

---

## PHARMACOLOGICAL APPROACH FOR TREATMENT OF INFLUENZA

**Milica Simova**

Institute for Public Health, Skopje, Republic of North Macedonia, mimistojanovik@yahoo.com

**Tijana Serafimovska**

Faculty of Pharmacy, University “St. Cyril and Methodius“, Skopje, Republic of North Macedonia

**Dejan Trajkov**

Institute of Immunobiology and Human Genetics,

Faculty of Medicine, University "Ss Cyril and Methodius", Skopje, Republic of North Macedonia

**Marija Darkovska Serafimovska**

Faculty of Medical Sciences, University „Goce Delcev“, Shtip, Republic of North Macedonia,

marija.darkovska@ugd.edu.mk

**Abstract:** Influenza is a viral disease which happens most often in the autumn and winter months. The most common symptoms that occur are fever, cold, sore throat, muscle aches, headaches, cough, weakness, and lethargy. There are several types of influenza viruses (A, B and C), of which the most common type in human are A (H1N1) and type B viruses. Influenza virus belongs to the group of enveloped viruses - it has a coating that originates from the membrane of the host cell that the virus carries with it when it leaves the cell. Hemagglutinin and neuraminidase are the two main types of glycoproteins present in the outer shell of influenza viruses. The M2 protein, which is a transmembrane channel present in the virus shell, passes through the lipid layer. Immediately below the lipid sheath is another protein called the matrix protein, or M1, which is positioned to enclose the nucleus of the virion on all sides. Inside the central nucleus of the virion are a non-structural protein and a ribonucleoprotein complex (RNP). The RNP complex consists of 8 gene segments of varying lengths, while the RNA-dependent RNA polymerase is a heterotrimer consisting of 2 polymerase bases (PB1 and PB2) and one polymerase acid subunit. All these sites are target sites for influenza medications. Methods for treatment to influenza vary depending on the severity of the disease. There are several approved medications for therapy of influenza available on the market. Neuraminidase inhibitors (oseltamivir, zanamivir) are the most used medicines. To overcome the limitations of these medicines (due to rapid mutations and resistance of the virus to neuraminidase inhibitors), several attempts have been made to develop new medicines against the influenza virus. Some of them are already approved (baloxavir approved in 2018 in Japan and the United States and favipiravir - nucleoside analogue which after oral ingestion is phosphoribosylated intracellularly to be transformed into an active form) or are in an advanced (second) stage of development (pimodivir which inhibits viral replication and monoclonal antibodies). Oseltamivir due to its ease way of administration (perorally) remains the medicine of choice for the treatment of influenza. However, although neuraminidase inhibitors (especially oseltamivir) remain the medicine of choice for influenza treatment, their overuse should be avoided. Accurate selection of patients who really need this treatment is necessary. There are a number of preventive measures we can take to protect ourselves from this virus and to prevent its spread. But, vaccines remain the best option for reducing the number of infections and complications that can occur from the influenza virus.

**Keywords:** influenza, antiviral drugs, vaccines

## ФАРМАКОЛОШКИ ПРИСТАП ВО ТЕРАПИЈА НА ИНФЛУЕНЦА

**Милица Симова**

Институт за Јавно здравје, Скопје, Република Северна Македонија, mimistojanovik@yahoo.com

**Тијана Серафимовска**

Фармацевтски факултет, Универзитет „Св.Кирил и Методиј“, Скопје, Република Северна Македонија

**Дејан Трајков**

Институт за имунобиологија и хумана генетика, Медицински факултет, Универзитет „Св.Кирил и Методиј“, Скопје, Република Северна Македонија

**Марија Дарковска Серафимовска**

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип, Република Северна Македонија

**Резиме:** Инфлуенцата е вирусно заболување кое најчесто се јавува во есенските и зимските месеци. Најчести симптоми коишто се јавуваат при оваа болест се треска, настинка, воспалено грло, болки во мускулите, главоболки, кашлање, изнемоштеност и омалаксаност. Постојат неколку типови на инфлуенца вируси (А, В и С), од кои најчести кај човекот се вирусот тип А (H1N1) и тип В. Инфлуенца вирусот припаѓа на групата обвиеени вируси, односно истиот поседува обвивка која потекнува од мембраната на домаќинската клетка која вирусот ја повлекува со себе при неговото напуштање на клетката. Хемаглутинин и неураминидаза се двата главни типови на гликопротеини застапени во надворешната обвивка на инфлуенца вирусите. Низ липидната обвивка минува М2 протеинот кој всушност е трансмембрански канал присутен на обвивката на вирусот. Веднаш под липидната обвивка се наоѓа уште еден протеин наречен матриксен протеин или М1 кој што е поставен така што од сите страни го затвора јадрото на вирионот. Во внатрешноста односно во централното јадро на вирионот се наоѓаат: неструктурен протеин и рибонуклеопротеински комплекс (RNP). RNP комплексот се состои од 8 генски сегменти со различна должина, додека РНК-зависната РНК полимераза е хетеротример сочинет од 2 полимеразно базни (PB1 и PB2) и една полимеразно кисела субединица. Сите овие места се таргет места за делување на лековите наменети за терапија на инфлуенца. Начините за лекување на грипот варираат во зависност од тежината на заболувањето. Постојат повеќе одобрени лекови за третман на инфлуенца кои се достапни на пазарот. Најчесто за терапија на инфлуенца се користат инхибитори на нерамнинидазата (оселтамивир, занамивир). Со цел да се надминат ограничувањата кон овие лекови (брзи мутации и резистентност на вирусот кон инхибитори на нерамнинидаза), направени се неколку обиди за развој на нови лекови против вирусот на инфлуенца. Некои од новите лекови се веќе одобрени (балоксавир одобрен во 2018 година во Јапонија и САД и фавипиравир – пролек, нуклеозиден аналог) или се во напредна (втора) фаза на развој (пимодивир кој ја инхибира вирусната репликација и моноклонални антители). Сепак, ниту еден од нив нема соодветни карактеристики за замена за инхибиторите на нерамнинидазата во моментот. Оселтамивир останува лек од избор за третман на грип. Иако, инхибиторите на неураминидазата (особено оселтамивир) остануваат лек од избор за третман на инфлуенца, треба да се избегнува нивната прекумерна употреба. Неопходна е точна селекција на пациентите на кои навистина им е потребен овој лек. Постојат низа превентивни мерки кои можеме да ги преземеме за да се заштитиме од овој вирус, но вакцините остануваат најдобрата опција за намалување на бројот на инфекции и компликации од вирусот на грип.

**Клучни зборови:** Инфлуенца, антивирусни лекови, вакцини

## 1. ВОВЕД

Грип или инфлуенца е заразно вирусно заболување кое најчесто се јавува во есенските и зимските месеци. Симптомите кои се појавуваат се типични за инфекции на горните и долните респираторни патишта.[1] Постојат неколку типови на инфлуенца вируси (А, В и С), од кои најчести кај човекот се вирусот тип А (H1N1) кој е и најопасен човечки патоген и тип В. Според класификацијата на вируси, вирусот на грип спаѓа во групата на РНК вируси.

Инфлуенца вирусите се состојат од централно јадро кое ги содржи вирусните геноми на РНК и вирусна обвивка што содржи два главни типови на гликопротеини: хемаглутинин (HA) и неураминидаза (NA). HA е лектин којшто непосредно влијае во спојувањето на вирусот со целните клетки, додека пак NA е вклучен во ослободувањето на вирусните потомци од заразените клетки. Оттука, разбирлив е и фактот дека токму овие гликопротеини се и мета на најразличните развиени лекови против вирусот. Покрај тоа постојат и антигени на површината на вирусната честичка кои го иницираат имунолошкиот одговор кај човекот преку создавање на специфични антители.[2-3] Други таргет места за делување на лековите се М2 протеинот кој е трансмембрански канал присутен на обвивката на вирусот и М1 протеинот кој што го обвиткува и затвора јадрото на вирионот. Во јадрото на вирионот се наоѓаат неструктурен протеин и рибонуклеопротеински комплекс кој се состои од 8 генски сегменти. РНК-зависната РНК полимераза е хетеротример сочинет од 2 полимеразно базни (PB1 и PB2) и една полимеразно кисела субединица.[3-4]

### Имунолошки одговор

Имунолошкиот систем на човекот се труди да го елиминира причинителот на инфекцијата. Клетките кои учествуваат во одбраната може да се поделат на: клетки на неспецифична одбрана: фагоцити, клетки природни убијци и клетки на специфична одбрана: Т лимфоцити (TLy) и В лимфоцити (BLy).

Првата линија на одбрана ја сочинува вродениот неспецифичен имунитет кој се состои од физички бариери (муцини и колектини), различни фагоцитни клетки, цитокини, интерферони. Ефекторни клетки на вродениот имунитет се клетките природни убијци (КПУ), моноцитите, макрофагите и неутрофилите. Секој од овие типови клетки, доколку во циркулацијата се појават специфични сигнали (C5a компонентата на

комплементот, хемотаксиски цитокини) поседува свои уникатни механизми преку кои стапува во интеракција со инфицираните клетки за да ја спречи репликацијата на вирусот.[5] Клетките кои учествуваат во специфичната одбрана на организмот се T<sub>H</sub> и B<sub>H</sub>, кои потекнуваат од хематопоетските клетки во коскената срцевина. T<sub>H</sub> се одговорни за клеточниот имун одговор. Постојат два типа на T<sub>H</sub>: цитотоксични (CD8+) и помагачки (CD4+). CD8+ лимфоцитите се активираат откако ќе се врзат за T клеточниот рецептор, како резултат на презентација на антиген од страна на главниот хистокомпатибилен комплекс (MHC) класа I молекули на површината на клетката. CD4+ лимфоцитите ги преземаат информациите од антиген-презентиращките клетки преку MHC класа II молекулите. Активирани CD4+ лимфоцити ослободуваат цитокини со кои се активираат други клетки: макрофаги, CD8+ лимфоцити и B лимфоцити (преку CD40 лигандите).[6] B<sub>H</sub> се одговорни за хуморалниот клеточен одговор. Секој B<sub>H</sub> на својата површина има врзани IgD и IgM антителиа кои доколку за својот Fab фрагмент строго специфично врзат некој антиген информацијата ја пренесуваат во цитоплазмата на B<sub>H</sub> преку Ig- $\alpha$ /Ig- $\beta$  протеинот. Пренесувањето на информацијата во цитоплазмата на B<sub>H</sub> активира каскада од реакции кои водат до негова активација, брза делба и создавање на голем број копии на исти клетки. Антителата поврзувајќи се со вирионот спречуваат негово навлегување во клетката.[7]

## 2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРНИТЕ ПОДАТОЦИ

### Фармаколошки пристап во терапија на инфлуенца

Согласно публикуваните резултати, начините за лекување на грипот варираат во зависност од тежината на заболувањето. Кога станува збор за лесна форма на заболување, самото лекување може да се изведе во домашни услови со нефармаколошки (одмор, пиење на големи количини течности) и фармаколошки пристап (земање на симптоматска терапија: парацетамол, ибупрофен или аспирин).

Кај потешка форма на болеста, треба да се размисли за давање на специфични антивирални лекови. Првиот лек воведен во клиничката пракса за лекување на грип бил амантадинот.[8] Тој го инхибира влегувањето на вирусната RNA во клетките на домаќинот и понатамошната репликација. Доколку превентивно се применува, овој лек во висок процент (50-90%) го намалува ризикот од појава на инфекции од вирусот. Во поново време во терапијата на грип се воведени инхибитори на нераминидазата (НАИ), ензим кој е неопходен за репликација и ослободување на вирусот на инфлуенцата од клетките на домаќинот (оселтамивир, занамивир).[9]

### Нови одобрени лекови за третман на инфлуенца

Baloxavir marboxil (BAM) е одобрен во 2018 година во Јапонија и САД за третман на некомплицирани грип кај лица на возраст над 12 години со симптоми на грип. Лекот делува така што ја инхибира активноста на ендонуклеаза со што се спречува додавањето на 5'-капа на mRNA на инфлуенца вирусите и со тоа се спречува вирусната mRNA да биде препознаена од рибозомите на клетката домаќин. Клиничките испитувања во фаза 1 спроведени кај вкупно 55 здрави испитаници на возраст од 20-59 години, главно биле насочени кон проценка на безбедноста, толерантноста, фармакокинетиката и интеракциите на лекот со храна. Студиите спроведени во фаза 2 и 3 биле спроведени со учество на лица на возраст од 12-64 години. Овие студии ја потврдиле ефикасноста и безбедноста на BAM. Слични резултати се добиени и подоцна во една двојно слепа, рандомизирана, плацебо и со оселтамивир контролирано испитување спроведено кај пациенти постари од 12 години кај кои бил дијагностицирани грип во рок од 48 часа од појава на првите симптоми.[10-12]

Favipiravir (FP) е пролек одобрен за употреба во Јапонија. Тој е нуклеозиден аналог, кој по орална ингестија интрацелуларно се фосфорибозилира за да се трансформира во активна форма. Механизмот на дејство му е намалена вирусна репликација преку инхибиција на РНК-зависната РНК полимераза. Неколку студии во фаза 2 и 3 кај возрасни биле спроведени во Јапонија, САД и Европа (NCT01068912, NCT02026349, NCT02008344, NCT01728753 и NCT03394209). Повеќето од овие студии се завршени пред неколку месеци, но резултатите сеуште не се достапни, со исклучок на студијата NCT01068912, која има за цел да ја идентификува најефективната и најдобро толерираната доза на лекот.[13-14]

### Антивирални препарати во напредна фаза на развој

Pimodivir е орален лек кој ја инхибира вирусната репликација. Ин витро испитувањата и претклиничките испитувања спроведени на експериментални животни покажале дека пимодивирот е ефикасен против вирусот на инфлуенца А. Во споредба со оселтамивир, тој бил поефикасен во подобрување на состојбата и намалување на сериозноста на инфекцијата на белите дробови. Овие сознанија биле потврдени и во една двојно слепа студија (фаза 2b), во која биле вклучени возрасни лица со некомплицирани клиничка слика на инфлуенца А кои биле третирани со различни дози на пимодивир 2 пати на ден во текот на 5 дена како монотерапија или во комбинација со оселтамивир.[15-16]

Моноклонални антители - студиите со кои се испитувале природните имунолошки реакции на организмот како резултат на инфекција со вирусот на инфлуенца покажале дека местата каде се случува гликозилација во хемаглутинаинот се релативно добро зачувани и дека антителата насочени кон овие места се ефикасни против голем број на вируси на инфлуенца. Поаѓајќи од ова, развиени и тестирани се голем број моноклонални антители насочени кон овие региони за третман на инфлуенца А. Препаратите идентификувани како МНАА4549А, МЕДИ8852 и VIS 410 се веќе во фаза II истражување. Се покажало дека сите овие препарати се безбедни и добро толерирани и можат да го намалат времетраењето на вирусната инфекција во споредба со плацебо групата.[17-18]

#### **Успешност во превенција од инфлуенца вирусот**

Постојат низа превентивни мерки кои можеме да ги преземеме за да се заштитиме и за да го спречиме ширењето на вирусот, но вакцините остануваат најдобрата опција за намалување на бројот на инфекции и компликации од вирусот. Како резултат на високата мутациска стапка на вирусот, неопходно е креирање на нова вакцина секоја година. Новите вакцини се креираат врз база на информациите за новите соеви на вирусот кои циркулираат низ хуманата популација. Вакцините се состојат од инактивирани или живи атенуирани инфлуенца вириони. Вакцините кои се состојат од живи ослабени вириони не се препорачуваат за бремени жени, деца под 2 години, лица постари од 50 години, како и лица со хронични заболувања или ослабен имунитет. Сезонските инфлуенца вакцини се најчесто тривалентни или квадривалентни, односно заштитиваат од 3 или 4 различни соеви. Вообичаено, инфлуенца вакцините вклучуваат два инфлуенца А (H1N1 и H3N2) и еден или два инфлуенца В соеви.[19]

### **3. ЗАКЛУЧОК**

Инфлуенца е заразно вирусно заболување. Постојат повеќе одобрени лекови за третман на инфлуенца. Најчесто се користат инхибитори на НЕА (оселтамивир, занамивир). Направени се неколку обиди за развој на нови лекови против вирусот со цел да се надминат ограничувањата за употребата на инхибиторите на нераминидазата како резултат на брзите мутации на вирусот. Некои од новите лекови се веќе одобрени или се во напредна фаза на развој. Сепак, ниту еден од нив нема соодветни карактеристики за замена за инхибиторите на НЕА во моментот. Иако инхибиторите на НЕА (особено оселтамивир) остануваат лек на избор за третман на инфлуенца, нивната прекумерна употреба треба да се избегнува. Вакцините и понатаму остануваат најдобрата опција за намалување на бројот на инфекции и компликации кои можат да настанат од инфлуенца вирусот.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

- Banti, C.N., N. Kourkoumelis, A.G. Hatzidimitriou, Ivi Antoniadou, A. Dimou, M. Rallis, A. Hoffmann, M. Schmidtke, K. McGuire, D. Busath, A. Kolocouris, S.K. Hadjidakou. (2020). Amantadine copper(II) chloride conjugate with possible implementation in influenza virus inhibition. *Polyhedron*. 185 (114590)
- Billur Akkaya, Ethan M. Shevach. (2020). Regulatory T cells: Master thieves of the immune system. *Cellular Immunology*, 355 (104160) <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2020.104160>
- Danielle Iuliano, Katherine M Roguski, Howard H Chang, David J Muscatello, Rakhee Palekar, et al. (2018). Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *The Lancet*, 391 (10127): 1285-1300
- Delang L, Abdelnabi R, Neyts J. (2018.) Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res.* 153:85–94.
- Esposito S, (2016). Principi N. Oseltamivir for influenza infection in children: risks and benefits. *Expert Rev Respir Med.* 10:79–87.
- Finberg RW, Lanno R, Anderson D, Fleischhackl R, van Duijnhoven W, Kauffman RS, et al. (2018). Phase 2b Study of pimodivir (JNJ-63623872) as monotherapy or in combination with oseltamivir for treatment of acute uncomplicated seasonal influenza A: TOPAZ Trial. *J Infect Dis.* 219:1026–34.
- Furuta Y, Komeno T, Nakamura T. (2017). Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 93:449–63.
- Hayden FG, Sugaya N, Hirotsu N, Lee N, de Jong MD, Hurt AC, et al. (2018). Baloxavir marboxil for uncomplicated influenza in adults and adolescents. *N Engl J Med.* 379:913–23.
- Hershberger E, Sloan S, Narayan K, Hay CA, Smith P, Engler F, et al. (2019). Safety and efficacy of monoclonal antibody VIS410 in adults with uncomplicated influenza A infection: results from a randomized, double-blind, phase-2, placebo-controlled study. *EBioMedicine.* 40:574–82
- Julia Jellusova. (2020). Metabolic control of B cell immune responses. *Current Opinion in Immunology*; 63: 21-28.

- Krausgruber, T., Fortelny, N., Fife-Gernedl, V. et al. (2020). Structural cells are key regulators of organ-specific immune responses. *Nature*, 583, 296–302
- Krammer, F., Palese, P. (2015). Advances in the development of influenza virus vaccines. *Nat Rev Drug Discov* 14, 167–182
- Koshimichi H, Ishibashi T, Kawaguchi N, Sato C, Kawasaki A, Wajima T. (2018). Safety, tolerability, and pharmacokinetics of the novel anti-influenza agent baloxavir marboxil in healthy adults: phase I study findings. *Clin Drug Investig.* 38:1189–96.
- McBride JM, Lim JJ, Burgess T, Deng R, Derby MA, Maia M, et al. (2017). Phase 2 randomized trial of the safety and efficacy of MHAA4549A, a broadly neutralizing monoclonal antibody, in a human influenza A virus challenge model. *Antimicrob Agents Chemother.* 61:e01154–17.
- Nguyen-Van-Tam JS. (1998). Epidemiology of influenza. In: *Textbook of Influenza* (Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ, eds.). Oxford: Blackwell Science Ltd, 181–206.
- Shi, M., Lin, XD., Chen, X. et al. (2018). The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature*, 556:197–202
- Trejejo JM, Asmal M, Vingerhoets J, Polo R, Robertson S, Jiang Y, et al. (2018). Pimodivir treatment in adult volunteers experimentally inoculated with live influenza virus: a Phase IIa, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Antivir Ther.* 23:335–44
- WHO. Influenza (Seasonal). доступно на: [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)).
- Yang T. (2019). Baloxavir marboxil: the first cap-dependent endonuclease inhibitor for the treatment of influenza. *Ann Pharmacother.* 53:754–9.