



Lionel Rostaing

Lionel Rostaing, MD, PhD¹⁻³, Jacques Izopet, PharmD, PhD²⁻⁴, Nassim Kamar, MD, PhD¹⁻³

¹Department of Nephrology, Dialysis and Organ Transplantation, CHU Rangueil, Toulouse, France / ¹Кафедра нефрологии, диализа и трансплантации органов, CHU Rangueil, Тулуза, Франция

²INSERM U1043, IFR-BMT, CHU Purpan, Toulouse, France / ²INSERM U1043, IFR-BMT, CHU Purpan, Тулуза, Франция

³Université Paul Sabatier, Toulouse, France / ³Университет Поля Сабатье, Тулуза, Франция

⁴Department of Virology, CHU Purpan, Toulouse, France / ⁴Отдел вирусологии, CHU Purpan, Тулуза, Франция

HEPATITIS C VIRUS INFECTION IN NEPHROLOGY PATIENTS

ГЕПАТИТ С-ВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ У НЕФРОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

Introduction

Hepatitis C virus (HCV) infection leads to chronic liver disease, but also to extra-hepatic manifestations [1]. These include mixed cryoglobulinemia, lymphoproliferative disorders, and renal disease. HCV infection has been reported in association with distinct histological patterns of glomerulonephritis in native kidneys [2]. Membranoproliferative glomerulonephritis (MPGN) associated with type II cryoglobulinemia is the predominant type of HCV-related glomerulonephritis [3]. Less common glomerulonephritis diseases have also been reported in HCV-infected patients: these include MPGN without cryoglobulinemia [4], membranous glomerulonephritis (MGN) [4], focal segmental glomerular sclerosis [5–7], proliferative glomerulonephritis [4, 8, 9], and fibrillary [10, 11] and immunotactoid glomerulopathies [11]. Other anecdotal case reports have been also published: HCV-related IgA nephropathy [12], rapidly progressive glomerulonephritis [13], and thrombotic microangiopathy associated with cryoglobulinemic MPGN [14]. However, whether a causative effect between these glomerular diseases and HCV infection exists is still unknown.

Kidney biopsies were performed in HCV-positive patients before liver transplantation and in autopsy cases of patients infected by HCV. Different patterns of HCV-related glomerulonephritis were found in the majority of patients [15, 16].

Following renal transplantation, some glomerulonephritis can recur on the graft [17] and several occurrences of *de novo* glomerulone-

Введение

Вирус гепатита С (ВГС, hepatitis C virus — HCV) приводит к хроническому заболеванию печени, но имеет и внепеченочные проявления [1]. Они включают в себя смешанные криоглобулинемии, лимфопролиферативные заболевания и заболевания почек. HCV-инфекция была описана в связи с различными гистологическими формами гломерулонефрита родных (нетрансплантированных. — *Прим. ред.*) почек [2]. Мембранопротролиферативный гломерулонефрит (МПГН), связанный с криоглобулинемией II типа, является преобладающим типом HCV-ассоциированных гломерулонефритов [3]. Менее распространенные формы гломерулонефрита также описаны у ВГС-инфицированных пациентов: они включают МПГН без криоглобулинемии [4], мембранозный гломерулонефрит (МГН) [4], фокальный сегментарный гломерулосклероз [5–7], пролиферативный гломерулонефрит [4, 8, 9], фибриллярные [10, 11] и иммунотактоидные гломерулопатии [11]. Отдельные сообщения касаются и HCV-ассоциированных IgA-нефропатий [12], быстро прогрессирующего гломерулонефрита [13] и тромботической микроангиопатии, связанной с криоглобулинемическим МПГН [14]. Однако существует ли причинная связь между этими гломерулярными заболеваниями и вирусным гепатитом С, до сих пор неизвестно.

Биопсии почки выполнялись у HCV-позитивных пациентов перед трансплантацией печени и в случаях вскрытия пациентов, инфицированных ВГС. Различные виды HCV-ассоциированных гломерулонефритов были найдены у большинства пациентов [15, 16].

© Lionel Rostaing, Jacques Izopet, Nassim Kamar, 2013

© «Почки», 2013

© Заславский А.Ю., 2013

phritis associated with HCV infection have been reported. In addition to the HCV-related glomerulopathy described above in native kidneys, acute transplant glomerulopathy [5], chronic transplant glomerulopathy [5, 18], and renal thrombotic microangiopathy associated with anticardiolipin antibodies [19] have been also previously described. In order to avoid HCV infection recurrence on the kidney allograft, it is advisable to treat with antiviral therapy, i.e. alpha-interferon (α -IFN) with or without ribavirin (RBV), those HCV (+)/RNA (+) dialysis patients who are candidates for kidney transplantation.

Herein, we provide an overview of renal diseases related to HCV and their therapies, as well as the treatment options available for HCV (+)/RNA (+) dialysis patients. We will not mention, however, HCV infection-related complications in the post-kidney transplantation setting.

Membranoproliferative glomerulonephritis

More than 80 % of patients with mixed cryoglobulinemia are infected by HCV, and cryoglobulinemia is found in all patients with HCV-related MPGN [3]. Cryoglobulins of types I, II, and III are immunoglobulins that precipitate at cold temperature. HCV-associated cryoglobulinemic glomerulonephritis, often with type II cryoglobulinemia, is related to the deposition in the glomerulus of immune complexes made by the HCV antigen, anti-HCV immunoglobulin (Ig) G antibodies, and a rheumatoid factor, which in most cases is an IgM kappa. Clinically, patients present with proteinuria and microscopic hematuria. Nephrotic syndrome and acute nephritic syndrome, with rapid deterioration of renal function, are observed in, respectively, 20 and 25 % of patients [3, 20]. Fifty percent of patients have moderate renal insufficiency [3], and hypertension is present in 80 % of patients [20]. HCV-related cryoglobulinemic renal disease is often associated with extra-renal manifestations. The most frequently observed are purpura, arthralgia, and peripheral neuropathy [21].

Laboratory parameters reveal the presence of circulating cryoglobulins, which are most commonly type II cryoglobulins in which the rheumatoid factor is an IgM kappa. The complement components, C4 and C1q, are usually low. Serum C3 level is also moderately decreased. Serum anti-HCV antibodies and HCV RNA are detected in both the serum and the cryoprecipitate. HCV RNA concentrates in cryoprecipitate are ~1000 fold higher than in the serum. Histological examination of kidney biopsies usually reveals the presence of glomerular infiltration by activated mac-

После трансплантации почек некоторые гломерулонефриты могут рецидивировать в трансплантате [17], также зарегистрированы несколько случаев *de novo* гломерулонефрита, ассоциированного с ВГС-инфекцией. В дополнение к HCV-связанным гломерулопатиям, описанным в родных почках, острая гломерулопатия трансплантата [5], хроническая гломерулопатия трансплантата [5, 18] и почечная тромботическая микроангиопатия, связанная с антикардиолипидными антителами [19], также были ранее представлены в литературе. Во избежание рецидива HCV-инфекции в почечном аллотрансплантате целесообразно проводить противовирусную терапию альфа-интерфероном (α -ИФН) с рибавирином (RBV) или без него тем HCV-позитивным/РНК-позитивным диализным пациентам, которые являются кандидатами на трансплантацию почки.

Ниже мы представляем обзор почечных заболеваний, связанных с ВГС, их терапии, а также доступных вариантов лечения гепатита у HCV-позитивных/РНК-позитивных диализных пациентов. Однако мы не будем рассматривать HCV-зависимые осложнения периода после трансплантации почки.

Мембранопролиферативный гломерулонефрит

Более 80 % больных со смешанной криоглобулинемией инфицированы ВГС, криоглобулинемию также выявляют у всех пациентов с HCV-связанным МПГН [3]. Криоглобулины I, II, III типов являются иммуноглобулинами, которые осаждаются при низкой температуре. ВГС-ассоциированный криоглобулинемический гломерулонефрит, часто с криоглобулинемией II типа, связан с отложением в клубочках иммунных комплексов, содержащих HCV-антиген, анти-HCV иммуноглобулиновые (Ig) G-антитела и ревматоидный фактор, которым в большинстве случаев является IgM каппа. Клинически пациенты имеют протеинурию и микроскопическую гематурию. Нефротический синдром и острый нефритический синдром с быстрым ухудшением функции почек наблюдается соответственно у 20 и 25 % пациентов [3, 20]. Пятьдесят процентов пациентов имеют умеренную почечную недостаточность [3], гипертензия присутствует у 80 % пациентов [20]. HCV-связанная криоглобулинемическая болезнь почек часто ассоциируется с внепочечными проявлениями. Наиболее часто наблюдаются пурпура, артралгии и периферическая нейропатия [21].

Лабораторные показатели указывают на наличие циркулирующих криоглобулинов, которые чаще всего представлены криоглобулинами II типа, содержащими ревматоидный фактор IgM каппа. Компоненты комплемента, C4 и C1q, как правило, низкие. Сывороточный уровень C3 также умеренно снижен. Сывороточные анти-HCV антитела и РНК вируса гепатита С обнаруживаются как в сыворотке крови, так и в криопреципитате. Концентрация РНК вируса гепатита С в криопреципитате примерно в 1000 раз выше, чем в сыворотке крови. Гистологическое исследование почечных биоптатов обычно указывает на присутствие инфильтрации клубочков активированными макрофагами. Гломерулярная базальная мембрана име-

rophages. The glomerular basement membrane shows double contours, which are caused by the interposition of monocytes between the basement membrane and the endothelium. Immunofluorescence exhibits subendothelial deposits of IgM, IgG, and the complement components. On electron microscopy, large subendothelial deposits are present. Vasculitis of small renal arteries is present in 30 % of cases. A Japanese group demonstrated the glomerular deposition of HCV core antigen in patients with MPGN [22]. In general, the renal prognosis is good [20]; however, renal disease is the first cause of morbid-mortality in patients with mixed cryoglobulinemia [20].

Some authors have reported many cases of MPGN without cryoglobulinemia [23, 24]. However, the majority of patients who presented with this renal disease had rheumatoid factor in the sera, and some of them developed cryoglobulinemia on follow-up. This suggests that cryoglobulins were already present in the sera, possibly at very low levels, and so were not detected initially. Several later studies failed to find any association between MPGN and HCV in the absence of cryoglobulinemia [3, 5, 25].

HCV-related MPGN associated with type III mixed cryoglobulinemia has also been reported [26].

Membranous glomerulonephritis

Several cases of MGN have been described in HCV-infected patients [6, 27, 28]. The clinical presentation and the histological findings are similar to idiopathic MGN. Biologically, they are characterized by normal complement levels, and the absence of cryoglobulins and rheumatoid factors in the serum. A Japanese group detected HCV core protein in the glomeruli of two patients with MGN, suggesting that immune complexes containing HCV proteins might be deposited in the glomeruli [29]. In one study from Japan, 8.3 % of patients with MGN were anti-HCV (+)/HCV RNA positive compared with fewer than 1 % in patients with other glomerulonephritis patterns (excluding MPGN). Finally, the prevalence of MGN was found to be significantly higher in HCV-positive compared to HCV-negative renal-transplant patients [30]. These findings support a possible pathogenic role of HCV in the development of MGN.

HCV-related renal disease in cases of comorbid conditions *Human immunodeficiency virus (HIV) infection*

Few data regarding glomerular lesions in patients with coexisting HIV and HCV infections

ет двойные контуры, что обусловлено проникновением моноцитов между базальной мембраной и эндотелием. При иммунофлюоресценции выявляются субэндотелиальные депозиты IgM, IgG и компоненты комплемента. При электронной микроскопии видны большие субэндотелиальные депозиты. Васкулит малых почечных артерий присутствует в 30 % случаев. Японская группа исследователей продемонстрировала осаждения ядерного антигена вируса гепатита С у больных с МПГН [22] в клубочках. В целом почечный прогноз является благоприятным [20], однако заболевание почек остается ведущей причиной заболеваемости/смертности у больных со смешанной криоглобулинемией [20].

Некоторые авторы сообщают о множественных случаях МПГН без криоглобулинемии [23, 24]. Тем не менее у большинства пациентов с этим заболеванием почек находят ревматоидный фактор в сыворотке крови, а у некоторых из них в последующем выявляется криоглобулинемия. Это говорит о том, что криоглобулины уже присутствовали в сыворотке крови, возможно, на очень низком уровне, и поэтому не были обнаружены на начальном этапе. В нескольких более поздних исследованиях не удалось найти связь между МПГН и ВГС при отсутствии криоглобулинемии [3, 5, 25].

Об HCV-ассоциированном МПГН, связанном с III типом смешанной криоглобулинемии, также сообщалось в литературе [26].

Мембранозный гломерулонефрит

Несколько случаев МГН были описаны у ВГС-инфицированных пациентов [6, 27, 28]. Клинические проявления и гистологические признаки являются схожими с идиопатическим МГН. Биохимически они характеризуются нормальным уровнем комплемента и отсутствием криоглобулинов и ревматоидного фактора в сыворотке крови. Японской группой исследователей обнаружен ядерный протеин ВГС в клубочках двух пациентов с МГН, предполагается, что иммунные комплексы, содержащие белок ВГС, могут сохраняться в клубочках [29]. В одном исследовании, проведенном в Японии, 8,3 % больных с МГН были анти-HCV-положительными/РНК ВГС-положительными по сравнению с менее чем 1 % пациентов с другими типами гломерулонефритов (без учета МПГН). Наконец, распространенность МГН оказалась значительно выше у HCV-положительных пациентов, перенесших трансплантацию почки, по сравнению с HCV-негативными [30]. Эти данные подтверждают возможную патогенетическую роль вируса гепатита С в развитии МГН.

HCV-связанные болезни почек при сопутствующих заболеваниях *Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция)*

Было опубликовано мало данных о клубочковых поражениях у больных с сопутствующей ВИЧ-инфекцией и гепатитом С. Биопсии почек, выполненные у ВИЧ/ВГС-инфицированных пациентов с гематурией, нефротической протеинурией, почечной недостаточностью и

have been published. Renal biopsies performed in HIV-HCV co-infected patients presenting with hematuria, nephrotic range proteinuria, renal insufficiency, and hypertension have revealed the presence of type I or type III MPGN, MGN, or mesangial proliferative glomerulonephritis [12, 31–33]. Cryoglobulinemia was detected in some of patients with MPGN, and hypocomplementemia was found in the majority of them. The clinical course of HCV-related renal disease in patients co-infected by HIV is characterized by a rapid progression to renal failure [32]. The optimal treatment of these patients is unknown. Anti-HCV therapy might be the treatment of choice.

Diabetic nephropathy

A high prevalence of HCV infection was found in patients with type II diabetic-related nephropathy [34]. The slope of reciprocal serum creatinine was significantly greater in the HCV-positive than in HCV-negative patients with type II diabetic-related glomerulosclerosis. HCV infection was an independent factor associated with the slope of reciprocal serum creatinine [34]. The authors concluded that HCV infection might alter the progression of diabetic-related nephropathy [34]. HCV was also found to be a predictor factor of poorer renal survival in diabetic patients [35]. The mechanism of this observation is unknown.

Diagnosis

Patients infected by HCV should be routinely screened for microalbuminuria, microscopic hematuria, hypertension, and renal function, as well as for cryoglobulinemia, complement factors, and rheumatoid factor. A kidney biopsy should be performed in cases of proteinuria, impairment of renal function, or cryoglobulinemia. This strategy will allow us to detect silent glomerular disease that is related to HCV at an early stage.

Similarly, patients with MPGN or MGN should be screened for HCV infection. This includes: liver-enzyme levels, HCV serology with a 3D-generation enzyme-linked immunosorbent assay, HCV RNA in the serum and in the cryoprecipitate, if available. A normal liver-enzyme level does not exclude the diagnosis of HCV infection.

Treatment

Cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis is the most frequent HCV-related renal injury. Renal disease is the first cause of morbid-mortality in mixed cryoglobulinemia patients [20]. Hence, even if the HCV-related liver injury is not an indication for anti-viral therapy, HCV-related renal disease requires

артериальной гипертензией, показали наличие МПГН I или III типов, МГН или мезангиального пролиферативного гломерулонефрита [12, 31–33]. Криоглобулинемия была обнаружена у отдельных пациентов с МПГН, гипокплементемия найдена у большинства из них. Клиническое течение HCV-обусловленных заболеваний почек у пациентов с сопутствующей ВИЧ-инфекцией характеризуется быстрым прогрессированием до развития почечной недостаточности [32]. Оптимальное лечение этих пациентов неизвестно. Методом выбора может быть анти-HCV-терапия.

Диабетическая нефропатия

Высокая распространенность инфекции ВГС была обнаружена у пациентов с диабетической нефропатией СД 2-го типа [34]. Угол наклона кривой креатинина сыворотки крови был значительно больше у HCV-позитивных, чем у HCV-негативных пациентов с гломерулосклерозом на фоне СД 2-го типа. HCV-инфекция явилась независимым фактором, связанным с углом наклона кривых креатинина сыворотки крови [34]. Авторы пришли к выводу, что гепатит С может влиять на прогрессирование диабетической нефропатии [34]. Также установлено, что HCV является предиктором более низкой выживаемости, обусловленной состоянием почек, у больных сахарным диабетом [35]. Механизм этого явления неизвестен.

Диагностика

Пациенты, инфицированные ВГС, должны быть рутинно обследованы на наличие микроальбуминурии, микроскопической гематурии, артериальной гипертензии с оценкой функции почек, а также криоглобулинемии, факторов комплемента и ревматоидного фактора. Биопсия почки должна быть выполнена в случаях протеинурии, нарушения функции почек или криоглобулинемии. Такая стратегия позволит нам обнаружить бессимптомную болезнь клубочков, что связано с ранней стадией HCV.

Кроме того, пациенты с МПГН или МГН должны быть обследованы на HCV. Это включает в себя анализ уровней печеночных энзимов, серологические исследования на HCV с использованием 3D-поколения иммуноферментного анализа, РНК вируса гепатита С в сыворотке крови и в криопреципитате, если таковой имеется. Нормальные уровни печеночных ферментов не исключают диагноз гепатита.

Лечение

Криоглобулинемический мембранопролиферативный гломерулонефрит является наиболее частым повреждением почек, связанным с HCV. Поражение почек остается главной причиной заболеваемости/смертности у пациентов со смешанной криоглобулинемией [20]. Поэтому, даже если повреждение печени, обусловленное HCV, не является показанием для противовирусной терапии, HCV-ассоциированное заболевание почек требует специфического лечения. Это лечение состоит либо из анти-HCV-терапии в случаях умеренного повреждения почек, либо из комбинированной противовирусной и иммуно-

a specific treatment. This treatment relies on either anti-HCV therapy alone in cases of moderate renal disease, or on combined anti-viral and immunosuppressive therapies in cases of severe renal disease, i.e., nephrotic syndrome and/or progressive renal failure, or diseases that are refractory to anti-HCV therapy alone.

Symptomatic therapy

Blood-pressure control, diuretics, the blockade of the renin-angiotensin system using either angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) alone or combined with an angiotensin receptor blockers (ARBs), as well as the treatment of hyperlipidemia, are of proven benefit [36].

Anti-HCV therapy

Because a link has been established between HCV infection and the occurrence of cryoglobulinemic MPGN, anti-viral therapies have been used in HCV-positive patients presenting with glomerulonephritis in order to achieve clearance of HCV from the serum and, consequently, to have a beneficial effect on renal injury.

Interferon-alpha. In the early 1990s, standard alpha-interferon (α -IFN) was used alone at different doses, i.e. 3 to 10 MU three times a week: unfortunately, the results were disappointing. In 15 patients who had a complete clearance of HCV RNA after α -IFN therapy, an improvement in renal function was observed [37]. However, there was no effect on proteinuria and all patients relapsed after α -IFN therapy was stopped. Later, in a prospective uncontrolled study, 14 patients experiencing an HCV-related glomerulonephritis were treated with α -IFN for 6 to 12 months [9]. Overall, proteinuria significantly decreased, while renal function remained stable. In 11 patients, sera were tested for HCV RNA while on this therapy. Patients who became cleared of HCV RNA ($n = 6$) had a better outcome compared to those who remained HCV RNA positive ($n = 5$). However, virological and renal relapses were observed after completing the therapy. In this study, in five patients, the use of oral prednisone, in addition to α -IFN, had no effect on renal function. In contrast, steroid pulses had a beneficial effect in two patients. Finally, the use of cytotoxic agents, with or without plasma exchange, was associated with a high rate of death and a flare-up in HCV viremia [9].

Interferon alpha and ribavirin. During the last few years, a combined therapy of α -IFN, especially pegylated IFN, with ribavirin, has become the gold standard of HCV treatment because it has been found to be more effective than α -IFN alone (See «Treatment of chronic hepatitis C virus infection: Recommendations for adults-I»). This has prompted physicians to treat HCV-re-

супрессивной терапии при тяжелой болезни почек, т.е. нефротического синдрома и/или прогрессирующей почечной недостаточности, а также при болезнях, рефрактерных к анти-HCV-терапии в отдельности.

Симптоматическая терапия

Контроль артериального давления, мочегонные средства, блокада ренин-ангиотензиновой системы с использованием ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) отдельно или в сочетании с блокаторами рецепторов ангиотензина (БРА), а также лечение гиперлипидемии имеют доказанную эффективность [36].

Анти-HCV-терапия

В связи с тем что была установлена связь между HCV-инфекцией и возникновением криоглобулинемического МПГН, была использована антивирусная терапия у HCV-позитивных пациентов с гломерулонефритом для элиминации вируса гепатита С из сыворотки крови и, следовательно, достижения позитивного эффекта при лечении поражения почек.

Интерферон-альфа. В начале 1990-х годов, стандартный альфа-интерферон (α -ИФН) самостоятельно использовался в разных дозах (от 3 до 10 МЕ) трижды в неделю: к сожалению, результаты были неутешительными. У 15 пациентов, которые имели полную элиминацию РНК HCV после α -ИФН-терапии, наблюдали улучшение функции почек [37]. Однако не было выявлено никакого влияния на протеинурию, а после прекращения α -ИФН-терапии у всех пациентов развился рецидив заболевания. Позже в проспективном неконтролируемом исследовании у 14 пациентов с HCV-ассоциированным гломерулонефритом было проведено лечение α -ИФН длительностью от 6 до 12 месяцев [9]. В целом протеинурия значительно уменьшилась, в то время как функция почек оставалась стабильной. У 11 пациентов во время этой терапии сыворотки были протестированы на наличие РНК ВГС. Пациенты с элиминацией РНК вируса гепатита С ($n = 6$) имели лучшие результаты по сравнению с теми, у кого реакция на РНК ВГС осталась положительной ($n = 5$). Тем не менее после завершения терапии наблюдались вирусологические и почечные рецидивы. В этом исследовании использование перорального преднизолона в дополнение к α -ИФН у пяти пациентов не повлияло на функцию почек. В отличие от пульсового применения стероидов, когда был получен положительный эффект у двух пациентов. Наконец, использование цитотоксических агентов с плазмаферезом или без него сопровождалось высоким уровнем смертности и манифестацией виремии ВГС [9].

Интерферон-альфа и рибавирин. В течение нескольких последних лет комбинированная терапия α -ИФН, особенно пегилированным ИФН, с рибавирином стала золотым стандартом лечения гепатита С, поскольку было установлено, что она более эффективна, чем монотерапия α -ИФН (см. «Лечение хронических вирусных гепатитов С: рекомендации для взрослых-I»). Это и побудило врачей к лечению ВГС-ассоциированных гломерулонефритов данной комбинацией. Тем не менее до сих пор опубликованные клинические случаи и неконтролируемые

lated glomerulonephritis with this combination. However, published case reports and uncontrolled studies have only included small numbers of patients so far.

In a prospective uncontrolled study, 20 patients presenting with MPGN ($n = 17$), membranous glomerulonephritis ($n = 2$), and mesangioproliferative glomerulonephritis ($n = 1$) were treated with α -IFN and either with or without ribavirin [38]. All patients were given α -IFN 3 MU three times weekly. In cases of persistent HCV RNA at 3 months, ribavirin was added at the daily dose of 15 mg/kg; treatment was continued for 12 months. Four out of the 20 patients became HCV RNA negative within the first 3 months and, consequently, did not receive ribavirin therapy. Only one out of the 16 remaining patients who additionally received ribavirin became cleared of HCV RNA within the serum. Seven patients underwent a ribavirin dose reduction due to adverse events, mainly hemolytic anemia. Overall, both HCV RNA concentration and proteinuria decreased significantly. Serum albumin level, as well as both C3 and C4 complement-component levels, increased significantly. Renal function remained stable. In this study, no data are provided regarding the outcome of renal disease after cessation of anti-HCV therapy.

In order to reduce ribavirin-induced hemolytic anemia, some authors have developed a high-performance liquid chromatography method to monitor the plasma ribavirin level, and have reported on their first treatment with concentration-controlled ribavirin plus α -IFN therapy in HCV-related glomerular disease [39]. The intended trough ribavirin plasma concentration was 10 to 15 mmol/L. Four patients received standard α -IFN, two received pegylated α -IFN and ribavirin, and one patient received ribavirin monotherapy because of poor tolerance to α -IFN. Five of the patients had a sustained virological response 6 to 32 months after antiviral therapy was stopped. One patient relapsed 3 months after completing therapy, whereas one patient who was receiving ribavirin monotherapy did not have a virological response. Serum albumin level normalized in all patients, and proteinuria decreased in all patients. Glomerular filtration rate improved in three patients and remained stable in four other patients. Despite monitoring ribavirin plasma concentration, the main side-effect observed was ribavirin-induced hemolytic anemia, which required a ribavirin-dose reduction, low-dose iron, and systematic erythropoietin support. An improvement in renal histology has been also reported in a small number of patients [40].

More recently, 18 patients who had HCV-related cryoglobulinemic MPGN were treated

исследования представлены небольшим числом пациентов.

В проспективном неконтролируемом исследовании 20 пациентов с МПГН ($n = 17$), мембранозным гломерулонефритом ($n = 2$) и мезангиопролиферативным гломерулонефритом ($n = 1$) лечили α -ИФН с рибавирином или без него [38]. Все пациенты получали α -ИФН 3 млн МЕ три раза в неделю. В случае сохранения РНК ВГС через 3 месяца добавляли рибавирин в суточной дозе 15 мг/кг: лечение продолжалось в течение 12 месяцев. Четыре из 20 пациентов стали РНК HCV-негативными в течение первых 3 месяцев и, следовательно, в последующем не получали рибавирин. Только у одного из 16 оставшихся пациентов, дополнительно получавших рибавирин, отмечена элиминация РНК вируса гепатита С из сыворотки крови. Семи пациентам дозу рибавирина снизили из-за нежелательных явлений, в основном гемолитической анемии. В целом как концентрация РНК ВГС, так и протеинурия значительно уменьшились. Сывороточный уровень альбумина, С3 и С4 компонентов комплемента значительно увеличились. Почечная функция оставалась стабильной. В этом исследовании не представлены данные в отношении исходов болезни почек после прекращения анти-HCV-терапии.

В целях снижения рибавирин-индуцированной гемолитической анемии рядом авторов был разработан метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для контроля уровня рибавирина плазмы. Они сообщили о первых результатах лечения с использованием оценки концентрации рибавирина в сочетании с α -ИФН при ВГС-ассоциированном гломерулярном поражении [39]. Выбранный для поддержания уровень концентрации рибавирина в плазме составил от 10 до 15 ммоль/л. Четыре пациента получали стандартную терапию α -ИФН, двое — пегилированным α -ИФН и рибавирином и один пациент — монотерапию рибавирином из-за плохой переносимости α -ИФН. Пять пациентов имели устойчивый вирусологический ответ в течение 6–32 месяцев после отмены противовирусной терапии. У одного пациента развился рецидив через 3 месяца после завершения терапии, в то время как один пациент, получавший монотерапию рибавирином, не имел вирусологического ответа. Уровень альбумина сыворотки крови нормализовался у всех пациентов, протеинурия также снизилась у всех пациентов. Скорость клубочковой фильтрации улучшилась у трех пациентов и оставалась стабильной у остальных четырех пациентов. Несмотря на мониторинг концентрации рибавирина в плазме крови, основным побочным эффектом была рибавирин-индуцированная гемолитическая анемия, которая требовала снижения дозы рибавирина, назначения низких доз железа и систематической поддержки эритропоэтином. Также сообщалось об улучшении гистологической характеристики почек у небольшого количества пациентов [40].

Совсем недавно 18 пациентов с ВГС-ассоциированным криоглобулинемическим МПГН получали комбинированную терапию стандартным или пегилированным интерфероном и рибавирином [41]. После симптоматического лечения нефротической протеинурии с помощью

with a combined therapy of standard or pegylated interferon and ribavirin [41]. After a symptomatic treatment of nephrotic-range proteinuria by furosemide, with or without ACEIs, and with or without plasma exchange that was or was not associated with steroids, 18 patients received anti-HCV therapy, while seven other patients did not receive any anti-viral therapy. Fourteen out of the 18 were treated with standard α -IFN at 3 MU, three times weekly, plus ribavirin at 600 to 1000 mg/d, and the four other patients received pegylated IFN at 1.5 μ g/kg weekly with the same dose of ribavirin. The mean duration of anti-HCV therapy was 18 x 10 months (range 6 to 24 months). The mean duration of follow-up after completing anti-HCV treatment was 16.7 x 17.7 months (range 6 to 30 months). A sustained virological response was observed in 67 % of patients. Pegylated IFN was given in three virological responders and one non-responder. After anti-HCV treatment, proteinuria and cryoglobulin levels decreased. In addition, serum-albumin level increased significantly in virological responders compared to both the non-responders, who were receiving the combination therapy, and to the control patients, who were receiving any anti-viral treatment. In contrast, serum-creatinine level remained stable in all three groups. These data suggest that anti-viral therapy should be given for a long period.

The major side effects of α -IFN can be flu-like symptoms, malaise, myalgia, asthenia, loss of weight, cardiovascular disorders, hematological abnormalities, neurological disorders. The side effects of α -IFN are enhanced in patients with impaired renal function compared to those with normal renal function. This might be related to differences in α -IFN pharmacokinetics. To date, two molecularly different pegylated interferons are available, i.e., pegylated interferon α -2a (Pegasys, Hoffmann-La Roche, Basel, Switzerland) and pegylated interferon α -2b (Peg-Intron, Schering-Plough, Berlin, Germany). The pegylation of α -IFN results in an increase of its half life. For both pegylated interferon formulations, renal clearance accounts for a relatively smaller proportion of its total clearance than for non-pegylated interferons, i.e., 30 % [42, 43]. However, pegylated IFN should be used with caution.

Ribavirin monotherapy. Despite the absence of a complete and sustained virological response, ribavirin monotherapy has been shown to have a beneficial effect on HCV-related glomerulopathy in immunocompetent patients [44], as well as in renal- [45] and liver-transplant patients [46].

Ribavirin, when given alone or in association with α -IFN, is responsible for hemolytic anemia,

фуросемида с ИАПФ или без них, с плазмаферезом или без него, со стероидами или без них 18 пациентам проводили анти-HCV-терапию, а семь других пациентов не получили никакой антивирусной терапии. Четырнадцать пациентов из 18 лечили стандартным α -ИФН по 3 МЕ три раза в неделю в сочетании с рибавирином в дозе 600–1000 мг/сут, а четыре других пациента получали пегилированный ИФН в дозе 1,5 мкг/кг в неделю с той же дозой рибавирина. Средняя продолжительность анти-HCV-терапии составила 18 ± 10 месяцев (диапазон от 6 до 24 месяцев). Средняя продолжительность наблюдения после завершения анти-HCV-терапии — $16,7 \pm 17,7$ месяца (от 6 до 30 месяцев). Устойчивый вирусологический ответ наблюдался у 67 % пациентов. Пегилированный ИФН получали три пациента с вирусологическим ответом и один неответивший. После анти-ВГС-терапии уровни протеинурии и криоглобулина снизились. Кроме того, у пациентов с вирусологическим ответом уровень альбумина сыворотки достоверно увеличился по сравнению как с больными, не ответившими на лечение, которые получали комбинированную терапию, так и с пациентами контрольной группы, получавшими любое антивирусное лечение. Напротив, уровень креатинина сыворотки крови остался стабильным во всех трех группах. Эти данные позволяют предположить, что антивирусная терапия должна назначаться на длительный период.

Основными побочными эффектами α -ИФН могут быть гриппоподобные симптомы, недомогание, миалгии, слабость, потеря веса, сердечно-сосудистые заболевания, гематологические нарушения, неврологические расстройства. Побочные эффекты α -ИФН усиливаются у пациентов с нарушением функции почек по сравнению с теми, у кого она в норме. Это может быть связано с различиями в фармакокинетике α -ИФН. На сегодняшний день доступны две различные молекулы пегилированного интерферона, а именно: пегинтерферон-альфа-2a (Пегасис, Hoffmann-La Roche, Базель, Швейцария) и пегинтерферон-альфа-2b (Пег-Инtron, Schering-Plough, Берлин, Германия). Пегилирование α -ИФН приводит к увеличению периода его полувыведения. Для обеих форм пегилированного интерферона почечный клиренс составляет относительно меньшую часть от их общего клиренса в сравнении с непегилированными интерферонами, то есть 30 % [42, 43]. Тем не менее пегинтерфероны следует использовать с осторожностью.

Монотерапия рибавирином. Несмотря на отсутствие полного и устойчивого вирусологического ответа, монотерапия рибавирином положительно влияла на течение ВГС-ассоциированной гломерулопатии у иммунокомпетентных больных [44], а также у пациентов после трансплантации почки [45] и печени [46].

При самостоятельном назначении или в сочетании с α -ИФН рибавирин может вызывать гемолитическую анемию, особенно при сниженной функции почек. Таким образом, общепризнанно, что доза рибавирина должна быть адаптирована к клиренсу креатинина, а не массе тела [47–49], как это было рекомендовано ранее. Концентрация рибавирина в плазме предопределяет рибавирин-индуцированную анемию [50]. Таким образом, у пациентов

especially in cases of renal-function impairment. Thus, it is widely admitted that ribavirin dosage should be adapted to creatinine clearance rather than to body weight [47–49], as has been previously recommended. Ribavirin plasma concentration predicts ribavirin-induced anemia [50]. Hence, in patients with impaired renal function, ribavirin should be given with caution. The accumulation of ribavirin induces hemolytic anemia. Severe chronic hemolysis is responsible for iron overload, liver iron deposition, and an acceleration in liver fibrosis progression [51].

Immunosuppressive therapy

In the past, patients with mixed cryoglobulinemia, with or without renal involvement, were treated by plasma exchange to remove circulating cryoglobulins from the plasma and, consequently, to diminish the deposition of immune complexes in the kidney [21]. Cyclophosphamide was also used to improve renal disease by suppressing B lymphocyte stimulation and cryoglobulin production [21]. Steroid pulses were administered to treat glomerular infiltration abnormalities [21]. Low doses of oral steroids were also given to some patients [21]. Previous uncontrolled studies that included a small number of patients treated with these therapies showed that this regime often controlled the acute phase of the disease, but was often poorly tolerated. The flare-up of HCV RNA concentration observed during immunosuppressive therapy may be harmful to HCV related-liver disease.

Rituximab. Recently, rituximab, a human-mouse chimeric monoclonal antibody that reacts with the CD20 antigen and, thus, directly and selectively targets the B cells, has proved effective and very well tolerated in patients with B-cell non-Hodgkin lymphomas. Hence, it is used to treat mixed cryoglobulinemia and HCV-related cryoglobulinemic MPGN.

Two patients, with HCV-related cryoglobulinemic MPGN, were treated with rituximab at four weekly doses of 375 mg/m² [52]. They were unresponsive to conventional treatments, including α -IFN, plasmapheresis, steroids, and either cyclophosphamide or 2-chlorodeoxyadenosine. A rapid response, and the disappearance of proteinuria and inactive urinary sediment, was observed in one patient who had a recent onset of nephritis. No improvement was noticed in the second patient when rituximab was interrupted after two infusions due to a thrombosis of the retinal artery. In the patient who completed rituximab therapy, HCV RNA concentration showed minimal fluctuations [52].

Later, six patients who had HCV-related cryoglobulinemic glomerulonephritis were treated with rituximab [53]. One patient received the stan-

с нарушенной функцией почек рибавирин следует назначать с осторожностью. Накопление рибавирина вызывает гемолитическую анемию. Тяжелый хронический гемолиз является причиной перегрузки железом, отложения железа в печени и ускоряет прогрессирование печеночного фиброза [51].

Иммуносупрессивная терапия

В прошлом пациентов со смешанной криоглобулинемией при поражении почек или без него лечили плазмаферезом с целью удаления циркулирующих криоглобулинов из плазмы и, следовательно, уменьшения отложения иммунных комплексов в почках [21]. Для подавления почечного процесса также использовали циклофосфамид, угнетающий В-лимфоциты и продукцию криоглобулинов [21]. Пульс-терапию стероидными гормонами назначали для лечения нарушений клубочковой фильтрации [21]. Отдельным пациентам также назначали низкие дозы пероральных стероидов [21]. Ранее выполненные неконтролируемые исследования, включавшие небольшое количество пациентов, получавших такую терапию, показали, что этот режим нередко контролирует острую фазу заболевания, но достаточно часто плохо переносится. Скачок концентрации РНК вируса гепатита С, наблюдаемый на фоне иммуносупрессивной терапии, может быть опасен при HCV-обусловленной болезни печени.

Ритуксимаб. На сегодняшний день ритуксимаб, представляющий собой комбинированные человеческие и мышинные химерные моноклональные антитела, взаимодействующие с антигеном CD20 и таким образом прямо и селективно подавляющие В-лимфоциты, доказал свою эффективность и очень хорошую переносимость у пациентов с В-клеточной неходжкинской лимфомой. Его также используют для лечения смешанной криоглобулинемии и ВГС-ассоциированных криоглобулинемических МПГН.

У двух пациентов с HCV-связанным криоглобулинемическим МПГН было проведено лечение ритуксимабом в виде четырех еженедельных доз по 375 мг/м² [52]. Больные не ответили на традиционные методы лечения, включающие α -ИФН, плазмаферез, стероиды, циклофосфамид или 2-chlorodeoxyadenosine. У одного пациента с недавним дебютом нефрита наблюдали быстрый ответ с исчезновением протеинурии и отсутствием мочевого синдрома. У второго отсутствовали какие-либо улучшения к моменту отмены ритуксимаба после двух инфузий, вызванной тромбозом артерии сетчатки. У пациента, завершившего терапию ритуксимабом, отмечены минимальные колебания концентрации РНК ВГС [52].

Позже еще шесть больных с ВГС-ассоциированным криоглобулинемическим гломерулонефритом были пролечены ритуксимабом [53]. Один пациент получал стандартные четыре еженедельные дозы, а пять других пациентов лечили по стандартным протоколам в сочетании с последующими двумя дополнительными инфузиями на первом и втором месяце. Протеинурия снизилась у всех больных. Сывороточный уровень креатинина снизился у двух пациентов, увеличился у одного пациента и оставался стабильным у остальных трех пациентов. Пред-

dard four weekly doses, and the five other patients were treated by the standard protocol, plus two additional infusions at 1 and 2 months later. Proteinuria was decreased in all patients. Serum-creatinine level decreased in two patients, increased in one patient, and remained stable in the three other patients. Interestingly, HCV viral load decreased or remained stable in all patients. Rituximab has been also found to be effective for the treatment of HCV-related type II cryoglobulinemic MPGN when used as a first-line therapy [54].

A renal-transplant patient who was experiencing a *de novo* HCV-related type III cryoglobulinemic MPGN was treated with rituximab therapy: he had a clearance of cryoglobulinemia, a decrease in proteinuria, and no change in serum creatinine or HCV RNA [55]. Rituximab was efficient in treating *de novo* cryoglobulinemic MPGN in HCV-positive or -negative renal-transplant patients, but is associated with a high rate of infectious complications, which might be related to the impairment of T- and B-cell functions that these patients experience [55]. Further controlled randomized studies are required to define the exact indications of rituximab, the dose of rituximab required, as well as its long-term effect on HCV liver disease.

Acute severe disease. During the acute phase, plasmapheresis and steroid pulses might be used to remove circulating cryoglobulins from the plasma and to treat the glomerular infiltration abnormalities, respectively [56]. Even in the absence of controlled randomized studies that compared the use of anti-CD20 monoclonal antibodies, i.e. rituximab (RTX) to IV cyclophosphamide, rituximab therapy should be preferred to cyclophosphamide. This is supported by two very recent publications. In the first, Saadoun et al. [57] examined whether treatment of HCV-mixed cryoglobulinemia (MC) may target either the viral trigger (HCV) or the downstream B-cell clonal expansion. In a prospective cohort study they included 38 HCV-MC patients who received: 1) a combination of RTX (375 mg/m²) once a week for 1 month followed by Peg-interferon-alpha (Peg-IFN-alpha; 2a, 180 microg or 2b, 1.5 microg/kg) weekly plus RBV (600–1200 mg) daily for 48 weeks or 2) Peg-IFN-alpha/ribavirin with the same modalities (n = 55). In the whole population of HCV-MC patients (n = 93), a complete clinical response was achieved in 73.1 % (68 of 93), cryoglobulin clearance in 52.7 % (49 of 93), and a sustained virologic response in 59.1 % (55 of 93). Compared with Peg-IFN-alpha/ribavirin, rituximab plus Peg-IFN-alpha/ribavirin-treated patients had a shorter time to clinical remission (5.4 ± 4.0 vs 8.4 ± 4.7 months, $p = 0.004$), better renal response rates (80.9 % vs 40 % of complete response, $p = 0.040$), and higher

ставляет интерес, что вирусная нагрузка снизилась либо оставалась стабильной у всех пациентов. Также была установлена эффективность ритуксимаба для лечения ВГС-ассоциированного криоглобулинемического МПГН II типа при использовании в качестве первой линии терапии [54].

Пациент с почечным трансплантатом и развившимся *de novo* ВГС-ассоциированным криоглобулинемическим МПГН III типа получал терапию ритуксимабом: у него наблюдалось исчезновение криоглобулинемии, уменьшение протеинурии без изменений креатинина сыворотки крови и РНК ВГС [55]. Ритуксимаб был эффективен в лечении *de novo* криоглобулинемического МПГН у ВГС-позитивных или негативных пациентов с почечным трансплантатом, но его прием также сопровождался высоким уровнем инфекционных осложнений, которые могут быть обусловлены нарушением функции Т- и В-клеток [55]. Необходимы дальнейшие контролируемые рандомизированные исследования для определения точных показаний к назначению ритуксимаба, его дозы, а также оценки долгосрочного влияния на заболевания печени, обусловленные ВГС.

Острые тяжелые заболевания. Во время острой фазы плазмаферез и пульс-терапия стероидными гормонами могут быть использованы для удаления циркулирующих криоглобулинов из плазмы и коррекции нарушений клубочковой фильтрации [56]. Несмотря на отсутствие контролируемых рандомизированных исследований, в которых сравнивали бы применение анти-CD20-моноклональных антител, то есть ритуксимаба (RTX) и внутривенного циклофосфамида, терапию ритуксимабом следует предпочесть таковой циклофосфамидом. Это подтверждают две недавние публикации. В первой Saadoun и соавт. [57] исследовали, может ли лечение HCV-смешанной криоглобулинемии вызывать вирусную диссеминацию (HCV) или уменьшать рост В-клеток. В проспективное когортное исследование они включили 38 пациентов с HCV-криоглобулинемией, которые получили: 1) сочетание RTX (375 мг/м²) один раз в неделю в течение 1 месяца с последующим назначением пегинтерферона-альфа (2a — 180 мкг или 2b — 1,5 мкг/кг) 1 раз в неделю в сочетании с рибавирином (600–1200 мг) 1 раз в день в течение 48 недель, или 2) только Пег-ИФН-альфа/рибавирин по той же схеме (n = 55). В целом у пациентов с HCV-обусловленной криоглобулинемией (n = 93) полный клинический ответ был достигнут в 73,1 % (68 из 93) случаев, элиминация криоглобулинов — в 52,7 % (49 из 93), а устойчивый вирусологический ответ отмечен у 59,1 % (55 из 93) чел. По сравнению с группой Пег-ИФН-альфа/рибавирина в группе приема ритуксимаба в сочетании с Пег-ИФН-альфа/рибавирином пациенты быстрее достигали клинической ремиссии ($5,4 \pm 4,0$ месяца против $8,4 \pm 4,7$ месяца, $p = 0,004$), у них также наблюдались: более выраженная ответная реакция со стороны почек (80,9 против 40 % полного ответа, $p = 0,040$), более высокий уровень элиминации криоглобулинов (68,4 против 43,6 %, $p = 0,001$) и клонального подавления VNI-69 (+) В-клеток ($p < 0,01$). Лечение в целом хорошо переносилось (лишь 11 % пациентов прекратили антивирусную

rates of cryoglobulin clearance (68.4 % vs 43.6 %, $p = 0.001$) and clonal VH1-69(+) B-cell suppression ($p < 0.01$). Treatment was well tolerated with 11 % of discontinuation resulting from antiviral therapy and no worsening of HCV RNA under rituximab. The second study included less patients, i.e. 37 which presented with HCV-related MC [58]. The patients were given a combination of Peg-IFN-alpha (2a: 180 mug or 2b: 1.5 mug/kg) weekly plus RBV (1000 or 1200 mg) daily for 48 weeks, with ($n = 22$) or without ($n = 15$) RTX (375 mg/m²) once a week for 1 month followed by two 5-monthly infusions (PIRR). Complete response was achieved in 54.5 % (12/22) and in 33.3 % (5/15) of patients who received PIRR and Peg-IFN-alpha/RBV, respectively ($p < 0.05$). Clearance of HCV RNA and conversion of B-cell populations from oligoclonal to polyclonal in liver, bone marrow, and peripheral blood was maintained for up to 3 years in 10 of 12 (83.3 %) and in 2 of 5 (40 %) patients receiving PIRR and Peg-IFN-alpha/RBV, respectively ($p < 0.01$). Cryoproteins in 22.7 % (5/22) of patients with PIRR and in 33.3 % (5/15) with Peg-IFN-alpha/RBV persisted despite sustained HCV RNA clearance. No response occurred in remaining 5 patients of both groups. PIRR therapy is well tolerated and more effective than Peg-IFN-alpha/RBV combination in HCV-related MC. Its effect may last for more than 3 years. The findings of these two studies indicate that rituximab combined with Peg-IFN-alpha/ribavirin is well tolerated, is more effective than Peg-IFN-alpha/ribavirin, and has long-lasting effects on HCV-MC.

However, what is the place of rituximab therapy in those HCV (+) cryoglobulinemic patients that failed to respond to antiviral therapy? Recently, Sneller et al. reported on a single-center, open-label, randomized controlled trial of rituximab (375 mg/m²/week for 4 weeks) compared to the best available therapy (maintenance or increase in immunosuppressive therapy) for HCV-associated cryoglobulinemic vasculitis in 24 patients (12 in each treatment group) in whom antiviral therapy had failed to induce remission [59]. The primary end point was disease remission at 6 months from study entry. Baseline disease activity and organ involvement were similar in the two groups. Ten patients in the rituximab group (83 %) were in remission at study month 6, as compared with 1 patient in the control group (8 %), a result that met the criterion for stopping the study ($p < 0.001$). The median duration of remission for rituximab-treated patients who reached the primary end point was 7 months. No adverse effects of rituximab on HCV plasma viremia or on hepatic transaminase levels were observed. In another report by De Vita et al. 59 patients with cryoglobulinemic vas-

терапию), а прием ритуксимаба не привел к увеличению РНК ВГС. Во второе исследование было включено меньшее число пациентов — 37 — с HCV-ассоциированной криоглобулинемией [58]. Пациенты получали комбинацию Пег-ИФН-альфа (2a — 180 мкг или 2b — 1,5 мкг/кг) 1 раз в неделю и рибавирина (1000 или 1200 мг) 1 раз в день в течение 48 недель, с RTX (375 мг/м²) один раз в неделю ($n = 22$) или без него ($n = 15$) в течение 1 месяца с последующими двумя его введениями раз в 5 месяцев. Полный ответ был достигнут у 54,5 (12/22) и 33,3 % (5/15) пациентов, получавших ритуксимаб и Пег-ИФН-альфа/рибавирин соответственно ($p < 0,05$). Клиренс РНК вируса гепатита С и преобразование В-клеточной популяции из олигоклональной в поликлональную в печени, костном мозге и периферической крови удерживались до 3 лет у 10 из 12 (83,3 %) и у 2 из 5 (40 %) пациентов, получавших ритуксимаб и Пег-ИФН-альфа/рибавирин соответственно ($p < 0,01$). Криопротеины у 22,7 % (5/22) пациентов, получавших ритуксимаб, и у 33,3 % (5/15) леченых Пег-ИФН-альфа/рибавирином сохранялись, несмотря на устойчивый клиренс РНК ВГС. Отсутствие ответа наблюдали у остальных 5 пациентов обеих групп. Терапия ритуксимабом хорошо переносилась и была более эффективной, чем комбинация Пег-ИФН-альфа/рибавирина при ВГС-обусловленной криоглобулинемией. Действие препарата может сохраняться в течение более 3 лет. Результаты этих двух исследований показывают, что ритуксимаб в сочетании с Пег-ИФН-альфа/рибавирином хорошо переносится, является более эффективным, чем только Пег-ИФН-альфа/рибавирин, и имеет долгосрочные эффекты при HCV-обусловленной криоглобулинемией.

Однако остается нерешенным вопрос о месте ритуксимаба в терапии HCV-позитивных пациентов с криоглобулинемией, не отвечающих на противовирусную терапию. Недавно Sneller и соавт. сообщили о результатах одноцентрового открытого рандомизированного контролируемого исследования с использованием ритуксимаба (375 мг/м²/нед в течение 4 недель) по сравнению с наилучшей имеющейся терапией (поддержание или усиление иммуносупрессивной терапии) при ВГС-ассоциированном криоглобулинемическом васкулите у 24 пациентов (12 в каждой группе), у которых противовирусная терапия не привела к ремиссии [59]. Первичной конечной точкой было достижение ремиссии заболевания в течение 6 месяцев от начала исследования. Базовая активность заболевания и вовлечение органов были одинаковыми в обеих группах. У десяти пациентов в группе ритуксимаба (83 %) к 6-му месяцу исследования достигнута ремиссия по сравнению с 1 пациентом в контрольной группе (8 %) — результат, который отвечал критерию прекращения исследования ($p < 0,001$). Медиана продолжительности ремиссии у пациентов, получавших ритуксимаб и достигших первичной конечной точки, составила 7 месяцев. Не наблюдалось никакого негативного влияния ритуксимаба на уровень вiremии HCV плазмы или уровень печеночных трансаминаз. В работе De Vita с соавт. 59 пациентов с криоглобулинемическим васкулитом и обусловленным им язвенным поражением кожи, активным гломерулонефритом

culitis and related skin ulcers, active glomerulonephritis, or refractory peripheral neuropathy were randomized either to the non-RTX group, i.e. to receive conventional treatment, consisting of 1 of the following 3: glucocorticoids; azathioprine or cyclophosphamide; or plasmapheresis or the RTX group (to receive 2 infusions of 1 gm each, with a lowering of the glucocorticoid dosage when possible, and with a second course of RTX at relapse) [60]. Those patients who also had HCV infection, treatment of the HCV infection with antiviral agents had previously failed or was not indicated. Patients in the non-RTX group who did not respond to treatment could be switched to the RTX group. Study duration was 24 months. Survival of treatment at 12 months (i.e., the proportion of patients who continued taking their initial therapy), the primary end point, was statistically higher in the RTX group (64.3 % versus 3.5 % ($p < 0.0001$)), as well as at 24 months (60.7 % versus 3.5 % ($p < 0.0001$)). The Birmingham Vasculitis Activity Score decreased only after treatment with RTX (from a mean $\pm$ SD of 11.9 ± 5.4 at baseline to 7.1 ± 5.7 at month 2; $p < 0.001$) up to month 24 (4.4 ± 4.6 ; $p < 0.0001$). RTX appeared to be superior therapy for all 3 target organ manifestations. The median duration of response to RTX was 18 months. Overall, RTX treatment was well tolerated [60]. It was concluded that RTX monotherapy represents a very good option for severe cryoglobulinemic vasculitis and can be maintained over the long term in most patients.

Recommendations (see «Treatment of HCV-related glomerulonephritis»). All patients should be treated with ACEIs in association or not with ARBs, as well as with anti-HCV therapy. The latter relies on a combined anti-viral therapy of standard or pegylated IFN and ribavirin. We recommend the treatment of patients for at least 48 weeks, and the continuation of anti-viral therapy, even in the absence of a decrease in HCV RNA concentration of 2-log at week 12. Clinicians should be aware that after HCV RNA clearance, cryoglobulinemia persists for a long period. Ribavirin doses should be adapted according to creatinine clearance in order to avoid its main side effect, i.e., hemolytic anemia. Combined anti-viral and immunosuppressive therapies may be the treatment of choice for patients with severe renal disease, i.e., nephrotic syndrome and/or progressive renal failure, or diseases that are refractory to anti-HCV therapy alone.

HCV treatment in the chronic kidney disease population

The AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) has published guidelines for the CKD population stating that «when HCV

или резистентной периферической нейропатией были рандомизированы в группу без ритуксимаба для получения традиционного лечения, состоящего из одного из трех вариантов: глюкокортикоидов; азатиоприна или циклофосфамида; либо плазмафереза и группу ритуксимаба (получивших 2 инфузии по 1 г каждая с понижением дозы глюкокортикоидов, когда это было возможно, и второго курса RTX при рецидиве) [60]. Пациенты, которые также имели ВГС-инфекцию, ранее уже были безрезультатно пролечены по ее поводу противовирусными препаратами или не имели показаний к такому лечению. Пациенты из группы, не получавшей ритуксимаб и не ответившие на лечение, могли быть включены в группу RTX. Продолжительность исследования составила 24 месяцев. Выживаемость лечения через 12 месяцев (т.е. доля пациентов, которые продолжали принимать первоначальную терапию) — первичная конечная точка — была статистически выше в группе RTX (64,3 против 3,5 % ($p < 0,0001$)), как и выживаемость к 24-му месяцу (60,7 против 3,5 % ($p < 0,0001$)). Снижение по Бирмингемской шкале оценки активности васкулита отмечено только после лечения RTX (от среднего значения $\pm$ SD $11,9 \pm 5,4$ балла исходно до $7,1 \pm 5,7$ балла ко второму месяцу, $p < 0,001$) и вплоть до 24-го месяца ($4,4 \pm 4,6$ балла, $p < 0,0001$). Лечение ритуксимабом оказалось самым эффективным при всех проявлениях со стороны органов-мишеней. Медиана продолжительности ответа на RTX составила 18 месяцев. В целом лечение ритуксимабом переносилось хорошо [60]. Был сделан вывод, что монотерапия RTX представляет собой очень хороший метод лечения при тяжелых криоглобулинемических васкулитах и может проводиться в течение длительного времени у большинства пациентов.

Рекомендации (см. «Лечение HCV-ассоциированного гломерулонефрита»). Все пациенты должны получать ИАПФ в сочетании с БРА или без них, а также анти-HCV-терапию. Последняя состоит из комбинированной антивирусной терапии стандартным или пегилированным интерфероном и рибавирином. Мы рекомендуем проводить лечение больных по крайней мере в течение 48 недель и продолжать антивирусную терапию даже при отсутствии снижения концентрации уровня РНК ВГС на 2 log к 12-й неделе. Клиницисты должны знать, что после элиминации РНК вируса гепатита С криоглобулинемия сохраняется в течение длительного периода. Дозу рибавирина следует корректировать в соответствии с клиренсом креатинина во избежание главного побочного эффекта — гемолитической анемии. Комбинированная антивирусная и иммуносупрессивная терапия может быть методом выбора в лечении больных с тяжелым поражением почек, то есть при нефротическом синдроме и/или прогрессирующей почечной недостаточности или заболеваниях, рефрактерных к анти-HCV-терапии.

Лечение гепатита С у пациентов с хронической болезнью почек

AASLD (Американская ассоциация по изучению заболеваний печени) опубликовала руководство для пациентов с хронической болезнью почек (ХБП), в котором утверждалось, что «в случае установления ВГС-инфекции

infection is identified in persons with CKD, interferon-based antiviral treatment must be considered, but the regimen will vary depending of the kidney disease... The decision to treat must take into account the competing severities of the CKD and the chronic liver disease, the risks of the treatment itself, ...and whether there are comorbid conditions that may affect morbidity and mortality, such as cardiovascular disease» [61].

The kidneys play a major role in the catabolism and filtration of both interferon and ribavirin; thus, their clearances may be affected in subjects with CKD [62, 63]. The clearance of pegylated interferon is affected in those with CKD, although hemodialysis does not affect its clearance [64]. Hence, the AASLD guidelines recommend subcutaneous weekly doses of 1 µg/kg of peginterferon alpha-2b and of 135 µg of peginterferon alpha-2a [61] to patients with stage 3–5 CKD. Because ribavirin is eliminated by the kidney, and if overdosed might result in dramatic anemia [65], ribavirin therapy is contraindicated when creatinine clearance is < 50 mL/min. Hence, most data regarding HCV treatment in the CKD population deal with the use of either standard α -interferon or α -pegylated interferon.

With regards to end-stage kidney-disease (ESKD) patients who are chronically treated by dialysis, Casanovas-Taltavull et al. reviewed two meta-analyses (Meta-1 and Meta-2) published in 2008. From these they analyzed the SVRs, any adverse effects, and the reasons for discontinuing α -IFN treatment in dialysis patients [66]. The Meta-1 study analyzed results obtained from 645 patients; the Meta-2 study used data from 459 patients (19 studies were duplicated). Overall, the SVR was 40 %; SVR in genotype 1 was 33 %, with pegylated interferon providing few additional benefits over conventional alpha-interferon. Adverse events, such as typical flu-like syndrome occurred in 41 % of patients, requiring withdrawal of antiviral treatment in 11 % of them. A high rate of anemia was also documented, although the use of recombinant erythropoietin, intravenous iron administration, or transfusions was not generally reported. Severe adverse events were divided into the following groups: hormonal (thyroid), bone pain, cytopenia, gastrointestinal, immunological (prior graft rejection), central nervous system, cardiovascular, and infectious problems. The reviewers of these meta-analyses pointed out any bias in the selection criteria of candidates for treatment, limitations related to the number and type of adverse effects (as well as their clinical evaluation), and discrepancies in cases of discontinuation of treatment or loss to follow-up.

With regards to Meta-1, the primary outcome was a SVR (as a measure of efficacy); the

у лиц с ХБП следует рассмотреть назначение лечения на основе интерферона, однако схема будет варьировать в зависимости от заболевания почек... При принятии решения о лечении необходимо учитывать конкурирующие симптомы ХБП и хронического заболевания печени, риски самого лечения... и наличие сопутствующих состояний, которые могут повлиять на заболеваемость и смертность, таких как сердечно-сосудистые заболевания» [61].

Почки играют важную роль в катаболизме и фильтрации как интерферона, так и рибавирина; таким образом, их клиренс может быть снижен у пациентов с ХБП [62, 63]. Клиренс пегилированного интерферона нарушается при ХБП, хотя гемодиализ не влияет на его выведение [64]. Таким образом, AASLD рекомендует еженедельные подкожные дозы 1 мкг/кг пегинтерферона-альфа-2b и 135 мкг пегинтерферона-альфа-2a [61] пациентам с ХБП III–V стадий. В связи с тем что рибавирин выводится почками и его передозировка может привести к катастрофической анемии [65], терапия данным препаратом противопоказана при клиренсе креатинина < 50 мл/мин. Таким образом, большинство данных о лечении гепатита В у пациентов с ХБП касаются использования стандартного альфа-интерферона или пегилированного альфа-интерферона.

Что касается пациентов с терминальной стадией болезни почек, которые получают лечение хроническим диализом, Casanovas-Taltavull и соавт. представили два метаанализа (Meta-1 и Meta-2), опубликованные в 2008 году. Были проанализированы устойчивый вирусологический ответ (УВО), любые неблагоприятные эффекты и причины прекращения лечения альфа-интерфероном у больных на диализе [66]. В исследовании Meta-1 были представлены данные 645 пациентов, в Meta-2 — 459 пациентов (19 исследований были продублированы). В целом УВО составил 40 %; УВО при генотипе 1 составил 33 % с некоторыми преимуществами пегинтерферона по сравнению с обычным альфа-интерфероном. Побочные эффекты, такие как типичный гриппоподобный синдром, наблюдали у 41 % пациентов, необходимость отмены противовирусного лечения возникла у 11 % из них. Также документирован высокий уровень анемии, хотя о необходимости применения рекомбинантного эритропоэтина, внутривенного введения железа или переливания крови, как правило, не сообщалось. Тяжелые побочные эффекты были разделены на следующие группы: гормональные (со стороны щитовидной железы), боли в костях, цитопения, со стороны желудочно-кишечного тракта, иммунологические (до отторжения трансплантата), со стороны центральной нервной системы, сердечно-сосудистые и инфекционные осложнения. Авторы этих метаанализов обратили внимание на отсутствие предвзятости в критериях отбора кандидатов для лечения, ограничений, связанных с количеством и типом побочных эффектов (а также их клинической оценки) и расхождений в случаях прекращения лечения или невозможности последующего наблюдения за пациентом.

Что касается Meta-1, в качестве первичной конечной точки был выбран УВО (как показатель эффективности); вторичной конечной точки — уровень выбывания

secondary outcome was the drop-out rate (as a measure of tolerability) [67]. They identified 13 prospective studies, which were controlled clinical trials that included 539 unique patients, of whom 10 (76.9 %) patients were receiving maintenance dialysis. Pooling of these studies' results showed a significant increase in viral response of patients treated with antiviral therapy compared to patients who did not receive any therapy (controls). The pooled odds ratio (OR) of failure to obtain a SVR was 0.081 (95% confidence intervals (CI) 0.029–0.230), $p = 0.0001$. The pooled OR of drop-out rate was significantly increased in treated versus control patients, OR = 0.389 (95% CI 0.155–0.957), $p = 0.04$. The studies were heterogeneous with regard to viral response and drop-out rate. In the subset of clinical trials ($n = 6$) involving only dialysis patients receiving α -IFN monotherapy for chronic HCV, there was a significant difference in the risk of failure to obtain a SVR (study vs. control patients), OR = 0.054 (95% CI 0.019; 0.150), $p = 0.0001$. No difference in the drop-out rate between study and control patients was shown (OR = 0.920 (95% CI 0.367; 2.311), NS). Meta-1 showed that viral response was greater in patients with chronic kidney disease who received antiviral therapy than in controls. No differences in the drop-out rates between study and control patients occurred in the subgroup of dialysis patients on α -IFN monotherapy [67].

With regards to Meta-2, the authors took into account those chronic dialysis patients with chronic HCV infection who were either treated with α -IFN or pegylated α -IFN, with or without ribavirin [68]. They searched on MEDLINE for indexed studies since 1966, and only selected studies with a sample size greater than 10. They looked for the following parameters: SVR at 6 months after treatment, rate of treatment discontinuation caused by adverse events, and factors associated with these outcomes. They analyzed 20 studies that contained 459 α -IFN-treated patients, three studies that contained 38 Peg- α -IFN-treated patients, and two studies that contained 49 Peg- α -IFN and ribavirin-treated patients. The overall SVR rate was 41 % (95% confidence interval, 33 to 49) for α -IFN and 37 % (95% CI 9 to 77) for Peg- α -IFN. Treatment-discontinuation rates were 26 % (95% CI 20 to 34) for α -IFN and 28 % (95% CI 12 to 53) for Peg- α -IFN. SVR was higher, with 3 million units (MU) or higher of α -IFN at three times weekly, with lower mean amounts of HCV RNA, lower rates of cirrhosis, a HCV genotype 1, or elevated transaminase, though these findings were not statistically significant.

Treatment-discontinuation rates were greater in studies using larger doses. Hence, side-effects

(как мера переносимости) [67]. Авторы определили 13 проспективных исследований, которые были контролируемыми клиническими и включали 539 пациентов, 10 из которых (76,9 %) находились на постоянном диализе. Объединение результатов этих исследований показало значительное увеличение вирусологического ответа у пациентов, получавших противовирусную терапию, по сравнению с пациентами, которые не получали никакой терапии (контроль). Суммарное отношение шансов (ОШ) неполучения УВО составило 0,081 (95% доверительный интервал (ДИ) 0,029–0,230), $p = 0,0001$. Суммарное отношение шансов выбывания было значительно выше у леченых по сравнению с контрольной группой, ОШ = 0,389 (95% ДИ 0,155–0,957), $p = 0,04$. Исследования были неоднородными в отношении вирусологического ответа и выбывания. В подгруппе клинических исследований ($n = 6$) с участием только пациентов, получающих диализ и монотерапию альфа-интерфероном при хронической HCV, были установлены достоверные отличия в риске неполучения УВО (исследование по сравнению с контрольной группой), ОШ = 0,054 (95% ДИ 0,019–0,150), $p = 0,0001$. Не было разницы в уровне выбывания между исследуемой и контрольной группой пациентов (ОШ = 0,920 (95% ДИ 0,367–2,311), недостоверно). Исследование Мета-1 показало, что вирусологический ответ был выше у пациентов с хронической болезнью почек, получавших противовирусную терапию, в сравнении с контролем. Не установлены различия в уровне выбывания между исследуемой и контрольной группами у больных на диализе, получавших монотерапию альфа-интерфероном [67].

Что касается исследования Мета-2, авторы рассматривали данные тех хронических диализных больных с хронической HCV-инфекцией, которые получали лечение α -интерфероном или пегилированным α -интерфероном с рибавирином или без него [68]. Они провели поиск по обозначенным условиям в базе MEDLINE с 1966 года и отобрали только отдельные исследования с размером выборки более 10. Авторы рассматривали следующие параметры: УВО в течение 6 месяцев после лечения, частота прекращения лечения, вызванная побочными эффектами, и факторы, связанные с этими результатами. Они проанализировали 20 исследований, включавших 459 пациентов, леченных α -интерфероном, три исследования с участием 38 пациентов, леченных пегилированным α -интерфероном, и два исследования, в которые вошли 49 пациентов, получавших пегилированный α -интерферон и рибавирин. Общий уровень УВО составил 41 % (95% ДИ 33–49) для альфа-интерферона и 37 (95% ДИ 9–77) — для пегилированного α -интерферона. Частота прекращения лечения составила 26 % (95% ДИ 20–34) для альфа-интерферона и 28 % (95% ДИ 12–53) — для пегилированного α -интерферона. УВО был выше при использовании 3 МЕ альфа-интерферона или более три раза в неделю, при более низком среднем уровне РНК вируса гепатита С, более низкой частоте цирроза печени, генотипа 1 гепатита С или повышенных уровнях трансаминаз, хотя эти данные не были статистически значимыми.

Частота прекращения лечения была выше в исследованиях с использованием больших доз. Таким образом, по-

from alpha-interferon were numerous, particularly in the ESKD population. The main side effects were fatigue/weakness and loss of appetite, which may lead to weight loss and, thus, fluid overload if dry weight is not adapted accordingly. Many patients also developed anemia, which often requires commencement or increased treatment with erythropoietin-stimulating agents; in addition, seizures can occur if there is fluid overload and hypertension. The limitations of these meta-analyses were publication bias, there were few randomized controlled trials, and there were limitations in generalizability of all hemodialysis patients. In conclusion, alpha-IFN treatment of hemodialysis patients resulted in an SVR rate of 41%. Thus, a higher weekly dose of α -IFN, a lower mean level of pre-treatment HCV RNA, a lower rate of cirrhosis, an HCV genotype different from 1, and/or decreased transaminase levels may all be associated with greater SVR rates [68].

A more recent meta-analysis has been published on a group of 770 hemodialysis patients with chronic HCV infection, in which the authors evaluated factors that were associated to SVR after α -pegylated or standard α -IFN monotherapy. Twenty-one studies on α -IFN-alfa2a or α -IFN-alfa2b (491 patients), and 12 on pegylated-IFN-alfa2a or PEG-IFN-alfa2b (279 patients), were evaluated. The pooled SVRs for standard and pegylated α -IFN monotherapy in random-effect models were 39.1 % (95% CI 32.1 to 46.1) and 39.3 % (95% CI 26.5 to 52.1), respectively. Pooled dropout rates were 22.6 % (95% CI 10.4 to 34.8) and 29.7 % (95% CI 21.7 to 37.7), respectively. Female gender, HCV-RNA copies per mL, HCV genotype, alanine transaminase pattern, duration of infection, stage of liver fibrosis, and treatment duration were not associated with SVR. Only an age less than 40 years was significantly associated with SVR (odds ratio, 2.17; 95% CI 1.03 to 4.50) [69].

There are only few limited reports that describe the combined use of (peg)alpha-interferon and ribavirin in dialysis patients. With regard to this combined therapy, the AASLD guidelines state that «ribavirin can be used in combination with interferon with a markedly reduced daily dose with careful monitoring for anemia and other adverse effects» [58]. The largest series published so far on the combined use of peginterferon alpha-2a plus ribavirin in hemodialysis patients obtained a SVR rate of 97 % (34/35) in the treated patients (peginterferon alpha-2a plus ribavirin) vs. 0 % (0/35) in untreated controls [70]. These findings have not been confirmed in further reports where the SVR rate ranges between 7 and 71 % [71].

бочные эффекты альфа-интерферона были многочисленны, особенно у пациентов с терминальной стадией ХПН. Основными побочными эффектами были утомляемость/слабость и потеря аппетита, что может приводить к потере веса и, таким образом, перегрузке жидкостью, если сухой вес не будет соответствующим образом скорректирован. У многих пациентов также развилась анемия, которая часто требовала начала или усиления терапии эритропоэтин-стимулирующими агентами; кроме того, могут возникать судорожные приступы, обусловленные перегрузкой жидкостью и гипертензией. Ограничениями этих метаанализов были систематические ошибки, недостаточное количество рандомизированных контролируемых испытаний и ограничения в обобщаемости данных всех пациентов на гемодиализе. В выводах указано, что лечение гемодиализных пациентов альфа-интерфероном привело к УВО в 41 % случаев. Таким образом, более высокая еженедельная доза альфа-интерферона, более низкий уровень РНК вируса гепатита С перед лечением, более низкая частота цирроза печени, генотип ВГС, отличающийся от 1, и/или сниженный уровень трансаминаз связаны с повышением УВО [68].

Данные 770 гемодиализных пациентов с хроническим ВГС были опубликованы в недавнем метаанализе, в котором авторы оценивали факторы, связанные с наличием УВО после монотерапии пегилированным α -интерфероном или стандартной монотерапии альфа-интерфероном. Было проанализировано 21 исследование, в котором применяли ИФН-альфа-2а или ИФН-альфа-2b (491 пациент), и 12 — пегилированный ИФН-альфа-2а или -2b (279 пациентов). Суммарный УВО после монотерапии стандартным и пегилированным α -интерфероном в модели со случайными эффектами составил 39,1 % (95% ДИ 32,1–46,1) и 39,3 % (95% ДИ 26,5–52,1) соответственно. Общий показатель прекращения лечения был равен 22,6 % (95% ДИ 10,4–34,8) и 29,7 % (95% ДИ 21,7–37,7) соответственно. Женский пол, количество копий РНК ВГС в миллилитре, генотип, уровень аланинтрансаминазы, длительность заболевания, стадия фиброза печени и продолжительность лечения не были связаны с формированием УВО. И только возраст до 40 лет был в значительной степени связан с УВО (ОШ 2,17, 95% ДИ 1,03–4,50) [69].

Есть только несколько сообщений с ограниченной информативностью, описывающих совместное использование (Пег)альфа-интерферона и рибавирина у больных на диализе. Поэтому рекомендации AASLD в отношении комбинированной терапии гласят, что «рибавирин может быть использован в редуцированных дозах в комбинации с интерфероном при тщательном контроле анемии и других побочных эффектов» [58]. К настоящему времени в крупнейшем опубликованном исследовании сочетанное использование пегилированного интерферона-альфа-2а и рибавирина у пациентов на гемодиализе позволило получить УВО у 97 % (34/35) пациентов по сравнению с 0 % (0/35) нелеченых пациентов из группы контроля [70]. Эти данные не были подтверждены в дальнейших работах, в которых частота УВО колеблется от 7 до 71 % [71].

Treatment of acute HCV infection in CKD patients

In the general population, with regard to the treatment of acute HCV infection, the AASLD guidelines state that «treatment can be delayed for 8 to 12 weeks after acute onset of hepatitis to allow spontaneous resolution... Although excellent results were achieved using standard interferon monotherapy, it is appropriate to consider the use of peginterferon... Until more information becomes available, no definitive recommendation can be made about the optimal duration needed for treatment of acute hepatitis C; however, it is reasonable to treat for at least 12 weeks and 24 weeks may be considered» [61].

In dialysis patients, Liu et al. have very recently published their experience regarding the treatment of acute HCV infection. They included 35 dialysis patients that had no spontaneous clearance of HCV at 16 weeks after acute HCV infection. They were thus then given a course of peginterferon alpha 2a at 135 µg weekly for 24 weeks [72]. They compared the results with those from a historical series of 36 hemodialysis patients who had acute hepatitis C, but had not received treatment. The rate of SVR in their treatment group was significantly higher than the rate of spontaneous HCV clearance in the control historical series group (88.6 % vs. 16.7 %). All but one patient had a rapid virologic response (undetectable HCV RNA levels at 4 weeks of therapy), and all patients who received more than 12 weeks of therapy had early and end-of-treatment virologic responses. All patients who had clearance of HCV by 16 weeks had undetectable HCV RNA levels during and at the end of follow-up. Liu et al. conclude that «Pegylated IFN alfa-2a monotherapy is safe and efficacious for hemodialysis patients with acute hepatitis C. It is suggested that patients without spontaneous clearance of HCV by week 16 should receive this therapy» [72].

In addition, dialysis patients who were cleared of the HCV virus after antiviral therapy, and received kidney transplantation, did not present with HCV reactivation, despite heavy immunosuppression [73]. Hence, 16 HCV seropositive/HCV RNA-positive hemodialysis patients who were treated with IFN-alpha (9 MU/wk during 6 or 12 months) underwent kidney transplantation 38 months (range, 2 to 57) after alpha-IFN therapy. At kidney transplantation, HCV viremia was negative in all patients. Immunosuppression relied on anticalcineurin agents with or without steroids and/or antimetabolites; in addition, 12 of them received induction therapy with antithymocyte globulins; at the last follow-up after kidney transplantation, i.e. 22.5 months (range, 2 to 88), HCV viremia remained negative in all pa-

Лечение острого гепатита С у пациентов с ХБП

Что касается лечения острого гепатита С в общей популяции, то в руководстве AASLD утверждается, что «лечение может быть отложено на 8–12 недель после начала острого гепатита, чтобы сделать возможным спонтанное разрешение процесса... Несмотря на отличные результаты при использовании стандартной монотерапии интерфероном, целесообразно рассмотреть вопрос об использовании пегинтерферона... До получения большего объема информации не представляется возможным дать окончательные рекомендации об оптимальной продолжительности необходимого лечения острого гепатита С, однако есть основания полагать, что лечение следует проводить в течение по крайней мере 12 и 24 недель» [61].

Liu и соавт. недавно опубликовали данные об опыте лечения острого гепатита у диализных пациентов. Они включили в исследование 35 диализных пациентов, у которых к 16-й неделе от дебюта острого гепатита не наблюдалась спонтанной элиминации ВГС. В связи с этим они назначали лечение пегилированным интерфероном-альфа-2а в дозе 135 мкг в неделю в течение 24 недель [72]. Авторы сравнили результаты с историческим контролем из 36 гемодиализных пациентов с острым гепатитом С, не получавших лечения. Уровень УВО в группе лечения был значительно выше, чем скорость спонтанного клиренса ВГС в контрольной группе исторической серии (88,6 против 16,7 %). Все, кроме одного пациента, имели быстрый вирусологический ответ (отсутствие РНК ВГС на 4-й неделе лечения), и у всех пациентов, которые получали терапию более 12 недель, отмечен ранний и окончательный вирусологический ответ. У всех пациентов, у которых к 16-й неделе наблюдали элиминацию ВГС, во время и в конце периода наблюдения не обнаруживали РНК ВГС. Liu и соавт. заключили, что «монотерапия пегилированным ИФН альфа-2а является безопасной и эффективной у гемодиализных пациентов с острым гепатитом С. Предполагается, что пациенты без спонтанной элиминации HCV к 16-й неделе должны получить такую терапию» [72].

Кроме того, у диализных пациентов с элиминацией вируса HCV после противовирусной терапии, которым пересадили почку, не происходило реактивации HCV, несмотря на проведение массивной иммуносупрессии [73]. 16 ВГС-серопозитивных/РНК ВГС-позитивных гемодиализных пациентов, которых лечили интерфероном-альфа (9 МЕ/нед в течение 6 или 12 месяцев), подверглись трансплантации почки через 38 месяцев (от 2 до 57) после терапии альфа-интерфероном. При трансплантации почек HCV виремия отсутствовала у всех пациентов. Иммуносупрессию проводили на основе антикальциевых препаратов в сочетании со стероидами и/или антиметаболитами или без них; кроме того, 12 пациентов получили индукционную терапию антилимфоцитарными глобулинами; при последнем наблюдении после трансплантации почки, т.е. через 22,5 месяца (диапазон от 2 до 88), виремия HCV отсутствовала у всех пациентов [73]. Недавно мы изучали персистенцию ВГС-инфекции

tients [73]. Recently, we have assessed the persistence of HCV infection in 26 HCV seropositive kidney-transplant patients currently receiving immunosuppressants, and who were formerly infected with HCV, i.e., they had eliminated HCV either spontaneously or after interferon- α therapy while on hemodialysis [74]. No biochemical or virological relapse was seen during the median posttransplant follow-up of 10.5 years (range: 2–16) in those patients who received immunosuppressive therapy that included calcineurin inhibitors (100 %), and/or steroids (62 %), and/or antimetabolites (94 %). At the last follow-up, all had undetectable HCV RNA according to the conventional tests that were repeated, on average, five times (range, 1–15). We also looked for residual HCV RNA in their plasma and peripheral blood-mononuclear cells (PBMCs) (stimulated or not in culture) with an ultrasensitive RT-PCR assay, followed by Southern blotting for PBMCs: no HCV genomic RNA was detected in the plasma samples or in the unstimulated and stimulated PBMCs. Thus, an absence of a relapse of HCV in formerly HCV-infected immunocompromised patients suggests complete eradication of HCV after its elimination while on dialysis [74]. These findings highlight the fact that HCV-positive dialysis patients who have a SVR after completion of alpha-(peg)interferon therapy are really cured of HCV.

Treatment of HCV-related glomerulonephritis

Patients with moderate proteinuria and non-rapid but progressive renal failure:

- symptomatic treatment: anti-HCV therapy for at least 12 months;
- standard α -interferon 3 MU three times/week or pegylated α -IFN 1.5 μ g/kg/week;
- ribavirin: dose adapted to the creatinine clearance or to a trough plasma concentration of 10 to 15 mmol/L with or without erythropoietin support.

Patients with nephrotic-range proteinuria and/or progressive renal failure:

- symptomatic therapy: furosemide, angiotensin-converting enzyme inhibitor alone or combined with an angiotensin receptor antagonist;
- plasma exchange: 3 L of plasma three times/week for 2 or 3 weeks;
- rituximab: 375 mg/m²/week for 4 weeks* or cyclophosphamide: 2 mg/kg/d for 2–4 months;
- methylprednisolone pulses: 0.5 to 1 g/d for 3 consecutive days;
- anti-HCV therapy (see above).

Note: * — additional infusions of rituximab might be given in cases of early relapse after conventional therapy.

у 26 серопозитивных пациентов после трансплантации, которые в настоящее время получают иммунодепрессанты и были ранее инфицированы ВГС; элиминация HCV произошла у них спонтанно или после терапии интерфероном- α во время лечения гемодиализом [74]. Не установлено биохимического или вирусологического рецидива в период наблюдения после трансплантации в среднем в течение 10,5 года (диапазон от 2 до 16) у тех пациентов, которые получали иммуносупрессивную терапию, включавшую ингибиторы кальциневрина (100 %), и/или стероиды (62 %), и/или антиметаболиты (94 %). При последнем осмотре ни у кого из них не была обнаружена РНК ВГС по результатам стандартных тестов, которые повторялись в среднем пять раз (диапазон от 1 до 15). Мы также искали остаточную РНК ВГС в плазме и периферической крови мононуклеарных клеток (стимулированных или не в культуре) с помощью сверхчувствительного ОТ-ПЦР анализа, а затем Southern-блоттинга для мононуклеаров: геномная РНК вируса гепатита С не была обнаружена в плазме образцов или в нестимулированных и стимулированных мононуклеарах. Таким образом, отсутствие рецидива гепатита С у пациентов с ослабленным иммунитетом, ранее инфицированных ВГС, предполагает полную эрадикацию HCV после его ликвидации во время диализа [74]. Эти данные подчеркивают тот факт, что HCV-позитивные диализные пациенты, у которых отмечается УВО после завершения терапии альфа-(Пег)интерфероном, действительно излечиваются от гепатита.

Лечение HCV-ассоциированного гломерулонефрита

Пациенты с умеренной протеинурией и медленно прогрессирующей почечной недостаточностью:

- симптоматическое лечение: анти-HCV-терапия в течение 12 месяцев;
- стандартная терапия альфа-интерфероном 3 млн МЕ три раза в неделю или пегилированным альфа-интерфероном 1,5 мкг/кг/нед.;
- рибавирин: доза адаптирована к клиренсу креатинина или его концентрации в плазме крови в диапазоне от 10 до 15 ммоль/л, с сопутствующей терапией эритропоэтином или без нее.

Больные с нефротической протеинурией и/или прогрессирующей почечной недостаточностью:

- симптоматическая терапия: фуросемид, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, отдельно или в сочетании с антагонистом рецепторов ангиотензина;
- плазмаферез: 3 л плазмы 3 раза в неделю в течение 2 или 3 недель;
- ритуксимаб: 375 мг/м²/нед в течение 4 недель* или циклофосфамид 2 мг/кг/сут в течение 2–4 месяцев;
- пульс-терапия метилпреднизолоном: от 0,5 до 1 г/сут в течение 3 дней подряд;
- анти-ВГС-терапия (см. выше).

Примечание: * — дополнительные инфузии ритуксимаба могут быть назначены в случае раннего рецидива после традиционной терапии.

Список литературы / References

1. Cacoub P., Costedoat-Chalumeau N., Lidove O., Alric L. Cryoglobulinemia vasculitis // *Curr. Opin. Rheumatol.* 2002; 14: 29.
2. Sabry A.A., Sobh M.A., Irving W.L. et al. A comprehensive study of the association between hepatitis C virus and glomerulopathy // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002; 17: 239.
3. D'Amico G. Renal involvement in hepatitis C infection: cryoglobulinemic glomerulonephritis // *Kidney Int.* 1998; 54: 650.
4. Morales J., Morales E., Andres A., Praga M. Glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1999; 8: 205.
5. Cosio F.G., Roche Z., Agarwal A. et al. Prevalence of hepatitis C in patients with idiopathic glomerulopathies in native and transplant kidneys // *Am. J. Kidney Dis.* 1996; 28: 752.
6. Alraif I.H., Abdulla A.S., al Sebayel M.I. et al. Hepatitis C associated glomerulonephritis // *Am. J. Nephrol.* 1995; 15: 407.
7. Stehman-Breen C., Alpers C.E., Fleet W.P., Johnson R.J. Focal segmental glomerular sclerosis among patients infected with hepatitis C virus // *Nephron.* 1999; 81: 37.
8. Horikoshi S., Okada T., Shirato I. et al. Diffuse proliferative glomerulonephritis with hepatitis C virus-like particles in paramesangial dense deposits in a patient with chronic hepatitis C virus hepatitis // *Nephron.* — 1993; 64: 462.
9. Johnson R.J., Gretch D.R., Couser W.G. et al. Hepatitis C virus-associated glomerulonephritis. Effect of alpha-interferon therapy // *Kidney Int.* 1994; 46: 1700.
10. Coroneos E., Truong L., Olivero J. Fibrillary glomerulonephritis associated with hepatitis C viral infection // *Am. J. Kidney Dis.* 1997; 29: 132.
11. Markowitz G.S., Cheng J.T., Colvin R.B. et al. Hepatitis C viral infection is associated with fibrillary glomerulonephritis and immunotactoid glomerulopathy // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1998; 9: 2244.
12. Gonzalo A., Navarro J., Barcena R. et al. IgA nephropathy associated with hepatitis C virus infection // *Nephron.* 1995; 69: 354.
13. Usalan C., Erdem Y., Altun B. et al. Rapidly progressive glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection // *Clin. Nephrol.* 1998; 49: 129.
14. Herzenberg A.M., Telford J.J., De Luca L.G. et al. Thrombotic microangiopathy associated with cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis and hepatitis C // *Am. J. Kidney Dis.* 1998; 31: 521.
15. Arase Y., Ikeda K., Murashima N. et al. Glomerulonephritis in autopsy cases with hepatitis C virus infection // *Intern. Med.* 1998; 37: 836.
16. McGuire B.M., Julian B.A., Bynon J.S.J. et al. Glomerulonephritis in patients with hepatitis C virus cirrhosis undergoing liver transplantation // *Ann. Intern. Med.* 2006; 144: 735.
17. Cruzado J.M., Torras J., Gil-Vernet S., Grinyo J.M. Glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection after renal transplantation // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000; 15: 65.
18. Gally B.J., Alpers C.E., Davis C.L. et al. Glomerulonephritis in renal allografts associated with hepatitis C infection: a possible relationship with transplant glomerulopathy in two cases // *Am. J. Kidney Dis.* 1995; 26: 662.
19. Baid S., Pascual M., Williams W.W. Jr. et al. Renal thrombotic microangiopathy associated with anticardiolipin antibodies in hepatitis C-positive renal allograft recipients // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999; 10: 146.
20. Tarantino A., Campise M., Banfi G. et al. Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemic glomerulonephritis // *Kidney Int.* 1995; 47: 618.
21. Fabrizi F., Colucci P., Ponticelli C., Locatelli F. Kidney and liver involvement in cryoglobulinemia // *Semin. Nephrol.* 2002; 22: 309.
22. Yamabe H., Inuma H., Osawa H. et al. Glomerular deposition of hepatitis C virus in membranoproliferative glomerulonephritis // *Nephron.* 1996; 72: 741.
23. Johnson R.J., Gretch D.R., Yamabe H. et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection // *N. Engl. J. Med.* 1993; 328: 465.
24. Johnson R.J., Willson R., Yamabe H. et al. Renal manifestations of hepatitis C virus infection // *Kidney Int.* 1994; 46: 1255.
25. Yamabe H., Johnson R.J., Gretch D.R. et al. Hepatitis C virus infection and membranoproliferative glomerulonephritis in Japan // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1995; 6: 220.
26. Agnello V., Chung C., Kaplan L.M. A role of hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia // *N. Engl. J. Med.* 1992; 327: 1490.
27. Rollino C., Roccatello D., Giachino O. et al. Hepatitis C virus infection and membranous glomerulonephritis // *Nephron.* 1991; 59: 319.
28. Davda R., Peterson J., Weiner R. et al. Membranous glomerulonephritis in association with hepatitis C virus infection // *Am. J. Kidney Dis.* 1993; 22: 452.
29. Okada K., Takishita Y., Shimomura H. et al. Detection of hepatitis C virus core protein in the glomeruli of patients with membranous glomerulonephritis // *Clin. Nephrol.* 1996; 45: 71.
30. Morales J.M., Pascual-Capdevila J., Campistol J.M. et al. Membranous glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection in renal transplant patients // *Transplantation* 1997; 63: 1634.
31. Morales E., Alegre R., Herrero J.C. et al. Hepatitis C-virus-associated cryoglobulinaemic membranoproliferative glomerulonephritis in patients infected by HIV // *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997; 12: 1980.
32. Cheng J.T., Anderson H.L.J., Markowitz G.S. et al. Hepatitis C virus-associated glomerular disease in patients with human immunodeficiency virus coinfection // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999; 10: 1566.
33. Stokes M.B., Chawla H., Brody R.I. et al. Immune complex glomerulonephritis in patients coinfecting with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus // *Am. J. Kidney Dis.* 1997; 29: 514.
34. Soma J., Saito T., Taguma Y. et al. High prevalence and adverse effect of hepatitis C virus infection in type II diabetic-related nephropathy // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000; 11: 690.
35. Crook E.D., Penumalee S., Gavini B., Filippova K. Hepatitis C is a predictor of poorer renal survival in diabetic patients // *Diabetes Care.* 2005; 28: 2187.
36. Chadban S.J., Atkins R.C. Glomerulonephritis // *Lancet.* 2005; 365: 1797.
37. Misiani R., Bellavita P., Fenili D. et al. Interferon alfa-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus // *N. Engl. J. Med.* 1994; 330: 751.
38. Sabry A.A., Sobh M.A., Sheaashaa H.A. et al. Effect of combination therapy (ribavirin and interferon) in HCV-related glomerulopathy // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002; 17: 1924.
39. Bruchfeld A., Lindahl K., Stahle L. et al. Interferon and ribavirin treatment in patients with hepatitis C-associated renal disease and renal insufficiency // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003; 18: 1573.
40. Rossi P., Bertani T., Baio P. et al. Hepatitis C virus-related cryoglobulinemic glomerulonephritis: long-term remission after antiviral therapy // *Kidney Int.* 2003; 63: 2236.
41. Alric L., Plaisier E., Thebault S. et al. Influence of antiviral therapy in hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic MPGN // *Am. J. Kidney Dis.* 2004; 43: 617.
42. Lamb M., Marks I., Wynohradnyk L. et al. 40 kDa peginterferon alfa-2a (Pegasys) can be administered safely in patients with end-stage renal disease // *Hepatology.* 2001; 34: 326A.
43. Gupta S.K., Pittenger A.L., Swan S.K. et al. Single-dose pharmacokinetics and safety of pegylated interferon-alpha2b in patients with chronic renal dysfunction // *J. Clin. Pharmacol.* 2002; 42: 1109.
44. Hu S.L., Jaber B.L. Ribavirin monotherapy for hepatitis C virus-associated membranous nephropathy // *Clin. Nephrol.* 2005; 63: 41.

45. Kamar N., Sandres-Saune K., Selves J. et al. Long-term ribavirin therapy in hepatitis C virus-positive renal transplant patients: effects on renal function and liver histology // *Am. J. Kidney Dis.* 2003; 42: 184.
46. Pham H.P., Feray C., Samuel D. et al. Effects of ribavirin on hepatitis C-associated nephrotic syndrome in four liver transplant recipients // *Kidney Int.* 1998; 54: 1311.
47. Kamar N., Chatelut E., Manolis E. et al. Ribavirin pharmacokinetics in renal and liver transplant patients: evidence that it depends on renal function // *Am. J. Kidney Dis.* 2004; 43: 140.
48. Bruchfeld A., Lindahl K., Schvarcz R., Stahle L. Dosage of ribavirin in patients with hepatitis C should be based on renal function: a population pharmacokinetic analysis // *Ther. Drug. Monit.* 2002; 24: 701.
49. Lin C.C., Philips L., Xu C., Yeh L.T. Pharmacokinetics and safety of viramidine, a prodrug of ribavirin, in healthy volunteers // *J. Clin. Pharmacol.* 2004; 44: 265.
50. Lindahl K., Schvarcz R., Bruchfeld A., Stahle L. Evidence that plasma concentration rather than dose per kilogram body weight predicts ribavirin-induced anaemia // *J. Viral. Hepat.* 2004; 11: 84.
51. Kamar N., Boulestin A., Selves J. et al. Factors accelerating liver fibrosis progression in renal transplant patients receiving ribavirin monotherapy for chronic hepatitis C // *J. Med. Virol.* 2005; 76: 61.
52. Zaja F., De Vita S., Mazzaro C. et al. Efficacy and safety of rituximab in type II mixed cryoglobulinemia // *Blood.* 2003; 101: 3827.
53. Roccatello D., Baldovino S., Rossi D. et al. Long-term effects of anti-CD20 monoclonal antibody treatment of cryoglobulinaemic glomerulonephritis // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004; 19: 3054.
54. Quartuccio L., Soardo G., Romano G. et al. Rituximab treatment for glomerulonephritis in HCV-associated mixed cryoglobulinaemia: efficacy and safety in the absence of steroids // *Rheumatology (Oxford).* 2006; 45: 842.
55. Basse G., Ribes D., Kamar N. et al. Rituximab therapy for de novo mixed cryoglobulinemia in renal-transplant patients // *Transplantation.* 2005; 80: 1560.
56. Fabrizi F., Plaisier E., Saadoun D. et al. Hepatitis C virus infection, mixed cryoglobulinemia, and kidney disease // *Am. J. Kidney Dis.* 2012, Oct 25. doi: pii: S0272-6386(12)01230-9. 10.1053/j.ajkd.2012.08.040.
57. Saadoun D., Resche Rigon M., Sene D. et al. Rituximab plus Peg-interferon-alpha/ribavirin compared with Peg-interferon-alpha/ribavirin in hepatitis C-related mixed cryoglobulinemia // *Blood.* 2010; 116: 326-34.
58. Dammacco F., Tucci F.A., Lauletta G. et al. Pegylated interferon-alpha, ribavirin, and rituximab combined therapy of hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia: a long-term study // *Blood.* 2010; 116: 343-53.
59. Sneller M.C., Hu Z., Langford C.A. A randomized controlled trial of rituximab following failure of antiviral therapy for hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis // *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 835-42. doi: 10.1002/art.34322.
60. De Vita S., Quartuccio L., Isola M. et al. A randomized controlled trial of rituximab for the treatment of severe cryoglobulinemic vasculitis // *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 843-53. doi: 10.1002/art.34331.
61. Ghany M.G., Strader D.B., Thomas D.L., Seef L.B. AASLD practice guidelines. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update // *Hepatology.* 2009; 49: 1335-74.
62. Bocci V., Pacini A., Muscettola M. et al. Renal filtration, absorption, and catabolism of human alpha interferon // *J. Interferon Res.* 1981; 1: 347-52.
63. Glue P. The clinical pharmacology of ribavirin // *Semin. Liver Dis.* 1999; 19, Suppl. 1: 17-24.
64. Gupta S.K., Pittenger A.L., Swan S.K. et al. Single-dose pharmacokinetics and safety of pegylated interferon-alpha 2b in patients with chronic renal dysfunction // *J. Clin. Pharmacol.* 2002; 42: 1109-15.
65. Brochet E., Castelain J., Duverlie G. et al. Ribavirin monitoring in chronic hepatitis C therapy: anemia versus efficacy // *Antivir. Ther.* 2010; 15: 687-95.
66. Casanovas Taltavull T., Baliellas Comellas C., Cruzado Garrirt J.M. Results of hepatitis C virus treatment in patients on hemodialysis: data from published meta-analyses in 2008 // *Transplant. Proc.* 2009; 41: 2082-4.
67. Fabrizi F., Ganeshan S.V., Lunghi G., Messa P., Martin P. Antiviral therapy of hepatitis C in chronic kidney diseases: meta-analysis of controlled clinical trials // *J. Viral. Hepat.* 2008; 15: 600-6.
68. Gordon C.E., Uhlig K., Lau J., Levey A.S., Wong J.B. Interferon treatment in hemodialysis patients with chronic hepatitis C virus infection: a systematic review of the literature and meta-analysis of treatment efficacy and harms // *Am. J. Kidney Dis.* 2008; 51: 263-7.
69. Alavian S.M., Tabatabaei S.V. Meta-analysis of factors associated with sustained viral response in patients on hemodialysis treated with standard or pegylated interferon for hepatitis C infection // *Iran J. Kidney Dis.* 2010; 4: 181-94.
70. Rendina M., Schena A., Castellaneta N.M. et al. The treatment of chronic hepatitis C with peginterferon alpha-2a (40 kDa) plus ribavirin in hemodialysed patients awaiting renal transplant // *J. Hepatol.* 2007; 46: 768-74.
71. Fabrizi F., Messa P., Basile C., Martin P. Hepatic disorders in chronic kidney disease // *Nat. Rev. Nephrol.* 2010; 6: 721-6.
72. Liu C.H., Liang C.C., Liu C.J. et al. Pegylated interferon alfa-2a monotherapy for hemodialysis patients with acute hepatitis C // *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51: 541-549.
73. Kamar N., Toupance O., Buchler M., Sandres-Saune K., Izopet J., Durand D. et al. Evidence that clearance of hepatitis C virus RNA after alpha-interferon therapy in dialysis patients is sustained after renal transplantation // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14: 2092-8.
74. Nicot F., Kamar N., Mariame B. et al. No evidence of occult hepatitis C virus (HCV) infection in serum of HCV antibody-positive HCV RNA-negative kidney-transplant patients // *Transplant. Int.* 2010; 23: 594-601.

Получено 21.01.13 □