

Енісамію йодид: результати 15 років закордонних і вітчизняних досліджень

Респіраторні віруси роблять серйозний внесок у показники захворюваності та смертності в усьому світі. Додаткову занепокоєність зумовлює одночасна циркуляція серед населення декількох респіраторних вірусів, включаючи вірус грипу групи В, різні підтипи вірусу групи А (наприклад, H3N2 і H1N1), аденовіруси, віруси парагрипу, респіраторно-синцитіальні віруси (RSV), а в останні роки і новий коронавірус – SARS-CoV-2. Всі зазначені віруси здатні швидко поширюватися серед людей, спричиняти тяжкі захворювання та зумовлювати вторинні ускладнення. Крім того, нові штами респіраторних вірусів можуть передаватися до людини від тварин-носіїв (переважно дикі птахи та кажани), зумовлюючи серйозні епідемічні спалахи. Традиційні протівірусні препарати в таких випадках є малоефективними, а розробка відповідних вакцин потребує досить тривалого часу. Як людство може протидіяти цим викликам?

Спробуємо надати відповіді на ці запитання в цьому огляді.

Віруси грипу

Традиційними протівірусними препаратами, здатними протидіяти інфекції, спричиненій вірусами грипу, є два представники класу інгібіторів вірусної нейрамінідази – озельтамівір і занамівір, які вважаються ефективними за умови застосування в перші дні захворювання. Втім, резистентність вірусів грипу до інгібіторів нейрамінідази невинно зростає. Наразі існує гостра потреба в розробці нових протівірусних засобів, які могли б ефективно боротися з грипом. Сьогодні пошук науковців спрямований на створення та вивчення протівірусної ефективності сполук, здатних впливати на вірусні білки.

У поле зору науковців потрапив енісамію йодид, що використовується в клінічній практиці з 1997 року та продемонстрував ефективність у лікуванні гострих респіраторних вірусних інфекцій (рис. 1).

Однак донедавна ці результати не були підкріплені експериментальними даними. Дослідити це питання взялися D. Boltz і співавт. (2018) на експериментальній моделі нормальних бронхоепітеліальних клітин людини.

Енісамію додавали до диференційованих нормальних бронхоепітеліальних клітин людини за 24 год до інокуляції підтипів вірусів грипу А та В. Виявилось, що у випадку зараження оброблених клітин вірусами грипу не спостерігалось характерного вірусного цитопатичного ефекту. Загалом енісамію пригнічував реплікацію вірусів грипу з 90% ефективністю при застосуванні в діапазоні концентрацій 157–439 моль (дози, в 23–64 рази нижчі за цитотоксичні концентрації). Віруси грипу В трохи сильніше пригнічувалися енісамієм, ніж віруси грипу А.

Крім того, вивчали результати додавання енісамію через 4 год після інокуляції вірусу А (H1N1). Дослідники відзначили зниження титру вірусу в ≥ 100 разів, що дозволяє припустити таке: енісамію впливає на ранню стадію життєвого циклу вірусу. Отже, енісамію проявляв протівірусну активність проти вірусів грипу *in vitro*, що свідчить про його імовірну клінічну ефективність проти інфекцій, зумовлених вірусом грипу.

В умовах нинішньої пандемії COVID-19 інтерес науковців до протівірусного потенціалу енісамію помітно зріс. У квітні цього року A.J.W. Te Velthuis і співавт. у журналі «Антимікробні агенти та хіміотерапія» Американської асоціації мікробіології опублікували результати дослідження з вивчення ефективності енісамію в пацієнтів віком від 18 до 60 років із підтвердженим діагнозом респіраторної інфекції вірусної етіології. Загалом для участі у випробуванні було відібрано 137 пацієнтів, які повідомили про нещодавній початок респіраторної інфекції, – $1,6 \pm 0,5$ дня з моменту розвитку симптомів. Із них 100 пацієнтів відповіли критеріям включення. Результати тестування виявили, що 43% із них були позитивними на вірус грипу групи А; 16% – аденовірус; 14% – поєднання вірусу грипу А й аденовірусу; 12% – вірус грипу В; 8% – вірус парагрипу чи

респіраторно-синцитіальний вірус. Загалом 69% хворих інфікувалися вірусами грипу В чи А. Згодом хворих розподілили на прийом енісамію ($n=60$) або плацебо ($n=40$). Пацієнти обох груп були зіставні за віком та статтю. Протягом усього дослідження не спостерігалось відхилень від запланованого прийому ліків; середня тривалість лікування склала $6,8 \pm 0,8$ дня. Пацієнти обох груп мали змогу використовувати деконгестанти та відхаркувальні засоби (за необхідності). В групі енісамію деконгестанти застосовували протягом коротшого періоду лікування й значно рідше, ніж у групі плацебо (23,3 ($n=14$) проти 75% ($n=30$) відповідно). Відхаркувальні засоби використовували хворі обох груп, але більшість пацієнтів групи енісамію припинили їхнє застосування через 7 днів, тоді як більшість учасників групи контролю продовжували їх приймати протягом 14 днів.

Вплив на припинення виділення вірусу

На 3-й день лікування (перший візит) у 71,2% ($n=42$) пацієнтів, котрі отримували енісамію, та в 25% ($n=10$) хворих із групи плацебо спостерігали негативні результати на антигени вищезазначених респіраторних вірусів, визначені методом імунофлуоресцентного фарбування назальних мазків ($p < 0,0001$). На 7-й день лікування (другий візит) у всіх пацієнтів групи енісамію та у 82,5% ($n=33$) хворих із групи плацебо тест на антиген респіраторних вірусів виявився негативним (рис. 2А).

Аналіз у підгрупах продемонстрував аналогічний позитивний ефект лікування енісамієм порівняно із плацебо для пацієнтів, інфікованих вірусами грипу групи А чи В (75,0 ($n=24$) і 22,7% ($n=5$) відповідно) або аденовірусом (71,4 ($n=5$) та 12,5% ($n=1$) відповідно).

Отже, лікування енісамієм сприяло швидшому припиненню вірусовиділення інфікованими пацієнтами.

Рівень повсякденної активності

В групі хворих, які отримували енісамію, спостерігався вищий рівень повсякденної активності (не було жодного дня або лише 1 день без повсякденної активності), ніж у групі плацебо, де більшість хворих не мали змоги здійснювати повсякденну активність протягом ≥ 2 днів (рис. 2Б). Ці відмінності між групами були статистично значимими ($p < 0,0001$).

Вплив на об'єктивні симптоми

Дослідники проаналізували динаміку таких об'єктивних симптомів, як лихоманка, гіперемія глотки й аускультативні зміни. На початку дослідження не було різниці в показниках об'єктивних симптомів між двома групами (9,6 \pm 0,7 бала для групи енісамію та 9,7 \pm 1,1 бала для групи плацебо). Зниження показників об'єктивних симптомів з 0-го по 14-й день було статистично значимим ($p < 0,0001$) у групі енісамію (із 9,6 \pm 0,7 до 4,6 \pm 0,9 бала) порівняно із групою плацебо (із 9,7 \pm 1,1 до 5,6 \pm 1,1 бала). Відсутність усіх об'єктивних симптомів спостерігалась в обох групах пацієнтів із 7-го дня, втім, у групі енісамію відсутність усіх трьох симптомів відзначалась в значно більшій частці пацієнтів на 14-й день лікування (рис. 3А).

Такі прояви захворювання, як гіперемія глотки та патологічні зміни при аускультативній

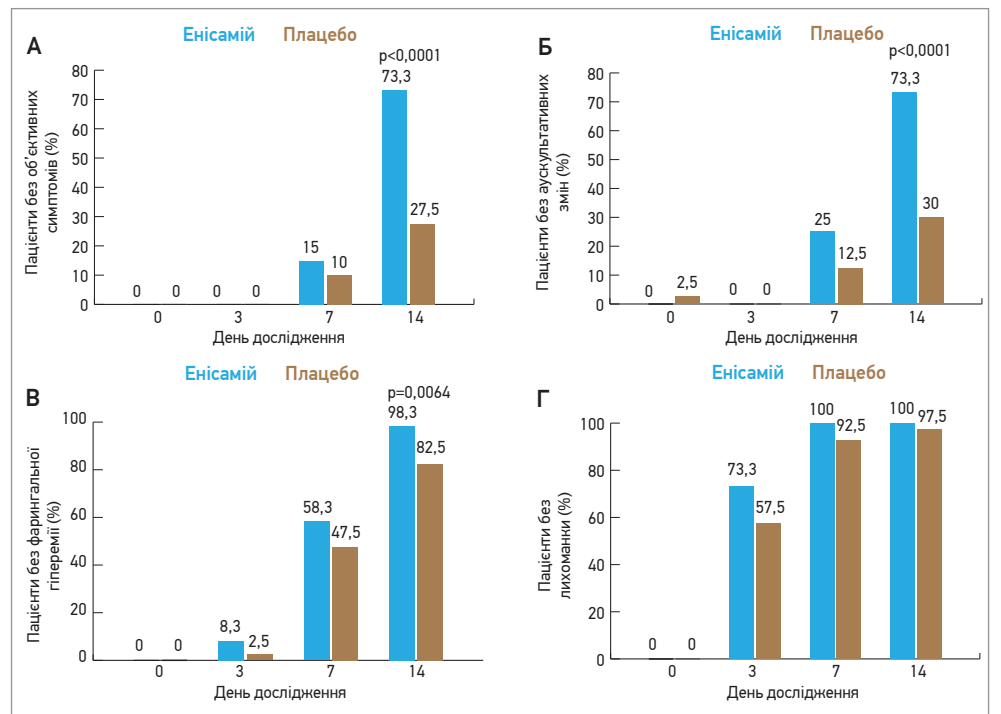


Рис. 1. Лікування енісамієм зменшує об'єктивні симптоми в пацієнтів із вірусним респіраторним захворюванням

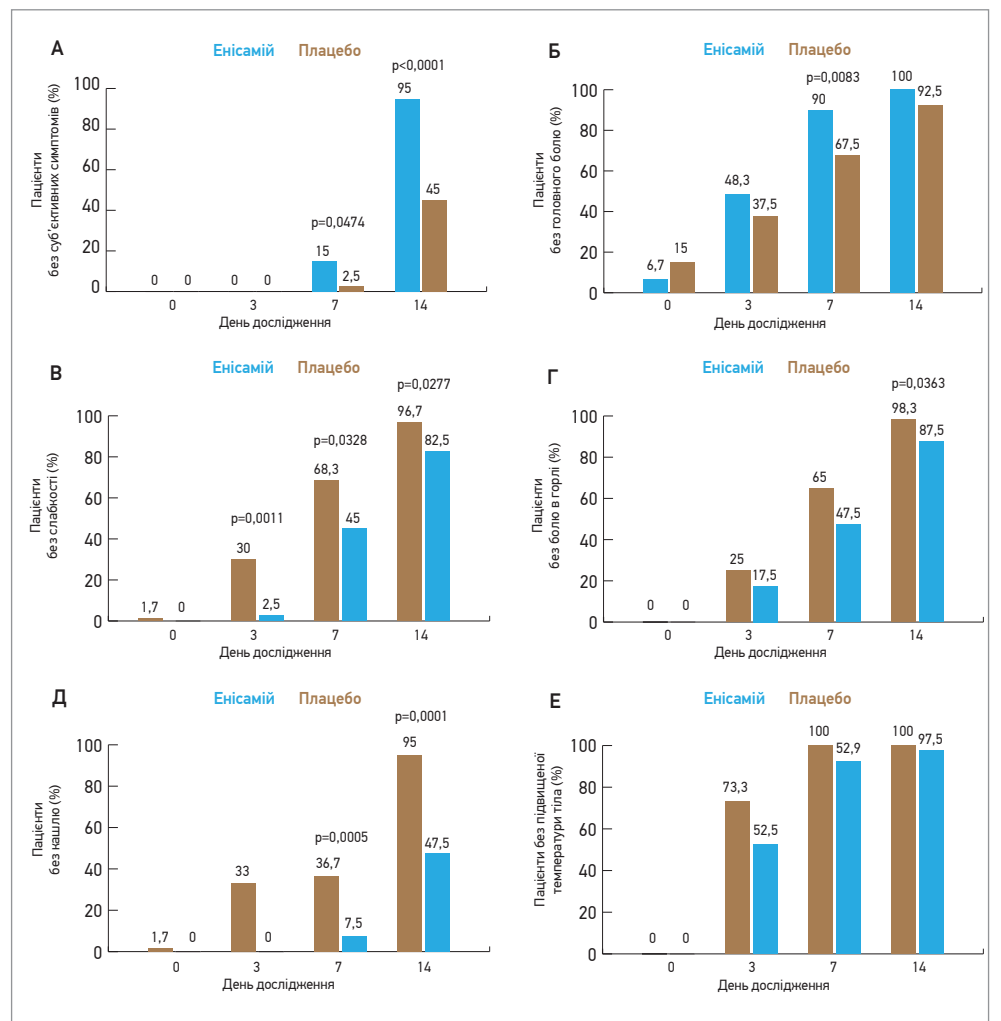


Рис. 2. Лікування енісамієм зменшує суб'єктивні симптоми в пацієнтів із вірусним респіраторним захворюванням

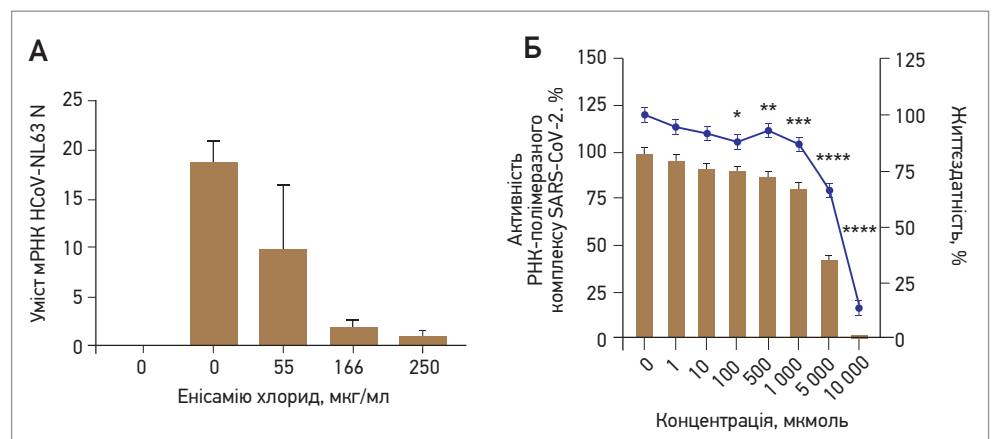


Рис. 3. Енісамію пригнічує вірусну інфекцію HCoV-NL63 в нормальних бронхоепітеліальних клітинах людини й активність SARS-CoV-2 nsp12/7/8 *in vitro*

Кількісне визначення рівнів умісту мРНК HCoV-NL63 N у нормальних бронхоепітеліальних клітинах людини, інфікованих HCoV-NL63, після обробки енісамію хлоридом (А); пригнічення активності РНК-полімеразного комплексу SARS-CoV-2 nsp12/7/8 енісамієм, оцінене за допомогою мінігеномного аналізу (Б).

повернулися до норми значно швидше в групі енісамію, ніж у групі плацебо (рис. 3Б, 3В). Аналогічні результати були отримані й у підгрупі пацієнтів із грипом.

Наведені результати переконливо свідчать, що лікування енісамієм спричинило швидше та значиміше зменшення об'єктивних клінічних симптомів, пов'язаних з респіраторними вірусними інфекціями.

Вплив на суб'єктивні симптоми

На момент залучення до випробування в усіх пацієнтів спостерігалися такі суб'єктивні симптоми: слабкість, головний біль, відчуття підвищення температури тіла, біль у горлі та кашель. Менше половини хворих повідомили про міалгію (46,0%, n=46) і лише в декількох учасників спостерігався озноб (7,0%, n=7).

Аналіз динаміки суб'єктивних симптомів виявив стрімкіше їхнє зниження в групі енісамію (порівняно із прийомом плацебо) на 3-й, 7-й і 14-й дні від початку лікування (рис. 2). Зокрема, на 14-й день загальний показник симптомів знизився із 15,7±2,2 до 7,1±0,5 бала в групі енісамію порівняно із 15,4±1,8 до 8,0±1,3 в групі плацебо. Також було продемонстровано, що суб'єктивні скарги з найбільшим внеском до сумарного показника симптомів (слабкість, головний біль, підвищення температури тіла, біль у горлі та кашель) знижувалися швидше в групі енісамію. Схожі результати було отримано в підгрупах пацієнтів за різними типами вірусів. Отже, лікування енісамієм сприяє швидшому зниженню таких клінічно значимих суб'єктивних симптомів, як-от відчуття слабкості, головний біль, біль у горлі і кашель.

Отже, лікування енісамієм зумовило більш раннє припинення виділення вірусу хворими, швидше одужання пацієнтів (на 14-й день лікування в групі енісамію одужали 93,9% пацієнтів порівняно із 32,5% у групі плацебо; p<0,0001), а також зменшення об'єктивних (із 9,6±0,7 до 4,6±0,9 бала в групі енісамію проти 9,7±1,1 до 5,6±1,1 бала в групі плацебо; p<0,0001) та суб'єктивних (із 15,7±2,2 до 7,1±0,5 бала в групі енісамію порівняно із 15,4±1,8 до 8,0±1,3 в групі плацебо; p<0,0001) симптомів захворювання.

Перспективи енісамію в лікуванні COVID-19

Коронавірусна хвороба, спричинена коронавірусом SARS-CoV-2, потребує пошуку нових стратегій лікування. Розробка та впровадження вакцин проти коронавірусу, на які поклали великі надії, не дозволила вирішити проблему подальшого поширення пандемії. Управління з контролю за якістю продуктів харчування та лікарських засобів США (FDA) схвалило декілька протівірусних стратегій – лікування ремдесивіром або реконвалесцентною плазмою. Однак розробка ефективніших стратегій наразі все ще залишається вкрай необхідною. Ключовою мішенню для нових препаратів є РНК-полімераза SARS-CoV-2.

Одним із препаратів, виокремлених Всесвітньою організацією охорони здоров'я як потенційно ефективний засіб проти SARS-CoV-2, є енісамію йодид. Цей препарат ліцензований як засіб проти грипу в 11 країнах. Нещодавнє дослідження продемонструвало, що енісамію піддається гідроксилуванню в організмі та клітинах легень людини до сполуки VR17-04, здатної пригнічувати активність РНК-полімерази вірусу грипу А (Te Velthuis A.J.W. et al., 2021).

В цьому експериментальному дослідженні науковці вивчали вплив енісамію на розвиток вірусу SARS-CoV-2 на моделях клітини епітеліальної аденокарциноми людини (Caco-2) і на нормальних бронхоепітеліальних клітинах людини (NHBE).

Культури клітин обробляли серійними розведеннями енісамію йодиду (лабораторний код FAV00A, торгова назва Амизон®) або енісамію хлориду (лабораторний код FAV00B) за 6 год до зараження. Клітини інфікували SARS-CoV-2, а після інокуляції вірусу повторно наносили сполуку. Через 48 год після зараження реестрували цитопатичний ефект шляхом дослідження інфікованих культур за допомогою світлової мікроскопії, а також відбирали

оточуючу рідину для визначення РНК вірусу за допомогою кількісної полімеразно-ланцюгової реакції у режимі реального часу.

Науковці спостерігали значне зниження експресії вірусного нуклеопротеїну, цитопатичного ефекту інфекції SARS-CoV-2 на клітини Caco-2 і зменшення числа копій вірусного геному в інфікованих клітинах залежно від концентрацій енісамію. Концентрація напівмаксимального інгібування для енісамію хлориду в клітинах Caco-2 склала 1,2 ммоль (≈300 мкг/мл). Отримані результати виявилися зіставними з інгібувальною дією енісамію на реплікацію вірусу грипу А в клітинах Caco-2, вивчену в попередніх дослідженнях (Te Velthuis A.J.W. et al., 2021).

Для перевірки здатності енісамію пригнічувати реплікацію коронавірусу в нормальних бронхоепітеліальних клітинах людини культури цих клітин інкубували з енісамію йодидом протягом 6 год, після чого інфікували альфа-коронавірусом (HCoV-NL63). Аналіз рівнів умісту N гена РНК в інфікованих нормальних бронхоепітеліальних клітинах людини продемонстрував значний вплив енісамію на синтез вірусної РНК (рис. 3А) з концентрацією напівмаксимального інгібування ≈60 мкг/мл.

З метою перевірки здатності енісамію пригнічувати синтез РНК SARS-CoV-2 *in vitro* дослідники застосували метод мінігеномного аналізу, що дозволяє визначити ступінь пригнічення активності РНК-полімеразного комплексу SARS-CoV-2 nsp12/7/8. Додавання енісамію в середовище інкубації культури клітин значно пригнічувало сигнал мінігеному залежно від концентрації

(рис. 3Б). Дослідження продемонструвало, що енісамію пригнічує реплікацію коронавірусу на моделі клітин епітеліальної аденокарциноми людини (Caco-2) і нормальних бронхоепітеліальних клітин людини. Науковці пов'язують отриманий ефект із пригніченням елонгації РНК SARS-CoV-2, що підтверджують результати моделювання молекулярної динаміки.

Багатоцентрове подвійне сліпе рандомізоване плацебо-контрольоване дослідження III фази з вивчення ефективності енісамію (використовували Амизон® МАКС) у пацієнтів із COVID-19 середнього ступеня тяжкості свідчить про досить високу клінічну ефективність цього препарату. Випробування здійснювалося в 14 клінічних центрах різних регіонів України із залученням 592 хворих з підтвердженою коронавірусною інфекцією. На 15-й день дослідження в групі плацебо було виписано 85,7% пацієнтів, а в групі препарату Амизон® МАКС – 94,4%. Різниця у 8,7% свідчить про більшу ефективність лікування в групі Амизону МАКС порівняно із групою плацебо (p=0,0018). У групі препарату Амизон® МАКС ризик розвитку дихальної недостатності й інших ускладнень виявився майже вчетверо нижчим порівняно із групою плацебо – відношення ризику склало 4,244 (95% довірчий інтервал від 1,171 до 15,38; p=0,014) (Бабіч М.П. і співавт., 2021). Отже, Амизон® МАКС допомагає пришвидшити одужання, запобігти розвитку дихальної недостатності та інших ускладнень COVID-19.

Підготував В'ячеслав Килимчук

37

Амизон® МАКС

пройшов випробування при COVID-19

в багатоцентровому подвійному сліпому, рандомізованому, плацебо-контрольованому клінічному дослідженні*



В інструкцію для медичного застосування протівірусного лікарського засобу Амизон® Макс внесено показання: **лікування COVID-19 середнього ступеня тяжкості в комбінації з базовою терапією***

* згідно з інструкцією для медичного застосування лікарського засобу Амизон® Макс
Реклама лікарського засобу. Інформаційний матеріал для розміщення у спеціалізованих виданнях, призначених для медичних установ та лікарів, а також для розповсюдження на семінарах, конференціях, симпозіумах з медичної тематики. Р.П. № UA/12415/01/01, від «04» липня 2017 р. [наказ МОЗ України від «10» вересня 2021 р. № 1922].
Виробник: АТ «Фармак», 04080, м. Київ, вул. Кирилівська, 63. тел.: +38 (044) 496-87-87/е-mail: info@farmak.ua /веб-сайт: www.farmak.ua УКР/ПРОМО/09/2021/АМІ/ДМ/004