

М. Филлипович, К. Бернсмайер, Л. Террачано, Ф. Дуонг, М. Хейм, г. Базель, Швейцария

S-Аденозилметионин и бетаин улучшают ранний вирусологический ответ у пациентов с хроническим гепатитом С

Во всех странах мира вирус гепатита С (HCV) является ведущей причиной хронической болезни печени. Хронический гепатит С (ХГС) может приводить к циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме. Ключевыми элементами раннего ответа макроорганизма на вирусную инфекцию являются интерфероны (ИФН) I типа – ИФН α и ИФН β . В лечении ХГС и хронического гепатита В широко используются рекомбинантные (пегилированные) ИФН α 2 α и ИФН α 2 β . Стандартная терапия ХГС, включающая назначение пегилированного ИФН α (пегИФН α) и рибавирин, обеспечивает выздоровление примерно у 50% пациентов. Причины неэффективности лечения у остальной половины больных остаются малоизученными.

Важным механизмом, ответственным за недостаточный ответ на терапию, считается взаимодействие вируса с передачей сигналов ИФН α от поверхности клетки к ядру.

ИФН α связывается со своим рецептором (IFNAR), располагаясь на поверхности клетки, что запускает сигнальный путь, включающий Janus-киназы (Jak) Jak1 и Tyk2, а также преобразователь сигналов и активатор транскрипции (STAT) STAT1, STAT2 и STAT3. Передача сигналов ИФН α по сигнальному пути Jak-STAT в конечном итоге вызывает повышающую транскрипционную регуляцию ИФН-стимулированных генов (ISG) с мощными противовирусными, иммуномодулирующими и антипролиферативными свойствами. Ранее мы установили, что экспрессия белков HCV в клеточных линиях остеосаркомы человека ингибирует передачу сигналов ИФН α путем повышающей регуляции каталитической субъединицы белковой фосфатазы 2A (PP2Ac). Нами также была показана гиперэкспрессия PP2Ac в экстрактах печени трансгенных мышей с HCV-инфекцией и биоптатах печени больных ХГС, что подтверждает результаты, полученные *in vitro*. Важным следствием повышенного количества PP2Ac является ингибирование протеиновой аргининметилтрансферазы 1 (PRMT1) – фермента, катализирующего метилирование STAT1 и PIAS1 (белка-ингибитора активированного STAT1). Таким образом, ингибирование PRMT1 с помощью PP2Ac оказывает значимое влияние на сигнальный путь Jak-STAT.

S-Аденозил-L-метионин (SAMe) является донатором метильных групп в реакциях, катализируемых PRMT1. Бетаин необходим для образования метионина из гомоцистеина, и эта реакция является основной для восстановления запасов SAMe. Ранее мы продемонстрировали, что лечение SAMe и бетаином усиливает передачу сигналов ИФН α и повышает противовирусную эффективность ИФН α в клетках остеосаркомы, экспрессирующих белки HCV, и клетках гепатомы человека Huh7, несущих репликон HCV. Кроме того, нами было установлено, что терапия SAMe подавляет геликазную активность NS3 и репликацию субгеномного репликона HCV в клетках Huh7.5.

Основываясь на вышеприведенных данных *in vitro*, мы предположили, что включение SAMe и бетаина в стандартную терапию пегИФН α и рибавирином повысит эффективность лечения больных ХГС с нарушенной передачей сигналов ИФН α , т. е. у пациентов, ранее не ответивших на пегИФН α /рибавирин.

Материалы и методы Пациенты

В исследование включали мужчин и женщин в возрасте от 18 до 65 лет с ХГС, вызванным любыми генотипами HCV, и документированным отсутствием ответа на предшествующую комбинированную терапию обычным ИФН α или пегИФН α и рибавирином. Больных, соответствующих этим критериям, находили путем систематического изучения медицинских карт в гепатологической амбулаторной клинике Университетского госпиталя

г. Базеля (Швейцария). Кроме того, критериями включения были обнаруживаемые уровни РНК HCV в сыворотке крови (>12 МЕ/мл); повышенные уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови; биопсия печени, проведенная в последние 2 года до скринингового визита и выявившая хронический гепатит в стадии компенсации; уровни нейтрофилов и тромбоцитов в крови 1500 и 75 000/мкл соответственно; уровень гемоглобина \geq 110 г/л. Из участия исключались пациенты с болезнью печени, вызванной любыми другими причинами; больные с коинфекцией вирусами иммунодефицита человека или гепатита В; беременные женщины и мужчины – партнеры беременных женщин; женщины, кормящие грудью; фертильные пациенты, не желающие использовать контрацепцию в период терапии; а также больные с любым из следующих критериев: сопутствующее лечение иммуносупрессантами; злоупотребление алкоголем; сопутствующее злокачественное опухолевое заболевание; клинически значимое психическое, метаболическое, неврологическое, кардиальное, почечное или эндокринное заболевание; титр антинуклеарных антител >1:320; содержание α -фетопротеина >50 мкг/л; повышенный уровень глюкозы натощак; повышенный уровень тиреотропного гормона.

Дизайн исследования

Данное одноцентровое исследование проводилось в отделении гастроэнтерологии и гепатологии Университетского госпиталя г. Базеля. Исследование было спланировано как пилотное для оценки эффективности и безопасности комбинированной терапии пегИФН α 2 β , рибавирином, SAMe и бетаином у пациентов с ХГС, не ответивших на предшествующее лечение (пегИФН α и рибавирином). Первичной конечной точкой был устойчивый вирусологический ответ (УВО); РНК HCV не определяется через 24 нед после завершения лечения), вторичной конечной точкой – ранний вирусологический ответ (РВО) после 12 нед терапии пегИФН α 2 β , рибавирином, SAMe и бетаином. Участников рандомизировали в одну из двух групп терапии. Пациенты группы А получали предварительное лечение SAMe в дозе 400 мг 3 р/сут перорально (1200 мг/сут) и бетаином в дозе 3 г 2 р/сут перорально (6 г/сут) в течение 1 нед, после чего на протяжении 3-12 мес применяли комбинацию SAMe, бетаина, рибавирин 2 р/сут перорально с дозировкой в зависимости от массы тела (<65 кг – 800 мг/сут, 65-85 кг – 1000 мг/сут, >85 кг – 1200 мг/сут) и пегИФН α 2 β (1,5 мкг/кг массы тела подкожно 1 р/нед). Пациенты группы В на протяжении 1-й недели получали пегИФН α 2 β и рибавирин, а затем комбинацию пегИФН α 2 β , рибавирин, SAMe и бетаина в тех же дозах, что и в группе А. У пациентов, не достигших РВО, определенного как снижение вирусной нагрузки (ВН) HCV более чем на 2 log₁₀ МЕ/мл от исходного уровня, лечение прекращали через 12 нед. Длительность терапии зависела от генотипа HCV: 24 нед при 2 и 3 генотипах и 48 нед при 1 и 4 генотипах. Все пациенты осуществляли контрольный визит через 24 нед после окончания терапии.

Эффективность, переносимость и безопасность терапии оценивали в начале лечения (7-й день в группе А и 0-й день в группе В), через 24 ч (1-й день), 48 ч (2-й день) 96 ч (4-й день) и 144 ч (7-й день) после первого введения пегИФН α 2 β . Последующие обследования во время комбинированной терапии осуществляли на 2-й, 4-й, 8-й, 12-й и 48-й неделе, а также во время контрольного визита (72-я неделя) через 24 нед после завершения лечения. Количественное определение РНК HCV проводили с помощью теста COBAS AmpliPrep Taqman HCV-Test (Roche Molecular Systems) в соответствии с инструкцией производителя. Генотипирование HCV выполняли путем реакции обратной гибридизации (Inno Lipa HCV, Innogenetics). Гистопатологическую степень и стадию заболевания определяли при изучении биоптатов печени по классификационной системе Metavir в Институте патологии Университетского госпиталя г. Базеля.

Этические моменты

Исследование было одобрено этическим комитетом Базельского кантона и агентством Swissmedic и проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией и руководством «Надлежащая клиническая практика» (GCP) Международной конференции по гармонизации / Комитета по патентованным медицинским продуктам (ICH/CPMP). До включения в исследование все пациенты предоставили письменное информированное согласие на участие. Ход исследования контролировался компанией KMS Kammermann Monitoring Services GmbH (г. Цуг, Швейцария). Исследование зарегистрировано в реестре ClinicalTrials.gov под номером NCT00310336.

Результаты

Характеристики пациентов

С октября 2006 по апрель 2008 г. прошли скрининговое обследование и были включены в исследование 25 мужчин и 8 женщин в возрасте от 30 до 64 лет. Все пациенты в прошлом уже получали лечение в гепатологической амбулаторной клинике Университетского госпиталя г. Базеля. В группу А были рандомизированы 16, в группу В – 17 больных. Рандомизация осуществлялась в двух отдельных группах в зависимости от генотипа HCV: 1/4 и 2/3. Два пациента мужского пола, оба рандомизированные в группу А, отозвали согласие на участие до первого приема исследуемых препаратов. Один пациент мужского пола группы А прервал лечение через 4 дня, и еще 1 больной группы В, также мужского пола, выбыл из исследования через 2 нед после начала терапии. Остальные 29 участников были пролечены в соответствии с протоколом, за исключением 2 пациентов, которым была проведена трансплантация печени через 5 и 9 мес терапии вследствие развития гепатоцеллюлярной карциномы. Большинство пациентов (n=23; 79%) были инфицированы HCV 1 генотипа. Средняя ВН составила 6,24 log₁₀ МЕ/мл. У 21 (72%) больного отмечали фиброз поздних стадий (III и IV стадия по Metavir), у 16% пациентов – цирроз печени. 76% пациентов ранее получали

пегИФН и рибавирин, остальные – обычный ИФН и рибавирин. Только у 3 больных был зарегистрирован РВО без ответа в конце лечения, в то время как у большинства (86%) участников наблюдалось снижение ВН менее чем на 2 log₁₀ в первые 12 мес предшествующего лечения (отсутствие первичного ответа – ПО). По всем основным характеристикам, за исключением исходной ВН, группы А и В статистически не различались.

Вирусологический ответ на SAMe и бетаин

Чтобы оценить влияние SAMe и бетаина на ВН и уровни печеночных ферментов, не зависящее от пегИФН α 2 β и рибавирин, пациенты группы А на протяжении 1-й недели получали только SAMe и бетаин. Значимого снижения ВН и АЛТ сыворотки за этот период не произошло.

В первые 48 ч комбинированной терапии снижение ВН было более выраженным в группе А (p=0,03 и p=0,04 для 1-го и 2-го дня соответственно), однако в последующем статистически значимые различия по этому показателю между группами отсутствовали.

Вирусологический и биохимический ответ на лечение пегИФН α 2 β , рибавирином, SAMe и бетаином

У 12 (41%) пациентов РВО на комбинированную терапию не был достигнут, и лечение было прекращено через 12 нед. У остальных 17 (59%) больных был зафиксирован первичный вирусологический ответ, несмотря на то что у 14 из них наблюдалось отсутствие ПО на предшествующее лечение. У 2 участников был получен быстрый вирусологический ответ (БВО) с неопределяемыми уровнями РНК HCV после 4 нед лечения и УВО на контрольном визите. У 4 пациентов РНК HCV не определялась после 12 нед терапии (полный РВО, пРВО), и 1 из них завершил исследование с УВО (у остальных 3 больных произошел рецидив на фоне лечения или в период наблюдения). У всех 4 пациентов с пРВО был цирроз, и 3 из них ранее получали лечение пегИФН α и рибавирином. У остальных 8 пациентов с отсутствием ПО в анамнезе был получен РВО через 12 нед терапии, однако только у 2 из них уровни РНК HCV стали негативными на фоне лечения, и ни в одном случае не был получен УВО.

Как уже указывалось, 2 пациента выбыли из исследования вследствие трансплантации печени. Таким образом, лечение в соответствии с протоколом исследования завершили 15 пациентов с ПО (т. е. с БВО, РВО или пРВО). У 3 из них был зафиксирован УВО, у 4 – ответ в конце лечения с рецидивом на момент контрольного визита и у 8 – отсутствие ответа в конце лечения.

Биохимический ответ у пациентов с ПО на комбинацию пегИФН α 2 β , рибавирин, SAMe и бетаина был более выраженным, чем у больных с отсутствием ПО. После 12 нед лечения нормальные уровни АЛТ были зафиксированы у 7 из 17 пациентов с РВО и только у 1 из 12 больных с отсутствием ПО.

Неблагоприятные явления и изменение доз препаратов

Пациенты сообщили о следующих неблагоприятных явлениях: гриппоподобные симптомы (17 больных), общая слабость (11), миалгии и артралгии (11), сухость кожи (10), снижение настроения и депрессия (9), диарея (8), озноб (8), лихорадка (6), боль и спазмы в животе (6), головная боль (6), потеря аппетита (4), тошнота (3), головокружение (3),

Продолжение на стр. 4.

М. Филлипович, К. Бернсмейер, Л. Терраччано, Ф. Дуонг, М. Хейм, г. Базель, Швейцария

S-Аденозилметионин и бетаин улучшают ранний вирусологический ответ у пациентов с хроническим гепатитом С

Продолжение. Начало на стр. 3.

одышка при физических нагрузках (3), алоpecia (2), кашель (1) и расстройства сна (1). Эти побочные эффекты не отличаются от таковых, наблюдающихся на фоне терапии пегИФН α и рибавирином. У пациентов группы А в первые 7 дней лечения SАМе и бетаином ни одного неблагоприятного события не зафиксировано. Уровни гемоглобина, тромбоцитов и нейтрофилов на фоне терапии снижались, что является ожидаемым при комбинированном лечении пегИФН α и рибавирином. Доза пегИФН α была снижена у 4 пациентов, доза рибавирина – у 2 больных.

Обсуждение

В данном пилотном исследовании приняли участие 29 пациентов, ранее не ответивших на терапию (пег)ИФН α и рибавирином, при этом у 17 (59%) больных при повторном лечении пегИФН α 2b, рибавирином, SАМе и бетаином удалось получить РВО. Таким образом, добавление SАМе и бетаина к стандартной комбинированной терапии позволило достичь значительно более высокого показателя РВО, чем сообщалось ранее в исследованиях, в которых оценивалось повторное лечение пациентов с отсутствием ответа или рецидивом. В недавно опубликованном исследовании EPIC, посвященном изучению терапии пегИФН α 2b/рибавирином у 2293 пациентов с отсутствием ответа на предшествующее лечение (пег)ИФН α /рибавирином, РВО достигли 36% участников. Однако следует подчеркнуть, что в исследование EPIC включали не только больных, не ответивших на лечение (61%), но и пациентов с рецидивом. Это важно, так как повторное лечение больных с рецидивом обеспечивает значительно более высокие показатели УВО по сравнению с пациентами, не ответившими на предшествующую терапию, что было убедительно продемонстрировано в многочисленных исследованиях. Кроме того, 37% участников EPIC ранее получали лечение обычным ИФН α и рибавирином. В наше исследование мы включали только больных, ранее не ответивших на терапию, при этом у 86% из них было зафиксировано отсутствие ПО через 12 нед от начала предшествующего лечения и 76% ранее получали пегИФН α /рибавирин (только 24% – ИФН α /рибавирин).

Высокая частота (59%) достижения РВО в популяции пациентов, трудно поддающихся терапии, свидетельствует о том, что добавление SАМе и бетаина к стандартному лечению пегИФН α 2b/рибавирином улучшает показатели РВО у пациентов с ХГС.

Несмотря на высокую частоту РВО в нашем исследовании, УВО был достигнут только у 3 (10%) пациентов. Еще у 4 больных был получен ответ в конце лечения, но впоследствии в период наблюдения у них произошел рецидив. В целом только у 17% пациентов с РВО впоследствии был зафиксирован УВО. Это позволяет предположить, что лечение SАМе и бетаином было эффективно только на ранних стадиях терапии. Наиболее вероятно, что посредством адаптивных механизмов в гепатоцитах внутриклеточные концентрации SАМе по мере лечения восстанавливаются до исходных, так как SАМе принимает участие во многих ферментативных реакциях и его концентрация регулируется различными метаболическими путями.

Тахифилаксию на SАМе можно преодолеть путем увеличения дозы, однако в данном небольшом пилотном исследовании мы не имели возможности оценить эффективность различных доз SАМе и бетаина. SАМе назначался в дозе 1200 мг/сут, поскольку эта же доза применялась в крупнейшем исследовании SАМе, в котором была доказана ее безопасность на протяжении 2-летнего периода терапии. Таким образом, ранее было установлено, что лечение бетаином в дозе 6 г/сут является эффективным и безопасным.

Целесообразность добавления SАМе к терапии пегИФН α /рибавирином основана на полученных нами данных о взаимодействии HCV с сигнальными путями ИФН α в клеточных культурах, у трансгенных мышей и биоптатах печени, полученных у больных ХГС. Используя клеточные линии с индуцибельной экспрессией белков HCV и систему репликонов HCV, мы установили, что SАМе улучшает метилирование ИФН α -индуцируемого фактора транскрипции STAT1 и его связывание с элементами ДНК, в результате чего усиливаются индукция ISG и ингибиторный эффект ИФН α на репликоны. В настоящем исследовании мы не могли оценить влияние SАМе и бетаина и передачу сигналов ИФН α в печени пациентов. Следовательно, нельзя исключить, что SАМе и бетаин улучшают ответ на терапию пегИФН α /рибавирином с помощью механизмов, отличных от предложенной нами модели действия, в которой в качестве ключевого звена предполагается метилирование STAT1.

Бетаин добавлялся к комбинированной терапии с целью предотвращения накопления токсичного метаболита SАМе S-аденозил-L-гомоцистеина, а также для еще большего повышения внутриклеточных концентраций SАМе. Мы не определяли уровни гомицистеина и бетаина в плазме и, следовательно, не могли оценить влияние бетаина на метаболизм SАМе у наших больных.

Новые противовирусные препараты с прямым механизмом действия, такие как телупревил и боцепревил, обладают высокой эффективностью, однако их использование в монотерапии ассоциируется с высокой частотой вирусологических «прорывов» вследствие быстрой селекции резистентных штаммов. Для предотвращения таких «прорывов» в клинических исследованиях II и III фазы эти препараты применялись в комбинации с пегИФН α /рибавирином. Тем не менее значительная часть пациентов не отвечает на лечение пегИФН α , наиболее вероятно по причине того, что их эндогенная система ИФН уже индуцирована до терапии, а также вследствие взаимодействия HCV с передачей сигналов ИФН α по сигнальному пути Jak-STAT. Такие больные могут иметь высокий риск вирусологического «прорыва» и развития резистентности даже при получении тройной комбинированной терапии (ингибитор протеазы + пегИФН α /рибавирин). Следовательно, включение SАМе и бетаина в начальную фазу тройной терапии можно считать рациональной стратегией. Улучшая клеточный ответ на пегИФН α , SАМе и бетаин позволят увеличить количество больных, которые достигают ПО и, следовательно, становятся кандидатами на получение тройной терапии.

Таким образом, у пациентов с ХГС, ранее не ответивших на лечение (пег)ИФН α /рибавирином, включение SАМе и бетаина в стандартную терапию пегИФН α /рибавирином обеспечило показатель РВО 59%. SАМе и бетаин характеризуются отличным профилем безопасности и переносимости. Улучшение ответа на лечение пегИФН α /рибавирином при их комбинировании с SАМе и бетаином является основанием для проведения дальнейших исследований, так как пегИФН α и рибавирин в ближайшие годы будут оставаться основой терапии ХГС.

Статья печатается в сокращении.

Список литературы находится в редакции.

Filipowicz M., Bernsmeier C., Terracciano L. et al. S-Adenosyl-Methionine and Betaine Improve Early Virological Response in Chronic Hepatitis C Patients with Previous Nonresponse. PLoS ONE 2010; 5 (11): e15492.

Перевел с англ. Алексей Терещенко



Краткая инструкция по медицинскому применению препарата ГЕПТРАЛ®

Регистрационное свидетельство: № UA/6993/01/01, № UA/6993/02/01.

Состав

1 флакон с лиофилизированным порошком или 1 таблетка содержат 760 мг адеметионина 1,4-бутандисульфоната, что соответствует 400 мг катиона адеметионина.

Лекарственная форма

Порошок лиофилизированный для приготовления раствора для инъекций. Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой.

Фармакотерапевтическая группа. Средства, влияющие на систему пищеварения и процессы метаболизма. Код АТС А16А А02.

Показания

Внутрипеченочный холестаза у взрослых, в том числе у больных хроническим гепатитом различной этиологии и циррозом печени; внутрипеченочный холестаза беременных; депрессивные синдромы.

Противопоказания

Генетические дефекты, которые влияют на метиониновый цикл и/или вызывают гомицистинурию и/или гипергомицистеинемия (например, недостаточность цистатионин бета-синтазы, дефект метаболизма витамина В₁₂). Повышенная чувствительность к какому-либо компоненту препарата.

Способ применения и дозы

Лечение обычно начинают с парентерального введения препарата с последующим его применением в форме таблеток или сразу с применения таблеток. Суточную дозу таблеток можно распределять на 2-3 приема. Готовить раствор для инъекций необходимо непосредственно перед применением. Таблетку препарата Гептрал® следует вынимать из блистера непосредственно перед приемом. Если таблетки имеют иной цвет (кроме от белого до желтоватого), необходимо отказаться от их применения.

Начальная терапия. Внутривенно или внутримышечно: рекомендованная доза составляет 5-12 мг/кг массы тела в сутки. Обычная начальная доза – 400 мг/сут, общая суточная доза не должна превышать 800 мг. Длительность начальной парентеральной терапии составляет 15-20 дней при лечении депрессивных синдромов и 2 нед при лечении заболеваний печени. **Перорально (внутри):** рекомендованная доза – 10-25 мг/кг массы тела в сутки. Обычная начальная доза – 800 мг/сут, общая суточная доза не должна превышать 1600 мг. **Поддерживающая терапия:** по 2-4 таблетки в сутки (800-1600 мг/сут). Длительность терапии зависит от тяжести и течения заболевания и определяется врачом индивидуально.

Побочные реакции

По данным 22 проведенных клинических исследований лечения адеметионином, побочные реакции наблюдались у 7,2% от общего количества пациентов. Наиболее часто отмечались тошнота, боль в животе, диарея. В клинических исследованиях сообщалось о развитии следующих побочных явлений, причинную связь которых с препаратом не всегда было возможным установить: инфекции мочевыводящих путей; спутанность сознания, бессонница; головокружение, головная боль, парестезии; сердечно-сосудистые расстройства; приливы, поверхностный флебит; вздутие живота, боль в животе, диарея, сухость во рту, диспепсия, эзофагит, метеоризм, желудочно-кишечная боль, желудочно-кишечные расстройства, желудочно-кишечное кровотечение, тошнота, рвота; печеночная колика, цирроз печени; гипергидроз, зуд, кожные реакции; артралгия, мышечные судороги; астения, озноб, реакции в месте введения, гриппоподобные симптомы, слабость, периферические отеки, гипертермия. При постмаркетинговом применении наблюдались гиперчувствительность, анафилактические или анафилактические реакции, тревога, отек гортани, реакции в месте введения (очень редко с некрозом кожи), ангионевротический отек, аллергические кожные реакции; редко были сообщения о суицидальных мыслях/поведении.

Применение в период беременности или кормления грудью

Назначение высоких доз адеметионина в III триместре беременности не вызвало каких-либо побочных реакций. Адеметионин в I и II триместрах беременности следует применять только после тщательной оценки врачом соотношения польза для матери/риск для плода. В период кормления грудью адеметионин назначают только тогда, когда польза от его применения для матери превышает риск для младенца.

Дети

Безопасность и эффективность применения адеметионина у детей не установлены.

Взаимодействие

Было сообщено о развитии серотонинового синдрома у пациента, применявшего адеметионин на фоне приема кломипрамина. Хотя роль адеметионина в данном случае допускается теоретически, следует с осторожностью его применять одновременно с селективными ингибиторами обратного захвата серотонина, трициклическими антидепрессантами (такими как кломипрамин), препаратами и растительными средствами, содержащими триптофан.

Категория отпуска

По рецепту.

Полная информация представлена в инструкции по медицинскому применению препарата.

ИНФОРМАЦИЯ ПРЕДНАЗНАЧЕНА ДЛЯ СПЕЦИАЛИСТОВ

Сообщить о нежелательном явлении или жалобе на качество препарата Вы можете в представительство компании.

За дополнительной информацией обращайтесь в представительство компании «Абботт Лабораториз ГмБХ» в Украине:
01032, г. Киев, ул. Жиланская, 110, 2-й этаж;
тел.: + 38 044 498-60-80, факс: + 38 044 498-60-81