

## ТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С С УЧЕТОМ ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ

Романцов М.Г., Кремень Н.В., Наровлянский А.Н., Фолитар И.В.,  
Сологуб Т.В.

*ГОУВПО Санкт-Петербургская государственная медицинская  
академия им. И.И. Мечникова,*

*ГУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии  
и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН*

Подробная информация об авторах размещена на сайте  
«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

**В статье приведены результаты оценочных тестов индивидуальной восприимчивости к интерферонам 1-го и 2-го типов мРНК цитокинов у больных хроническим верифицированным гепатитом С. Целью исследования была выработка оптимальной схемы лекарственной терапии хронического гепатита С, её корректировка. Положительный ответ Th1-лимфоцитов, сопровождавшийся клиническими, вирусологическими и биохимическими улучшениями, наблюдался у 85,3% пациентов вследствие 4-х недельной терапии рибавирином и индивидуально подобранными препаратами 1-го и 2-го типов (Альфарон и Ингарон).**

Вирусный гепатит С (ВГС) является прогрессирующей хронической инфекцией с постоянным ростом заболеваемости как во всем мире, так и в Российской Федерации. Если показатель так называемого «носительства» вируса гепатита С в 1999г составлял 93,5 на 100 тыс. населения, то в 2005 он уже составил 104,8 на 100 тыс. населения [8,10,18].

Важнейшей особенностью HCV-инфекции является длительное течение, растягивающееся на многие годы, принимающая характер медленной инфекции с высокой частотой развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. ВГС является иммуноопосредованной инфекцией, при которой повреждение гепатоцитов наступает вследствие реализации как прямого цитопатического эффекта вируса, так и вследствие иммунологически опосредованного повреждения, которое реализуется при взаимодействии цитотоксических лимфоцитов с клетками печени, содержащими вирус. Кроме того, при ВГС развиваются аутоиммунные реакции, связанные с высоким сходством белковых структур вируса и клеток печени. Основную роль в патогенезе HCV-инфекции играет Т-клеточное звено иммунитета и от его на-

правленности зависит как исход заболевания, так и характер его течения в целом [1, 9].

Интерфероны 1 типа обладают противовирусной активностью и участвуют в защите организма от инфекций. Их противовирусная активность связана с экспрессией генов 2-5-олигоаденилатсинтетазы, протеинкиназы, активируемой двуспиральной РНК, протеина, связанного с гуанилатом, белка МхА. Белковые продукты этих генов определяют клеточную резистентность, ингибируя репликацию вируса, препятствуя его диссеминации. Интерфероны-алфа/бета обладают и выраженным иммунорегуляторным действием, модулируя продукцию антител, повышают клеточную цитотоксичность Т-лимфоцитов, естественных киллеров, ингибируя пролиферативную активность лимфоцитов, Т-клеточную супрессию и способствуют преимущественной дифференцировке Т-хелперов в Th1 лимфоцитов. Определяют созревание и функцию дендритных клеток (ДС), которые также как и плазматоцитидные моноциты при вирусных и бактериальных инфекциях продуцируют в 200-1000 раз больше ИФН, чем другие клетки крови. Защита макрофагов и денд-

ритных клеток от вирусов предотвращает развитие фатального синдрома системного воспалительного ответа, характеризующего высвобождением воспалительных цитокинов (ИЛ-12, ИФН-альфа, ФНО, ИЛ-6). Цитокины, производимые клетками организма, регулируют не только продукцию ИФН-альфа/бета, но и противовирусную функцию, индуцируя «противовирусное состояние», которое характеризуется как подавлением вирусной репликации, так и усилением способности клеток лизировать инфицированные вирусом клетки [2, 4, 9, 17].

Если интерфероны 1-го типа принимают непосредственное участие в защите от вирусов, то гамма-интерферон в иммунной системе занимает более высокое иерархическое положение, влияя на процессы клеточного иммунитета, как неспецифического, так и специфического, поэтому он и получил название «иммунный интерферон». Под влиянием интерферона-гамма Т-лимфоциты с хелперной направленностью приобретают способность синтезировать кроме гамма-интерферона, интерлейкин 2, -12, и ряд других цитокинов, потенцирующих клеточный иммунитет (Th1-иммунный ответ). Активированный рецептор интерферон-гамма взаимодействует с транскрипционным регулятором STAT-1 двумя типами протеинкиназ, которые фосфорилируют фактор STAT-1, приводя его к димеризации, в такой форме он способен транспортироваться в клеточное ядро и связываться с регуляторными последовательностями генов, вовлеченных в клеточный ответ на данный стимул. Результатом активации этих генов является формирование клеточной защиты от вирусной инфекции, включением синтеза ИЛ-12, важнейшего партнера интерферон-гамма в противостоянии вирусным инфекциям [4,5,7, 15, 18].

Многое в механизмах иммунорегуляции интерферонов остается неизученным, но биологическая роль интерферонов в организме, по мнению С.А.Кетлинского и А.С.Симбирцева (2008), представляется следующим образом. Если продукция интерферона-альфа индуцирована слабым индуктором интерферона (к которым и относится и HCV), то экспрессия интерфе-

рона-альфа ограничивается первично стимулированными и дендритными клетками (DC). Интерферон-альфа обнаруживается при этих условиях наряду с ИЛ-12 и способствует экспрессии его рецептора на фоне увеличения продукции интерферона-гамма CD4+ и CD8+лимфоцитами. При низкой продукции интерферона-альфа происходит индукция ответа CD4+лимфоцитов по типу Th1, а если антиген представлен на молекулах МНС 1 класса, то CD8+ Т-лимфоциты продуцируют гамма-интерферон [9, 12]. Выздоровление может наступить лишь в случае активации Th1, которые обеспечивают должный уровень ИФН- $\gamma$ , ИЛ-2 и ФНО- $\alpha$ . В элиминации возбудителя важнейшую роль играет Т-клеточный ответ с формированием популяции антигенспецифических Th1-хелперов CD4+ и антигенспецифических МНС-рестриктированных цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, именно от баланса цитокинов зависит эффективность противоиной защиты [1, 18, 12].

Стандартом<sup>1</sup> лечения хронического гепатита С считают комбинированную терапию интерферонами (ИФН) и рибавирином, так как эти препараты обеспечивают как противовирусный, так и иммуномодулирующий эффект [16]. Возможность получения высокоэффективного и малотоксичного препарата для лечения гепатита С вселяет надежду больным с непереносимостью и резистентностью к существующей терапии. Кроме того, проводятся клинические испытания новых неспецифических средств - иммуномодуляторов. Таким образом, улучшение существующей терапии сегодня подразумевает добавление третьего препарата к ИФН и рибавирину с индивидуальным подбором лекарственных средств и дозы для конкретного больного, поскольку лечение с помощью базовых препаратов сопряжено со множеством нежелательных эффектов. Раннее выявление пациентов, у которых лечение оказывается неэффективным, позволит избежать множества нежелательных последствий. Вы-

<sup>1</sup> Об утверждении стандарта медицинской помощи больным хроническим вирусным гепатитом (Приказ Минздравсоцразвития России №571 от 21.07.2006г.)

явление факторов, определяющих эффективность противовирусного лечения, определяет оптимальную длительность терапии и позволяет добиться максимального вирусологического ответа в каждом отдельном случае.

Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что повышенная продукция Th1-цитокинов, в частности, ИФН- $\gamma$  и ФНО, необходима для активной защиты от инфекции вирусом гепатита С. В то же время Th2-цитокины, подавляя иммунные реакции в организме, приводят к усилению тенденции к хронизации инфекции. Становится совершенно очевидно, что оценка типа иммунного ответа является основой не только для прогноза течения заболевания, но и для оптимального лечения инфекции [8, 9, 12].

Для улучшения эффективности существующей базовой терапии нами обследо-

вано 110 больных хроническим гепатитом С. Пациенты были лицами молодого возраста (средний возраст больных составил  $31,4 \pm 4,7$  лет), преимущественно мужского пола (80 человек) без тяжелых сопутствующих заболеваний. Хронического алкоголизма и наркотической зависимости не выявлено ни у одного пациента. У больных верифицирован хронический вирусный гепатит С в моноварианте с различной степенью активности и репликативности. Обследование пациентов проводилось по общепринятой в гепатологической практике методике [тщательный клинический осмотр, оценка биохимических показателей крови (АЛТ, АСТ, билирубин, содержание общего белка и его фракций, мочевины и глюкозы)]. У пациентов проведено изучение уровня «вирусной нагрузки» методом количественной ПЦР с определением фенотипа вируса.

**Таблица 1.** Показатели экспрессии мРНК у больных хроническим гепатитом С

мРНК цитокинов	Число (в %) здоровых доноров, позитивных по мРНК	Число (в %) больных ХГС, позитивных по мРНК
IFN- $\alpha$	5.0	48.0 +9.6*
IFN- $\gamma$	30.0	33.0 +1.1*
TNF- $\alpha$	75.0	45.0 -0.6*
IL-1	35.0	41.0 +1.2*
IL-2	5.0	43.0 +8.6*
IL-4	5.0	17.0 +3.4*
IL-6	20.0	44.0 +2.2*
IL-8	10.0	7.0 -0.7*
IL-10	20.0	32.0 +1.6*
IL-12	70.0	41.0 -1.7*
IL-18	30.0	45.0 +1.5*

\*Кратность изменения показателя у больных хроническим гепатитом С в сравнении со здоровыми донорами

В последние годы получена «картина экспрессии клеточных мРНК» для некоторых заболеваний [3,6]. Нами изучена экспрессия мРНК генов цитокинов в сыворотке крови и мононуклеарах с установлением влияния на них лекарственных средств. Большинство цитокинов являются типичными индуцибельными медиаторами и в постнатальном периоде не синтезируются клетками вне воспалительной реакции и иммунного ответа, но некоторые цитокины не попадают под это правило, в результате конститутивной экспрессии генов часть из них синтезируется и находится в циркуляции, регулируя пролиферацию и дифференцировку отдельных клеток в течение всей жизни. Роль цитокинов в регуляции физиологических функций организма включает регуляцию нормальных физиологических функций, защитных реакций организма на местном и системном уровнях, регуляцию процессов регенерации тканей [6, 9, 12].

У больных хроническим гепатитом С повышена экспрессия мРНК IFN- $\alpha$ , IL-2,-4,6,10,-18, соответственно в 1.5-8.6 раза (табл. 1), на этом фоне выявлена тенденция к снижению продукции мРНК IL-12, -IL-8, TNF- $\alpha$ , соответственно в 0.6-1.7 раза, в сравнении со здоровыми донорами. Анализируя показатели экспрессии мРНК цитокинов можно выделить следующие закономерности:

Снижение экспрессии мРНК IL-12 (в 1.7 раза) с одновременной тенденцией падения (-0.6) мРНК TNF- $\alpha$ , свидетельствует о выраженной супрессии активности цитолитических Т-лимфоцитов, NK-клеток и макрофагов, индуцирующих продукцию IFN- $\gamma$ , что подтверждено тенденцией к увеличению (+1.1) его мРНК, приводя к хроническому персистирующему течению инфекционного процесса. Усиление экспрессии мРНК IFN- $\alpha$  в 9.6, а IL-2 в 8.6 раза и наметившей тенденцией увеличения (+1.5) мРНК IL-18 свидетельствует об активации макрофагально-моноцитарного звена и Th1-лимфоцитов, а превалирование (в 3.4 раза) мРНК IL-4, мРНК IL-6 в 2.2 раза с тенденцией к увеличению (+1.6) экспрессии мРНК IL-10 на фоне тенденции к снижению (-0.7) мРНК IL-8, указывает на подавление активности фагоцитирую-

щих (нейтрофилы) клеток, угнетении макрофагального звена иммунитета и Th2-лимфоцитов. Тенденция к усилению (+1.2) экспрессии мРНК IL-1 указывает на возможность антигенной стимуляции организма, посредством поступления сигнала от макрофагов к Т-лимфоцитам, в процессе первичного антигенного распознавания. Оценивая функционирование системы интерферона, отмечено, что у 52.0 и 67.0% больных ХГС наблюдалось отсутствие мРНК IFN- $\alpha/\gamma$ , нарушение их выработки происходит на уровне транскрипции.

Анализируя продукцию интерферонов у больных ХГС, установлено снижение синтеза обоих типов интерферона, их продукция не достигала уровня нижней границы нормы, что послужило основанием для включения в терапию больных ХГС препаратов IFN- $\alpha/\gamma$ .

Для более полного изучения механизмов регуляторного цитокинового ответа у больных ХГС, проведено изучение цитокинового профиля больных ХГС до начала лечения и через месяц после терапии ИФН- $\alpha$  (альфарон) и ИФН- $\gamma$  (ингарон). Лечение проводилось 60 пациентам, страдающим ХГС с умеренной активностью и репликативностью. Длительность заболевания у больных колебалась от 1,5 до 6 лет, в среднем 3,9 года. Уровень вирусной нагрузки колебался от  $10^3$  до  $10^6$  МЕ. Перед началом терапии выдерживались общепринятые критерии включения и исключения с оценкой эффективности терапии через 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев и 12 месяцев в зависимости от генотипа.

Все пациенты на момент обследования имели гепатомегалию, а 60% больных и спленомегалию. Внепеченочные проявления наблюдались у половины больных и проявлялись характерными для этой инфекции кожными симптомами, включая отрубевидный лишай, фотодерматит, сосудистые звездочки и телеангиоэктазии. Видимой желтухи не было ни у одного больного, вместе с тем уровень общего билирубина крови колебался от 12 ммоль/ч.л. до 42 ммоль/ч.л. Активность АЛт превышала значения здоровых лиц в 2 – 3 раза. Средние значения АЛт составили  $96,7 \pm 7,5$  МЕ. Все пациенты имели выраженную приверженность к ле-

чению, что позволило предложить им курс противовирусного лечения, включающего интерферон  $\alpha$  (альфарон), рибавирин и ИФН- $\gamma$  - ингарон.

В исследование включались только пациенты, у которых длительность заболевания не превышала 2-3 лет. Абсолютное

большинство пациентов были лицами мужского пола, средний возраст которых составлял  $26,7 \pm 3,5$  лет. Активных наркопотребителей и лиц с хроническим алкоголизмом среди обследованных не было. Также не было больных с тяжелыми сопутствующими заболеваниями.

**Таблица 2.** Чувствительность больных к препаратам интерферона на старте терапии

Препараты, число больных/исследований 30/60	Число больных/процент выявленных пациентов, чувствительных к препаратам	Число больных/процент выявленных пациентов, не чувствительных к препаратам
ИФН 2 типа Ингарон	22/73.3	8/26.7
ИФН 1 типа Альфарон	19/63.3	11/36.7
Итого больных:	68.3	31.7

На старте терапии у 73.3% больных выявлена чувствительность к препарату гамма-ИФН – ингарону и у 63.3% пациентов – к альфа-ИФН-альфарону. Общее число пациентов, чувствительных к ИФН составило 68.3% обследованных (табл. 2). Через 4 недели проведения лечения осуществлялось изучение мРНК цитокинового профиля (табл. 3). Полученные данные

сопоставлены с результатами противовирусного ответа, полученного после 4-х недельного курса терапии. Под влиянием терапии повышалась мРНК -IFN- $\alpha$ , IL-18 у всех больных; мРНК IFN- $\gamma$ - процент позитивных мРНК увеличивался, сохранялся процент позитивных мРНК IL1,8 10 на фоне сохранения чувствительности у этих больных к препаратам (табл. 3).

**Таблица 3.** Исход терапии больных ХГС, в зависимости от сохранения чувствительности больных к препаратам интерферона после 4 недель терапии

Препараты, число больных/исследований 30/60	Число больных, процент пациентов с эффектом от лечения	Число/процент больных, сохранивших мРНК к цитокинам в течение 4 недель
ИФН-2 типа, ингарон Чувствительность сохранена к препарату (+)	19 / 86.4	Повышалась мРНК-IFN- $\alpha$ , IL-18 у всех больных; мРНК IFN- $\gamma$ - процент позитивных мРНК увеличивался, сохранялся процент позитивных мРНК IL1,8 10
ИФН-1 типа, альфарон, чувствительность к препарату сохранена	16 / 84.2	
Процент больных с эффектом от терапии (4 недели) при сохранении у больных чувствительности к препаратам	85.3	

Эффективность 4-х недельной терапии у больных с сохранением чувствительности к препаратам и при Th1-иммунном ответе составила 85.3%, таким образом, положительный клинический

эффект через 4 недели терапии отмечен у пациентов с иммунным ответом по Th1-типу.

Нами проанализированы и ранее полученные результаты терапии сравни-

тельного изучения эффективности лекарственных средств, разных фармакологических групп, с предварительной оценкой чувствительности препаратов к уровню SH-групп и к тиолдисульфидному соотношению [11].

Максимальная чувствительность (табл. 4) определена к инггарону (гамма-ИФН) в комбинации с циклофероном и рибамидилом, составив, соответственно 53.7-48.5 ммоль/л.

**Таблица 4.** Чувствительность больного Х. к противовирусным препаратам

Препарат и доза	SH (моль/л)	SH/SS
Контроль (без препаратов)	35.1	1.9 (норма 2-4)
Инггарон 0.5 мл	39.2	2.5
Инггарон(0.5мл)+Циклоферон (500 мг)	53.7	5.2
Инггарон (0.5 мл)+рибамидил 800мг	48.5	2.7

**Таблица 5.** Группы больных, подобранные для терапии ХГС

Группы	Число больных	Препараты и режимы введения
1	30	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Рибамидил, на кг веса в 2 приема ежедневно +</li> <li>• ИФН-альфа (3 млн. МЕ через день)</li> </ul>
2	30	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Инггарон 500 тыс. МЕ через день +</li> <li>• ИФН-альфа (3млн. МЕ через день) +</li> <li>• Рибамидил, на кг веса в 2 приема ежедневно</li> </ul>
3	30	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Инггарон 500 тыс. МЕ через день +</li> <li>• Циклоферон 12,5%-4 мл через день</li> </ul>
4	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Рибамидил, на кг веса в 2 приема ежедневно +</li> <li>• ИФН-альфа (3 млн. МЕ через день)+</li> <li>• Ферровир 5 мл через день</li> </ul>
5	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ИФН-альфа (3млн. МЕ через день) +</li> <li>• Галавит 100мкг через день+</li> <li>• Рибамидил, на кг веса в 2 приема ежедневно</li> </ul>

Результаты лечения больных ХГС после проведения исследования по показателям стойкого (СВО) вирусологического ответа составили при включении в схему лечения инггарона 78-76%. Необходимо отметить эффективность схемы лечения, содержащей ИФН-γ и индуктор эндогенного ИФН – циклоферон (57-63%), которая становится особенно важной для больных, вынужденных отказаться от базовых препаратов, ввиду развития побочных эффектов.

Становится совершенно очевидно, что терапия больных ХГС должна быть максимально персонализированной, с учетом чувствительности организма к проти-

вовирусным препаратам. Учитывая развивающуюся резистентность к ИНФ-α, необходимо в стандартную терапию включать ИФН-гамма (инггарон), а также индуктор ИФН – циклоферон, которые позволяют повысить эффективность терапии и сократить сроки лечения.

Методический подход к лечению больных, с определением их чувствительности к предполагаемым для лечения препаратам, позволяют реально прогнозировать эффективность терапии, создавая научно-обоснованную возможность подбора лекарственных средств и выбора оптимальных схем лечения для каждого конкретного пациента.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. - Москва.-2003.- С.98-109.

2. Ершов Ф.И. Пять десятилетий интерферона //Интерферону – 50 лет //Материалы научной конференции / Под редакцией академика Ф.И.Ершова. - Москва.-2007.-С.11-35.

3. Зуйкова И.Н. Спектр цитокиновых дисфункций в генезе рецидивирующей герпес-вирусной инфекции /Автореф. дисс. ...к.м.н.-Москва.-2007.-21с.

4. Киселев О.И., Жилинская И.Н. Вопросы общей вирусологии: Учебное пособие – СПб.: СПбГМА им. И.И. Мечникова, 2007.

5. Киселев О.И., Ершов Ф.И. Интерферон-гамма: новый цитокин в клинической практике.-Москва.-2007.-С.15-46.

6. Мезенцева М.В. Закономерности функционирования и направленная коррекция цитокиновой регуляторной сети //Автореф. дисс. Д.б.н.-М.,-2006.-42с.

7. Носик Н.Н. Интерфероны и противовирусный иммунитет //Интерферону – 50 лет //Материалы научной конференции / Под редакцией академика Ф.И.Ершова.-Москва.-2007.-С.72-81.

8. Романцов М. «Тройная» терапия хронического вирусного гепатита С у пациентов с генотипом 1b // Т.Сологуб, А.Шульдяков, С.Комиссаров //ВРАЧ.-2006.-№7.-С.1-4.

9. Серебряная Н.Б. Семейство интерферонов 1 типа //Кетлинский С.А.,Симбирцев А.С. Цитокины.-Санкт-Петербург.-2008.-С.23-41.

10. Сологуб Т.В. Оптимизация «золотого стандарта» в лечении больных хроническим вирусным гепатитом С // И.П. Баранова, С.Н. Коваленко, А.А. Шульдяков, М.Г. Романцов //Вестник Санкт-

Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова.-2006.-№4.-С.124-130.

11. Сологуб Т.В., Романцов М.Г.,Эсауленко Е.В. Возможности использования ингарона в лечении больных хроническим гепатитом С //Terza Medica.-2007.-№5.-С.14-20.

12. Тихомирова И.В. Цитокины Th1 и Th2 при вирусных гепатитах В и С у подростков // И.В. Тихомирова, Г.Ф. Железникова, Л.Г. Горячева // Цитокины и воспаление.-2002.-№2.-С.132-136.

13. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Клетки иммунной системы.-Санкт-Петербург.-2001.-С.55-72 81-98.

14. Эпштейн О.И., Штарк М.Б., Дыгай А.М. Биологические эффекты регуляторов физиологических функций. Интерферон-гамма // Фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций.-Москва.-2005.-С.56-67.

15. Katayama K., Kasahara A., Sasaki Y., et al. Immunological response to interferon-gamma priming prior to interferon alpha treatment in refractory chronic hepatitis C in relation to viral clearance. 2001, J Viral Hepat., V.8, # 3, P. 180-185.

16. Zeuzem S. The American association For the Study of Liver Diseases: new perspectives in the treatment of hepatitis C. Antivir. Ther. 2006. v.11. n.2. p.267-271.

17. Samuel C.E. Antiviral actions of interferons. Clinical Microbiology review, 2001, Vol 123, # 1, P. 209-216.

18. Wang T., Blatt., Seiwert S. Immunomodulatory activities of IFN-gamma1b in the treatment of chronic HCV infections. J. Interferon Cytokine Res. 2006. v. 26. n.7. p. 473-483.

19. W.H.O. Hepatitis C: global prevalence. Wkly Epidemiol. Rec. 1997. v. 72. p. 341-344.

**REASONS FOR ADMINISTRATION OF IMMUNE DRUGS IN CHRONIC HEPATITIS C IN VIEW OF IMMUNOPATHOGENETICAL IMPLICATIONS**

Romantsov M.G., Kremen' N.V., Narovlyansky A.N., Folitar I.V., Sologub T.V.

*St. Petersburg state medical academy named after I.I. Mechnikov,*

*RAMS Research institute of epidemiology and microbiology named after N.F. Gamaleya*

The evaluative tests of individual susceptibility to interferon types 1 and 2 preparations with cytokines mRNA assessment were developed and performed in patients with verified chronic hepatitis C for optimal drug adjustment and therapy benefit. Positive Th1 response accompanied by clinical, virological, and biochemical improvement was shown in 85,3% of patients following 4 week of the treatment with ribavirin and adjusted types 1 and 2 preparations (Alpharona and Ingaron).