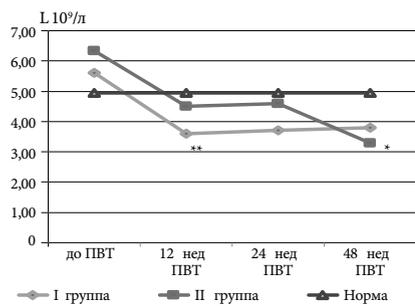


Рисунок 4. Динамика показателей лейкоцитов и нейтрофилов до и на фоне ПВТ. * (p<0,05), ** (p<0,01) -показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц.

пациентов, соответственно; УВО достигнут у 44,4% больных 1-й и 31,3% — 2-й группы. Опираясь на литературные данные [12,14], мы предполагаем, что применение рекомбинантного ИЛ-1β в комбинации с блокирующим действием вируса гепатита С на биологическую активность ИФН-α. Индукционный метод введения стандартного ИФН-α сохраняет оптимальный баланс между противовирусной активностью и длительностью периода полувыведения «короткоживущих» ИФН-α, способствуя повышению вирусологического ответа [4].

Показатели аланинаминотрансферазы (АлАТ) до начала ПВТ были достоверно выше (p<0,001) уровня здоровых лиц в обеих группах. К 4 неделе терапии уровень АлАТ в 1-й группе составил 37,9±4,65 ед/л, во 2-й группе — 27,1±4,22 ед/л; на 24 неделе ПВТ: 24,43±4,08 ед/л и 23,62±3,39 ед/л, соответственно. На 48 неделе лечения у всех больных показатели АлАТ достигали уровня здоровых лиц.

Результат УВО на повторную ПВТ зависит от варианта ответа на предыдущее лечение. Анализ структуры УВО в исследуемых группах в зависимости от вирусологического ответа при первичной ПВТ, который определялся наличием РНК ВГС в крови больных при исследовании в контрольных точках — 4, 12, 24 и 48 нед — на фоне первичной ПВТ показал, что существенно хуже были результаты при исходном «нулевом» ответе (в 1-й группе — у 25% пациентов, во 2-й — отсутствовал) по сравнению с пациентами, имевшими частичный

ответ (в 1-й группе — у 100%, во 2-й — у 50% больных) или рецидив (50% и 42,9%, соответственно) при первичной ПВТ.

Мы провели анализ показателей периферической крови в исследуемых группах. До начала ПВТ показатели периферической крови пациентов не отличались от уровня здоровых лиц. На фоне противовирусного лечения миелосупрессивный эффект наблюдался по всем исследуемым параметрам крови в обеих группах, который не потребовал снижения доз препаратов или отмены терапии.

В 1-й группе, где больные получали индукционный метод терапии ИФН-α2в, к 12 неделе лечения отмечается достоверное снижение (p<0,01) лейкоцитов с дальнейшим повышением к его окончанию, в отличие от пациентов 2-й группы, где наблюдалось более постепенное снижение показателей как лейкоцитов, так и нейтрофилов (рис.4).

Анемия регистрировалась с 12 недели терапии и сохранялась в течение всего курса лечения у пациентов обеих групп (рис.5); отмечалось достоверное (p<0,05) снижение эритроцитов и гемоглобина (p<0,01- p<0,001) на фоне ПВТ.

Необходимо отметить, что к 24 неделе диспансерного наблюдения все пациенты, достигшие УВО, имели нормальные показатели лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина.

Особая динамика тромбоцитов наблюдалась в 1-й группе, где исходный уровень показателей был достоверно (p<0,05) ниже уровня здоровых лиц, такая же тенденция сохранялась до 12 недели

Рисунок 5.
Динамика показателей эритроцитов и гемоглобина до и на фоне ПВТ.
* (p<0,05), ** (p<0,01), *** (p<0,001) -показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц.

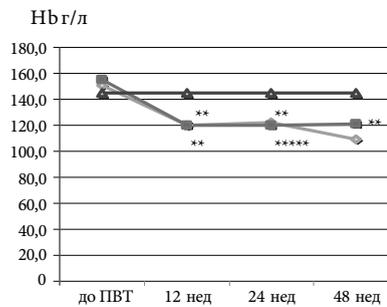
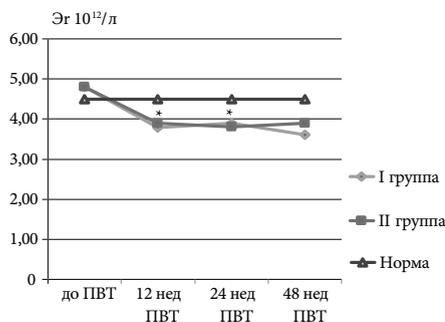


Рисунок 6.
Динамика показателей тромбоцитов до и на фоне ПВТ.
* (p<0,05) — показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц.

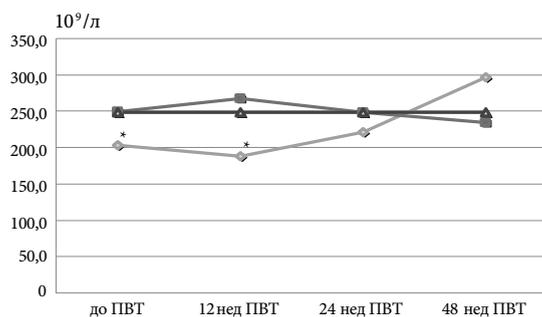


Рисунок 7.
Частота выявления нежелательных явлений на фоне ПВТ в I группе.

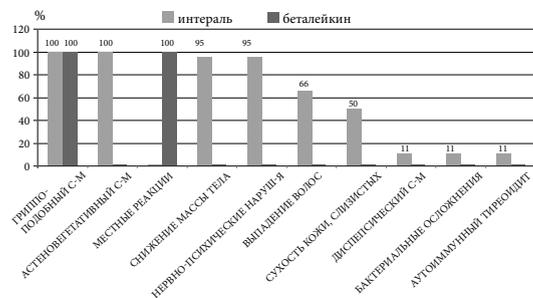
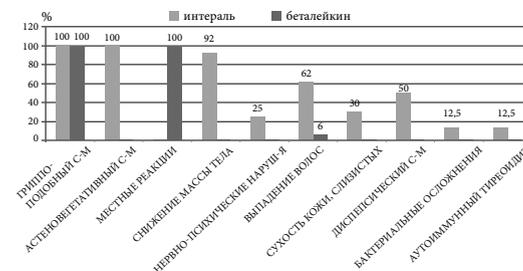


Рисунок 8.
Частота выявления нежелательных явлений на фоне ПВТ в II группе.



лечения. Затем число тромбоцитов стало увеличиваться и к 48 неделе превысило уровень здоровых. У пациентов 2-й группы не отмечалось достоверного снижения числа тромбоцитов по сравнению с исходными данными ни на одном сроке терапии (рис.6).

Представленные выше результаты лабораторного мониторинга состояния пациентов свидетельствуют о безопасности включения рекомбинантного ИЛ-1β в комплексную ПВТ пациентов с ХГС. Выявленные гематологические изменения закономерны и соответствуют побочным реакциям, указанным в инструкциях по применению препаратов ИФН-α2в и рибавирина.

В соответствии с поставленной целью нами проанализированы нежелательные явления (НЯ), возникшие у больных в ходе терапии (рис.7,8). Сравнительный анализ в зависимости от применяемой схемы терапии выявил близкую частоту регистрации НЯ у пациентов обеих групп.

Заключение

Включение цитокинового препарата ИЛ-1β (Беталейкин*) в комбинированную ПВТ (α-ИФН2в и рибавирин) ХГС у пациентов, не ответивших на предыдущую терапию, с преобладанием неблагоприятного генетического фона по ИЛ-28В типированию способствовало повышению УВО (44%) с большей эффективностью 45-дневного введения

В исследовании не выявлено ни одного случая серьезной нежелательной реакции или неподвижной нежелательной реакции. У всех больных наблюдалась нежелательная реакция в виде гриппоподобного синдрома разной степени выраженности, которая соответствует описанным побочным эффектам в инструкциях по медицинскому применению препаратов Интераль-П* и Беталейкин*. Снижение массы тела отмечалось у 95% пациентов в 1-й группе и у 92% во 2-й, нервно-психические нарушения (раздражительность, бессонница, сонливость и т.д.) зафиксированы у 66% и 62% больных, соответственно. В области подкожного введения рекомбинантного ИЛ-1β через 4–6 ч, как правило, появлялись гиперемия и слабо выраженный инфильтрат, которые не являлись проявлением инфицирования и не требовали врачебного вмешательства. Выраженные побочные явления купировались введением парацетамола или нестероидных противовоспалительных препаратов.

препарата в первые 12 недель лечения в сочетании с индукционным методом α-ИФН-терапии и достижению биохимического ответа к 24 неделе лечения. Нежелательные явления препарата Беталейкин* ограничивались преимущественно лихорадочной и умеренной местной болевой реакциями, не требовавшие отмены терапии.

Литература

1. *Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC. et al, and the International Hepatitis Interventional Therapy Group.* 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. Abstract.
2. *Rauch A, Kutalik Z, Descombes P et al.* Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genomewide association study. *Gastroenterology*, 2010; 138: 1338–1345.
3. *Bruno R., Brunetti E., Maffezzini E. et al.* Daily dose interferon for chronic hepatitis C: a prospective randomized study. *Hepatology*, 1998; vol. 28: (4). pt.2. P. 572A, abstr. 1637.
4. *Еналеева Д. Ш., Фазылов В. Х., Созинов А. С.* Хронические вирусные гепатиты В, С и D. — М: «Мед-пресс-информ», 2011. — 464 с.
5. *Никитин И. Г., Гогова Л. М., Байкова И. Е. и соавт.* Человеческий лейкоцитарный альфа-интерферон в комбинированной терапии больных хроническим гепатитом С, инфицированных не 1-м генотипом вируса. *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*, 2009, 1, с. 33–37.
6. *Jacobson I. M, McHutchinson J., Dusheiko G. et al.* Telaprevir for previously untreated chronic Hepatitis C Virus Infection. *N Engl J Med*, 2011, 364;25, 2405–2416.
7. *Zeuzem S. et al.* Telaprevir for Retreatment of HCV Infection. *N Engl J Med*, 2011;364:241728.
8. *EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection.* *Journal of Hepatology*, 2011, vol.55, pp.245–264.
9. *Ghany M., Nelson D., Strader D. et al.* 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, vol.54, No. 4, pp. 1433–1444.
10. *Кузнецов Н. И., Кабанова В. И., Конусова В. Г. и соавт.* Результаты использования рекомбинантных препаратов интерлейкина-1 бета и интерферона альфа-2b в терапии больных хроническим вирусным гепатитом С. *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*, 2006, № 5, с.8–14.
11. *Симбирцев А. С.* Интерлейкин-1: от эксперимента в клинику / А. С. Симбирцев // *Медицинская иммунология*, 2001, т.3, № 3, с.431–438
12. *Симбирцев А. С.* Интерлейкин-1. Физиология. Патология. Клиника. — СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2011. — 480 с.
13. *Zhu H., Liu C.* Interleukin-1 inhibits hepatitis C virus subgenomic RNA replication by activation of extracellular regulated kinase pathway. *J. Virology*, 2003, vol.77, pp.5493–5498.
14. *Лобзин Ю. В., Жданов К. В., Симбирцев А. С. и соавт.* Эффективность и безопасность тройной терапии с использованием рекомбинантного интерлейкина-1β, рекомбинантного интерферона-α и рибавирина у пациентов с хроническим гепатитом С, инфицированных генотипом 1, с отсутствием ответа на предшествующее лечение интерфероном и рибавирином. *Журнал инфектологии*, 2012, т. 4, № 4, с. 81–89.