

Waldemar Halota, Małgorzata Pawłowska, Michał Andrejczyn*

INTERFERONY ALFA W LECZENIU PRZEWLEKŁYCH ZAKAŻEŃ HCV

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych
Akademii Medycznej im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

Kierownik: Waldemar Halota

*Katedra i Klinika Epidemiologii i Chorób Zakaźnych
Akademii Medycznej w Tarnopolu, Ukraina

Kierownik: Michał Andrejczyn

Interferony alfa są powszechnie stosowane w leczeniu przewlekłych zakażeń HCV, zarówno w połączeniu z rybawiryną jak i w monoterapii. W pracy przedstawiono charakterystykę tych cytokin w kontekście obowiązującego obecnie w Polsce standardu leczenia. Wskazano na miejsce interferonu naturalnego (alfaferonu) w leczeniu tych stanów chorobowych.

Słowa kluczowe: interferony alfa, alfaferon, zakażenie HCV, leczenie
Key words: interferons alpha, alphaferon, HCV-infection, treatment

Interferon alfa niezmiennie od wielu lat znajduje zastosowanie w leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby typu C. Obowiązującym standardem leczenia tych chorób w Polsce jest obecnie terapia skojarzona interferonem pegylowanym i rybawiryną, aczkolwiek w wybranych sytuacjach klinicznych możliwe jest zastosowanie innych preparatów interferonu lub monoterapii (1). Czas leczenia zależy od genotypu HCV. Zakażonych genotypem 2 i 3 leczymy 24 tygodnie, natomiast pozostałymi genotypami HCV 48 tygodni. W tym ostatnim przypadku prognostykiem skutecznej terapii jest niewykrywanie wirerii HCV w 12 tygodniu leczenia lub obniżenie się jej w tym okresie o dwa logarytmy wraz z negatywnymi wynikami tego badania w 24 tygodniu. U pozostałych chorych kontynuacja leczenia skończy się niepowodzeniem, dlatego należy ją przerwać. Leczenie uważa się za skuteczne, jeśli po 24 tygodniach od jego ukończenia nie wykrywa się kwasów nukleinowych wirusa w surowicy krwi. Do leczenia kwalifikujemy w pierwszej kolejności chorych z zaawansowanym procesem chorobowym w wątrobie (również z marskością), pozawątrobowymi objawami zakażenia HCV, współzakażonych wirusami HBV lub HIV oraz chorych dializowanych oczekujących na przeszczepienie nerki. W przypadku, gdy leczenie było nieskuteczne lub zostało przerwane ze względu na działania niepożądane, należy rozważyć celowość zastosowania innych postaci interferonu, zwłaszcza interferonu naturalnego. Dotyczy to również chorych, których nie zakwalifikowano do leczenia ze względu na przeciwwskazania.

CHARAKTERYSTYKA INTERFERONÓW

Odkrycie interferonu (IFN) przez Isaacs'a i Lindemanna w 1957 roku stanowiło istotny krok w poznaniu mechanizmów naturalnej obrony. U jego podłoża leżała obserwacja, iż fragmenty błony owodniowej zarodków kurzych poddane działaniu wirusa grypy stają się niewrażliwe na nadkażenia. Obecnie wiadomo, że interferony to swoiste gatunkowo cytokiny indukowane pod wpływem takich czynników, jak antygeny, wirusy, polinukleotydy. Wykazują one działanie przeciwwirusowe, antyproliferacyjne i immunomodulujące (2,3).

Wyróżnia się co najmniej trzy typy endogenego interferonu:

- interferon alfa (leukocytarny) – produkowany głównie przez monocyty, makrofagi i limfocyty (przede wszystkim typu „null”), zbudowany z białek zawierających od 165 do 166 aminokwasów. Jego ciężar cząsteczkowy mieści się w przedziale od 19 do 24 kD. Poznano 22 podtypy tego interferonu. Jest on kodowany przez co najmniej 23 geny zlokalizowane w chromosomie 9 (2).

- interferon beta – produkowany przez fibroblasty. Jest to glikoproteina o ciężarze cząsteczkowym około 20 kD. Wykazuje podobieństwo do interferonu alfa (30 % analogicznych aminokwasów). Korespondujące ze sobą geny obu tych interferonów mieszczą się w krótszym ramieniu chromosomu 9 (4).

- interferon gamma – produkowany przez limfocyty T po stymulacji antygenami bądź mitogenami. Jest to glikoproteina o ciężarze cząsteczkowym 45 kD. Gen kodujący interferon gamma zlokalizowano w obrębie chromosomu 12.

Podstawowym warunkiem działania interferonów jest połączenie ze swoistymi receptorami. Interferony alfa i beta działają przez receptor typu I, interferon gamma łączy się z receptorem typu II. Liczba receptorów jest różna dla poszczególnych komórek, waha się w granicach od 2×10^2 do 6×10^3 . Kompleks interferon – receptor aktywuje kinazę tyrozynową, która poprzez fosforylację określonych białek tworzy wraz z nimi czynnik transkrypcyjny. W konsekwencji, w jądrze komórkowym po połączeniu z tzw. elementem odpowiedzi stymulowanej przez interferon (ISRE – interferon-stimulated response element) dochodzi do wzrostu ekspresji genów odpowiedzialnych za produkcję białek efektorowych (5). Obecność ISRE wykazano w regionach promotorowych wszystkich genów indukowanych przez interferon (2,4).

Wśród białek efektorowych prym wiodą kinaza białkowa i 2,5 oligoadenylosyntetaza, której aktywność wzrasta około 50-100 razy. Powstające oligonukleotydy adeninowe wzmagają aktywność RNA-zy L, przyspieszając degradację mRNA wirusa (6). Kinaza białkowa odpowiada za fosforylację 40 białek komórkowych, spośród których wiele uczestniczy w procesach hamowania replikacji wirusów. Reasumując, działanie przeciwwirusowe interferonów upośledza translację wirusowego mRNA, blokuje syntezę i elongację białek wirusa oraz hamuje proces dojrzewania wirionów. Interesujące, że uzyskiwana w ten sposób niewrażliwość na zakażenie może być przekazywana sąsiednim komórkom, które nie posiadają swoistych receptorów. Interferony alfa i beta indukują mechanizmy obronne po upływie 5 do 8 godzin od rozpoczęcia syntezy białek efektorowych. W przypadku IFN-gamma proces ten jest dłuższy. Interferony alfa i beta indukują syntezę 12 nowych białek, a interferon gamma dodatkowo 16 innych. Hamowanie lub wzrost aktywności interferonów zależy od tzw. interferonowych czynników regulacyjnych (IRF – interferon regulatory factors). Działają one poprzez zmiany ekspresji genów indukowanych przez interferon lub swoistych receptorów w błonie komórkowej.

Złożony mechanizm działania interferonów chroni zarówno komórkę przed zakażeniem jak i przeciwdziała powstawaniu szczepów opornych. Tylko nieliczne wirusy mają zdolność kodowania inhibitorów kinazy białkowej czy syntetazy oligoadenylowej lub wytwarzania rozpuszczalnego receptora konkurującego z receptorem IFN na błonach komórkowych (2).

System interferonów moduluje wszystkie typy odpowiedzi immunologicznej poprzez hamowanie bądź aktywację obronnych mechanizmów immunologicznych. Interferony indukują procesy dojrzewania i proliferacji komórek efektorowych typu NK i makrofagów oraz cytotoksycznych komórek linii T oraz wpływają na syntezę komplementu. Prowadzą one ponadto do proliferacji i aktywacji komórek linii B oraz wzmagają ekspresję antygenów zgodności tkankowej klasy I i II również w fibroblastach, astrocytach, komórkach tucznych i komórkach nowotworowych (7,8). Największym modulatorem ekspresji antygenów klasy II MHC jest interferon gamma, którego aktywność jest 100 do 1000 razy większa od pozostałych. Interferony alfa i beta wykazują silniejsze działanie przeciwwirusowe i antyproliferacyjne wywierając większy wpływ na komórki efektorowe. Oddziaływanie interferonów na procesy proliferacji i różnicowania komórek jest szczególnie zaznaczone w procesie hematopoezy. Działanie przeciwnowotworowe wynika z hamowania replikacji wirusów onkogennych oraz modulacji procesów dojrzewania i różnicowania komórek immunokompetentnych. Kluczową rolę w hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych odgrywa aktywacja makrofagów, głównie przez interferon gamma (9).

INTERFERON ALFA – NATURALNY, REKOMBINOWANY I PEGYLOWANY

Istotne znaczenie tych cytokin w mechanizmach naturalnej obrony przesądziło o próbach ich zastosowania w terapii. Pierwsze interferony stosowane w tych celach otrzymywane były metodą *Kari Cantella*. Stymulował on ludzkie leukocyty wirusem *Sendai*, następnie uzyskiwany produkt oczyszczał tiocyjanianem potasowym, otrzymując mieszaninę różnych interferonów, głównie alfa i beta (10). Metoda ta była mało efektywna, kosztowna i czasochłonna. Jej ograniczeniem była również zbyt mała dostępność ludzkich leukocytów. Przełomem okazało się opracowanie technologii rekombinacji DNA w późnych latach 70-tych. Po sklonowaniu ludzkiego genu odpowiedzialnego za wytwarzanie interferonu alfa umieszczono go przy pomocy plazmidu w aparacie genetycznym *E.coli*. Produkcja interferonów metodami inżynierii genetycznej okazała się stosunkowo tania i wydajna, dlatego ma dominujące znaczenie. Rekombinowane interferony alfa-2 obejmują trzy podtypy: 2a, 2b i 2c, różniące się między sobą sekwencją aminokwasów. Również interferony beta i gamma produkowane są obecnie w postaci zarówno naturalnej jak i rekombinowanej (11).

Kolejnym etapem w produkcji interferonów było wprowadzenie ich jako leków w postaci pegylowanej. Pegylacja białek (łączenie z glikolem polietylenowym) jest znaną metodą hamowania ich wydalania przez nerki, co w przypadku leków poprawia ich właściwości farmakokinetyczne, a w ślad za tym efektywność terapeutyczną. Dostępne obecnie pegylowane postaci interferonu alfa-2a i alfa-2b są bardziej skuteczne od swych klasycznych poprzedników, ponadto poprawiają jakość życia pacjentów, gdyż są podawane raz w tygodniu.

INTERFERONY W LECZENIU ZAKAŻEŃ HCV

Przypadki występowania defektu produkcji endogennego interferonu, jak też anergii komórek stymulowanych interferonem dały podwaliny teorii „niedoboru endogennego IFN” jako przyczyny przewlekania się zapalenia wątroby. W tym kontekście interferonoterapia jest leczeniem substytucyjnym.

Dotychczas opublikowano wyniki ponad 100 kontrolowanych badań klinicznych oceniających skuteczność IFN w leczeniu zapaleń wątroby. Na początku lat 90-tych standardem leczenia przewlekłego zapalenia wątroby typu C była monoterapia IFN alfa przez 24 tygodnie, później okres ten wydłużono do 48 tygodni. Pod koniec lat 90-tych wprowadzono terapię kombinowaną IFN z rybawiryną, co pozwoliło uzyskać trwałą odpowiedź wirusologiczną (SVR – sustained viral response) u 41% wcześniej nieleczonych chorych (12,13). Zastąpienie klasycznej postaci IFN interferonem pegylowanym spowodowało dalszy istotny wzrost skuteczności leczenia i 61% skuteczność przy dawkowaniu obu leków w zależności od masy ciała (14). Analiza skuteczności leczenia chorych na tzw C terapią kombinowaną wykazała zależność efektywności terapii od adherencji tzn. przyjęcia co najmniej 80% planowanych ilości IFN i rybawiryny w 80% czasu przeznaczonych na tę terapię. Było to szczególnie zaznaczone u pacjentów zakażonych genotypem 1 HCV (15,16). W dalszych badaniach wykazano związek adherencji z wczesną odpowiedzią wirusologiczną (EVR – early viral response), definiowaną jako zanik lub redukcja stężenia HCV-RNA o minimum 2 log podczas pierwszych 12 tygodni terapii. Trwałą odpowiedź wirusologiczną obserwowano u 75% pacjentów adherentnych, którzy osiągnęli EVR w porównaniu do 48% u tych z EVR, którzy przyjęli mniej niż 80% zaplanowanych dawek leków (15).

NATURALNY INTERFERON ALFA – ALFAFERON

Pomimo, iż interferony rekombinowane (klasyczny i pegylowany) dominują obecnie na rynku, w wybranych stanach klinicznych stosowane są nadal interferony naturalne. W krajach europejskich najczęściej stosowanym preparatem interferonu naturalnego jest Alfaferon, produkowany przez włoską firmę ALFA WASSERMANN. Alfaferon (Le-IFN α , Interferon alfa-n3) otrzymywany jest klasyczną metodą *Cantella*, z ludzkich leukocytów, przy czym oczyszczany jest metodą frakcjonowania (17). W jego skład wchodzi co najmniej 15 naturalnych białek, w części glikozylowanych. Wśród subtypów tej cytokiny dominują interferony alfa 1,2,4 oraz interferon omega. Interferon jest eliminowany z krążenia ustrojowego poprzez wiązanie w komórkach docelowych oraz degradację w nerkach. Jest niewykrywalny w ciągu 18 do 36 godzin po podaniu, dlatego wymaga częstszego podawania niż interferony pegylowane. Tylko niewielkie ilości leku przenikają do płynu mózgowo-rdzeniowego. U chorych leczonych tym interferonem nie wykrywano przeciwciał antyinterferonowych, często indukowanych przez interferony rekombinowane. Wskazuje się, iż w tych ostatnich przypadkach alfaferon jest lekiem z wyboru, ponieważ ma zdolność niwelowania wpływu przeciwciał na upośledzenie aktywności interferonu (18-20).

Z badań klinicznych wynika, że alfaferon w monoterapii wywiera podobny efekt leczniczy do innych rekombinowanych preparatów interferonu. Co więcej, w przebiegu terapii tym lekiem nie obserwowano tzw. przełomów. Wśród badanych przez *Albertiego* alfaferon był skuteczny u ponad 30% chorych z nawrotem po poprzednim leczeniu antywirusowym

(21). *Chemello* stosując alfaferon z rybawiryną wśród chorych wcześniej nieleczonych uzyskał trwałą odpowiedź terapeutyczną u 47% badanych, zakażonych różnymi typami HCV (22). Wśród 210 chorych leczonych przez *Barbaro* i wsp. odsetki te były nieco niższe, sięgały 42% (23).

Liczni badacze wskazują, że objawy niepożądane w przebiegu leczenia alfaferonem są rzadkie i mniej nasilone w porównaniu z innymi preparatami leku. W konsekwencji konieczność modyfikacji dawek lub przerwania terapii zdarza się wyjątkowo (17,24,25,26). Potwierdzają to również obserwacje wypływające z badań klinicznych. Wynika z nich, że w przypadku alfaferonu pacjenci kilkakrotnie rzadziej rezygnowali z leczenia ze względu na jego działania niepożądane, niż w próbach z innymi preparatami tej cytokiny (26-28). W konsekwencji lek ten jest szczególnie wskazany do leczenia zakażonych HCV przy występowaniu przeciwwskazań takich jak cytoopenie, depresja czy anoreksja. U części chorych, u których przerwano terapię ze względu na działania niepożądane, udaje się ją często przeprowadzić przy zastosowaniu alfaferonu. Nie ma wątpliwości, że ma to wpływ na lepszą adherencję leczonych pacjentów, a w ślad za tym wysoką skuteczność terapii. Dotyczy to zarówno monoterapii jak i leczenia skojarzonego (24,29).

Reasumując, alfaferon wykazuje wyższość nad interferonami rekombinowanymi w wybranych stanach klinicznych. Przesądza o tym obecność w jego składzie różnych cytokin, co poprawia aktywność antywirusową, zdolność stymulacji limfocytów NK oraz wywiera wpływ na proliferację komórek. W konsekwencji jest to lek z wyboru u pacjentów z większością przeciwwskazań do leczenia interferonem oraz, u których działania niepożądane uniemożliwiają kontynuację leczenia. Należy rozważyć jego zastosowanie również do reterapii chorych, którzy nie odpowiedzieli na leczenie interferonami rekombinowanymi. W świetle przedstawionych publikacji i doświadczeń własnych głównym mankamentem omawianego leku jest jego wysoka cena.

W Halota, M Pawłowska, M Andrejczyn

INTERFERONS ALPHA IN THE TREATMENT OF CHRONIC HCV INFECTIONS

SUMMARY

Interferons play the main role in the treatment of chronic hepatitis C.

In the clinical practice recombined forms of these cytokines dominate. Most recent obligatory standard of the treatment is combined therapy with pegylated interferon and ribavirin during 24 or 48 weeks dependent of HCV genotype. In some clinical cases, in which contraindications to these forms of drugs or adverse events appear, administration of natural interferon (alphaferon) is possible. Treatment with this form of interferon in these cases is safe and efficient.

PIŚMIENNICTWO

1. Stanowisko Zarządów Głównych Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych oraz Polskiego Towarzystwa Hepatologicznego dotyczące leczenia wirusowych zapaleń wątroby typu C u dorosłych. Zakopane 03.04.2004r. *Med Sci Monit* 2004;10 (supl 4):1.
2. Dianzani F. The Interferon System. Health Sciences Press, Roma 1993:1-64.

3. Lucivero G. The interferon in clinical practice. *Int J Immunopathol Pharmacol* 1992;5:83.
4. Finter NB, Chapman S, Dowd P, i in. The use of interferon alfa in virus infection. *Drugs* 1991;42:749-65.
5. Revel M, Chabath J. IFN activated genes. *Trends in Biochemical Science* 1986;11:166-170.
6. Lengyel P. Biochemistry of interferons and their actions. *Annu Rev Biochem* 1982;51:251-8.
7. Baron S, Tyring SK, Fleischmann WR, i in. The Interferons. Mechanism of action and clinical applications. *JAMA* 1991;266:1375-83.
8. Robak T. *Biologia i farmakologia cytokin*. Warszawa-Lódź: PWN, 1995;2:4-5,42.
9. Tuttle TM, Mc Crady CW, Inge TH, i in. Gamma-IFN plays a key role in T-cell induced tumor regression. *Cancer Res* 1993;53:833-9.
10. Cantell K, i in. Production of interferon in human leukocytes from normal donors with the use of Sendai virus. *Methods Enzymol* 1981;78:29.
11. Cantell K. Development of antiviral therapy with alfa interferons: promises, false hopes and accomplishments. *Ann Med* 1995;27(1):23-8.
12. Mc Hutchinson JG. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med*. 1998; 339:1485-92.
13. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, i in. Randomized trial of interferon alpha-2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha-2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998;352:1426-32.
14. Pawłowska M, Halota W. Postęp w leczeniu wzv C – interferon pegylowany. *Przegl Epidemiol* 2001;55(supl 3):169-173.
15. McHutchinson JG, Manns M, Patel K, i in. Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype-1-infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002;123: 1061-89.
16. Poynard T. Viral hepatitis C. *Lancet* 2003;362:2095-2100.
17. Viscomi GC. Human leukocyte interferon alpha: structure, pharmacology, and therapeutic applications. *Med Res Reviews* 1995;15:445.
18. Osterborg A. Patients treated with natural (leukocyte-derived) Interferon (IFN)-alpha do not develop IFN antibodies (letter). *Eur J Haematol* 1991;47:234.
19. Liao MJ. Absence of neutralizing antibodies to Interferon in condyloma acuminata and cancer patients treated with natural human leukocyte Interferon. *J Infect Dis* 1992;165:757.
20. Von Wussow P. Leukocyte-derived interferon-alpha in patients with antibodies to recombinant IFN- α 2b. *Lancet* 1988; 1: 882.
21. Alberti A. Therapy of hepatitis C: re-treatment with Alpha Interferon. *Hepatology* 1997;26 (suppl.1):1375-1425.
22. Chemello L, i in. Comparison of thrice weekly vs daily regimen of human leukocyte alpha-interferon therapy for chronic hepatitis C *J Viral Hepat* 1999;6:321-327.
23. Barbaro G. Good safety profile and efficacy of leucocyte interferon-alpha in combination with oral ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C: a multicentre, randomised, controlled study. *BioDrugs* 2003;17:433-439.
24. Chemello L. The effect of interferon alfa and ribavirin combination therapy in naive patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1995;23(suppl. 2):8-12.
25. Laghi V. Comparison of treatment with two different doses of leukocyte Interferon alpha in patients with chronic hepatitis C. *Hepato-Gastroenterology* 1997;44:1182-1186.
26. Cecere A. Lymphoblastoid a-IFN. leukocytic a-IFN and natural P-IFN in the treatment of chronic hepatitis C: a clinical comparison of 150 cases. *Hepatology Research* 1999;15:225-237.
27. Malaguarnera M. A comparison of four types of interferon alpha in the treatment of chronic hepatitis C. *Curr Ther Res* 1998;59:48.
28. Toccaceli F. Leukocyte and platelet lowering by some interferon types during viral hepatitis treatment. *Hepato-Gastroenterol* 1998;45:1748-1752.

29. Benci A. Thrombocytopenia in patients with HCV-positive chronic hepatitis: efficacy of leucocyte interferon-alpha treatment. *Int J Clin Pract* 2003;57:17-19.

Otrzymano: 5.07.2004 r.

Adres autorów:

Waldemar Halota
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych
Akademii Medycznej im. L.Rydygiera
ul. Floriana 12, 85-030 Bydgoszcz
tel./fax (0-52) 322 48 70
e-mail: kikchzak@amb.bydgoszcz.pl