

Terapia grypy

Beata Stanisiz

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Ludzkosc była i jest nękana przez epidemie i panemie grypy, największe w XX wieku to [1–4]:

- 1918 – grypa „hiszpanka” – wirus grypy był przyczyną zgonu około 40 milionów ludzi, pochodzenie oraz typ wirusa jest tajemnicą,
- 1957 – grypa „azjatycka” – szczep H₂N₂ był przyczyną zgonu około 100 tys. ludzi,
- 1968 – grypa „Hong Kong” – szczep H₃N₂ był przyczyną zgonu 700 tys. ludzi,
- 1977 – grypa „rosyjska” – nieznaną liczbą zgonów.

Grypa nadal jest jedną z głównych przyczyn zachorowalności i śmiertelności ludzi na świecie. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia, co roku choruje na nią około 100 mln ludzi, z czego umiera od 500 tys. do 1 mln. Powikłania po grypie dotyczą przede wszystkim [5, 6]:

- układu oddechowego: wtórne bakteryjne (meningokokowe) zapalenie płuc i oskrzelików, szczególnie u niemowląt i dzieci oraz osób starszych,
- ośrodkowego układu nerwowego: zapalenie mózgu i opon mózgowych, nasilenie objawów choroby Parkinsona, czy ataków padaczki,
- innych układów
 - najczęściej występuje zapalenie ucha środkowego,
 - zapalenie mięśnia serca i osierdzia,
 - zapalenie mięśni i mioglobiniuria.

Wirus grypy został po raz pierwszy wyizolowany w 1933 r. przez Smitha, Andrewesa i Laidlaw, a w latach czterdziestych ubiegłego stulecia określono jego budowę, zdolność do wywoływania hemaglutynacji oraz nauczono się go namnażać, wykorzystując kurze zarodki.

Patogen grypy należy do rodziny ortomiksowirusów (*Orthomyxoviridae*). Strukturę zewnętrzną wirusa stanowi lipidowa osłonka, z której wychodzą dwa typy białek glikoproteinowych – hemaglutynina (H) i neuraminidaza (N). Hemaglutynina ma zdolność do aglutynacji (zlepiania) krwinek czerwonych, odpowiada również za proces przyłączania i wnikania wirionów do wnętrza komórek nabłonkowych w drogach oddechowych. Neuraminidaza z kolei jest enzymem

Therapy of influenza · Medical therapy of influenza has been usually based on alleviation of symptoms. From among the antiviral drugs the derivatives of adamantane have been mainly used, and since 1999 also neuraminidase inhibitors. The latter inhibitors act against the influenza viruses type A and B, while the adamantane derivatives are effective against the pathogen of influenza type A. The effectiveness of medical therapy is closely related to its early implementation – up to 48 hours since the appearance of the first symptoms.

z grupy hydrolaz, odkrytym w 1942 r. przez G.K. Hirsta, występuje m.in. w komórkach wirusowych i bakteryjnych, w osoczu krwi i liposomach zwierzęcych. Ułatwia wirusom przenikanie do receptorów komórkowych, pokrytych gęstym śluzem dróg oddechowych, ponadto zwiększa ich patogenność oraz zapobiega tworzeniu agregatów wirusowych.

Genom wirusa grypy jest podzielony, składa się z określonej liczby segmentów. Każdy segment genomowy składa się z RNA o ujemnej polarności i razem z trzema białkami, które tworzą kompleks polimerazy występuje w formie helikalnej RNA o ujemnej polarności nie może replikować się bez obecności białka [7–9].

Istnieją trzy rodzaje wirusa grypy – wirus typu A (chorują ludzie i inne ssaki, m.in. świnie, konie oraz ptaki), wirus typu B (chorują tylko ludzie) i wirus typu C (chorują tylko ludzie).

Wirusy typu A można podzielić z uwagi na typy białek tworzących wypustki na ostonce wirusa. Glikoproteiny – hemaglutynina (H) oraz neuraminidaza (N) są kodowane przez genom wirusa i syntetyzowane we wczesnym okresie replikacji wirusa. Pojedynczy wirus zawiera około 100 cząsteczek neuraminidazy. Wyróżniono 16 podtypów hemaglutyniny oraz 9 podtypów neuraminidazy w tym typie wirusa [9, 10].

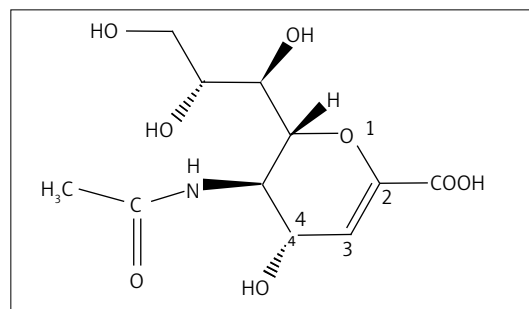
Wirus typu B występuje tylko w jednym typie serologicznym, przy czym poszczególne szczepy mogą różnić się sekwencją aminokwasów. Zakaża tylko ssaki i wywołuje chorobę, ale mniej groźną niż wirus typu A.

Grypa nadal jest jedną z głównych przyczyn zachorowalności i śmiertelności ludzi na świecie. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia, co roku choruje na nią około 100 mln ludzi, z czego umiera od 500 tys do 1 mln.

Wirus typu C zakaża tylko ssaki i różni się genetycznie od typów A i B.

Tylko wirus typu A wywołuje epidemie i pandemie gdyż podlega skokom antygenowym. **Skok antygenowy** oznacza duże zmiany antygenowe w segmentach genomu wirusowego. Skoki antygenowe odpowiadają za pandemie i epidemie [9].

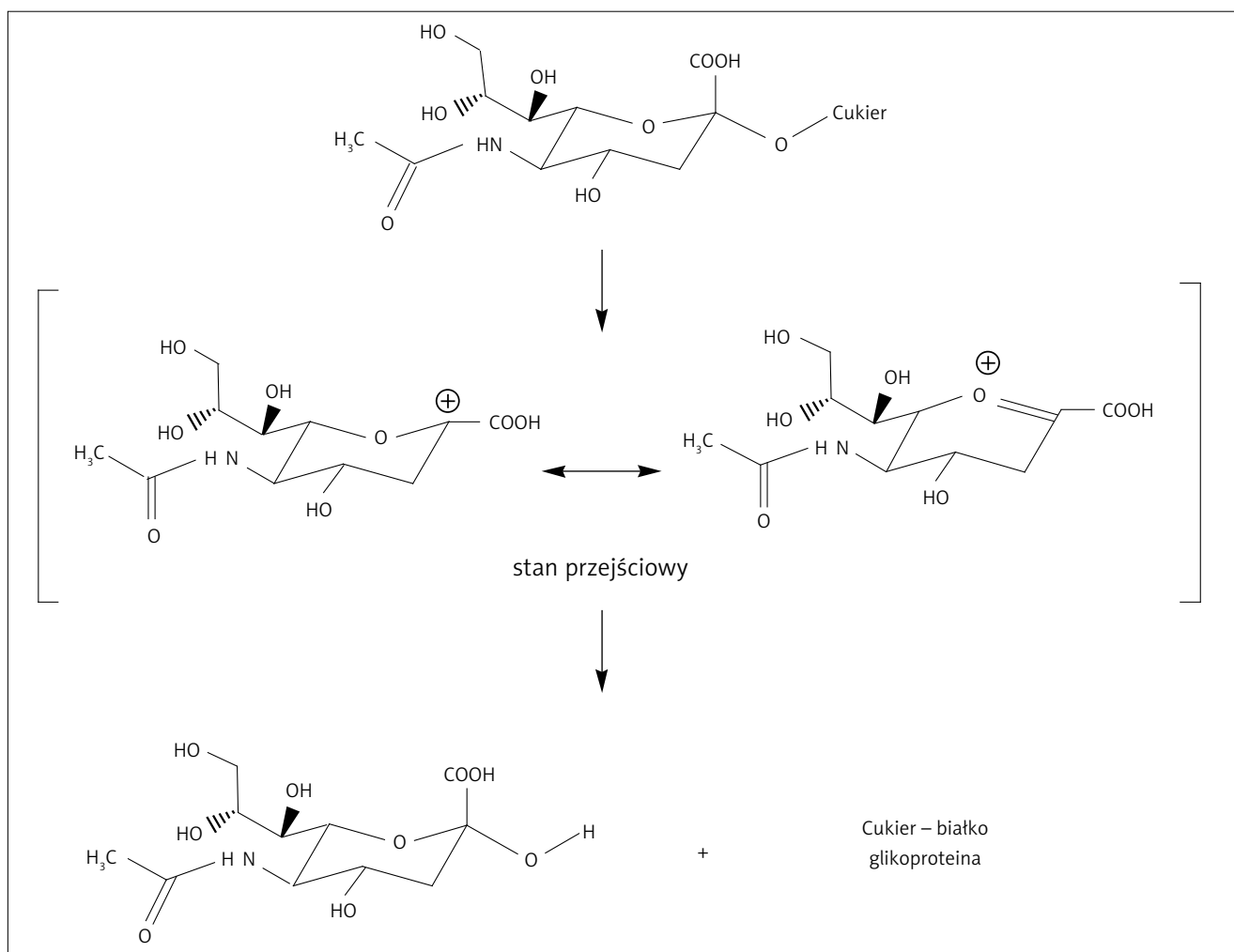
Najważniejszym rezerwuarem wirusa grypy typu A są świnie i ptaki, w których organizmach powstaje pula różnorodnych pod względem genetycznym/antygenowym wirusów, które przedostają się z powrotem do populacji ludzkiej w wyniku reasortacji. Zdolność do zakażenia wirusem grypy typu A ludzi i różnych gatunków zwierząt zależy od obecności określonych aminokwasów w glikoproteinach osłonki-hemaglutyniny. W szczególności (ale nie wyłącznie) zdolność ta zależy od aminokwasu w pozycji 226 białka hemaglutyniny. W ludzkim wirusie grypy w pozycji 226 występuje leucyna, natomiast w wirusie ptasim – glutamina.



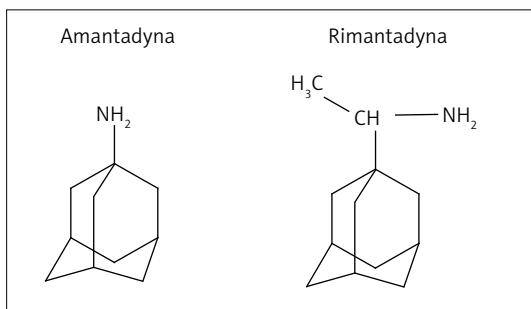
Rycina 1. Kwas sialowy

Różne aminokwasy w glikoproteinach stanowią barierę w przechodzeniu i infekowaniu przez tego samego wirusa ludzi i ptaków. Jednak niektóre ssaki, np. świnie mogą być zakażane w takim samym stopniu przez wirusy grypy ptasiej i ludzkiej. Dochodzi do mieszania się obu form wirusów i w wyniku tego mogą powstać formy wirusa zdolnego do łatwego zakażenia ludzi i ptaków, dlatego też ryzyko adaptacji ptasiej grypy do człowieka jest realne [1, 2, 11].

W maju 1997 r. wyizolowano u ptactwa wirus ptasiej grypy H5N1, w kwietniu 1999 r. H9N2, w lutym



Rycina 2. Uwalnianie kwasu sialowego z mukoproteidy [14]



Rycina 3. Pochodne adamantanu stosowane w terapii grypy

2003 i 2005 r. znów H5N1 oraz H7N7. Wszystkie podtypy wirusa z wyjątkiem H9N2 okazały się śmiertelne nie tylko dla ptaków ale także dla człowieka.

Wirusy grypy typu A i B mają taki sam cykl życiowy. Wyróżnia się następujące jego etapy [9, 10, 12]:

- przenikanie wirusa do ludzkiej komórki – białko receptorowe wirusa (hemaglutynina) na powierzchni komórki musi połączyć się z mukoproteiną zawierającą reszty końcowe kwasu N-acetylneuraminowego (kwas sialowy, **rycina 1**), następnie na drodze endocytozy patogen wchodzi do komórki ludzkiej,
- utworzenie w komórce ludzkiej pęcherzyka – endosomu,
- pęknięcie endosomu, następuje uwolnienie genu wirusa i białek wirusowych, które przemieszczają się do jądra komórki gospodarza i tam produkują geny i białka wirusowe,
- uwolnienie kwasu sialowego z mukoproteiny przez enzym neuraminidazę; umożliwia to nowym wirusom przemieszczanie się w organizmie gospodarza i rozszerzanie infekcji na inne komórki.

Wyróżnia się trzy metody leczenia grypy [14–17]:

- leczenie przyczynowe, które polega na stosowaniu leków niszczących wirusa grypy,
- leczenie objawowe, polega na łagodzeniu objawów gorączki, kaszlu itp.,
- profilaktyka, przestrzeganie podstawowych zasad higieny osobistej (mycie rąk, odzież ochronna itp.), właściwe odżywianie zwłaszcza w sezonie

grypowym i szczepienia ochronne, które są optymalną metodą zapobiegania zachorowaniom na grypę.

Do wirusostatyków w przyczynowym leczeniu grypy ludzkiej należą pochodne adamantanu, które hamują adhezję, wnikanie i wczesną replikację wirusów oraz nowa generacja leków blokujących enzym neuraminidazę.

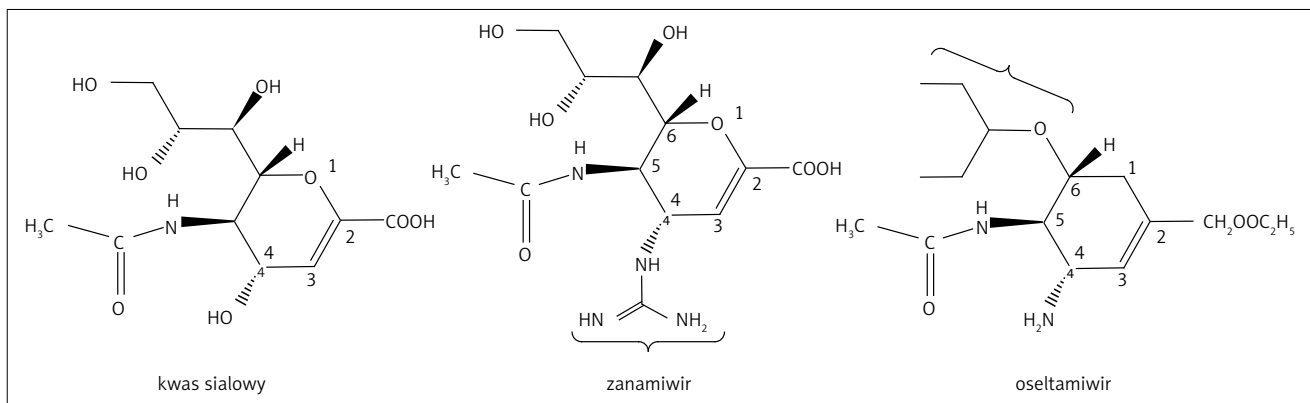
Pochodne adamantanu [10, 18]

Adamantan jest tricyklicznym dekanem o budowie symetrycznej, złożonym z trzech pierścieni o konformacji krzesłkowej, tworzącej strukturę klatkową. Jako środki przeciwwirusowe stosuje się pochodne adamantanu 1-amino (amantadyna) i 1-alkiloamino (rimantadyna) (**rycina 3**). W wirusach grypy typu A znajduje się białko błonowe, M_2 . Białko M_2 pełni funkcję kanału jonowego. Przez ten kanał transportowane są jony wodorowe do wirusa. Pochodne adamantanu blokują te kanały jonowe.

Pochodne adamantanu, podane w pierwszej fazie choroby są skuteczne w zapobieganiu i leczeniu grypy typu A.

Amantadyna i rimantadyna są stosowane w postaci kapsułek. Po podaniu doustnym wchłaniają się prawie całkowicie. Maksymalne stężenie w osoczu osiągają po 4–6 godzinach. Połowiczny okres eliminacji wynosi około 12 godzin dla amantadyny i około 35 godzin dla rimantadyny. Amantadyna jest bardziej toksyczna, a działania niepożądane dotyczą układu nerwowego (senność, bóle głowy, drgawki, halucynacje) i pokarmowego (nudności, biegunki, zaparcia).

Do 1997 r. amantadyna była uważana za lek umożliwiający w miarę szybkie opanowanie i złagodzenie objawów epidemii grypy ludzkiej i ptasiej. Jednak w 2003 r., kiedy ptasia grypa zaatakowała ludzi w Hongkongu, lek okazał się już nieskuteczny, przypuszcza się, że wirus o typie H5N1 mógł nabyć odporność na leki hamujące namnażanie się (replikację), gdyż wirus ptasiej grypy w szybko zmienia swoje struktury.



Rycina 4. Podobieństwo strukturalne inhibitorów neuraminidazy do kwasu sialowego

Inhibitory neuraminidazy [10, 11, 17, 19–25]

Inhibitory neuraminidazy wirusa grypy, wprowadzone do lecznictwa w 1999 r., są związkami, które naśladują naturalny substrat dla neuraminidazy, czyli kwas sialowy i działają na drodze kompetencji mając większą specyficzność i powinowactwo do neuraminidazy.

Intensywne prace nad stworzeniem nowej klasy inhibitorów skierowanych na neuraminidazę wirusa grypy zostały zapoczątkowane po roku 1983, kiedy to poznano krystalografię podjednostki neuraminidazy

oraz to, że sekwencja aminokwasów i trójwymiarowa struktura aktywnego miejsca katalitycznego neuraminidazy są niezmiennie.

Neuraminidaza wirusa grypy jest tetramerem, występuje na powierzchni wirionu w formie kolców o kształcie grzybka i stanowi około 5–10% białka wirusowego, jest zbudowana z identycznych podjednostek. Każda podjednostka jest z kolei zbudowana z 469 reszt aminokwasowych. Neuraminidaza wiąże kwas N-acetylneuraminowy

znajdują się w zagłębieniach, a te z kolei występują na wierzchołku każdej jednostki. Blokiwanie neuraminidazy zmniejsza rozprzestrzenianie się wirusa grypy.

Do stosowanych inhibitorów neuraminidazy należą zanamiwir, który jest stosowany od 1999 r. w leczeniu i profilaktyce infekcji grypowych oraz oseltamiwir, stosowany w lecznictwie od 2000 r. Leki te mają budowę chemiczną zbliżoną do kwasu sialowego (**rycina 4**). Charakterystycznymi cechami budowy ich cząsteczek są:

- obecność ujemnie naładowanych grup karboksylanowej i acetamidowej,
- brak grupy hydroksylowej, która w kwasie sialowym znajduje się w pozycji 4. Na miejscu tej grupy w oseltamiwirze jest grupa aminowa, natomiast w zanamiwirze – grupa guanidynowa,
- w pozycji 6 dla lepszego działania powinien znajdować się podstawnik hydrofobowy.

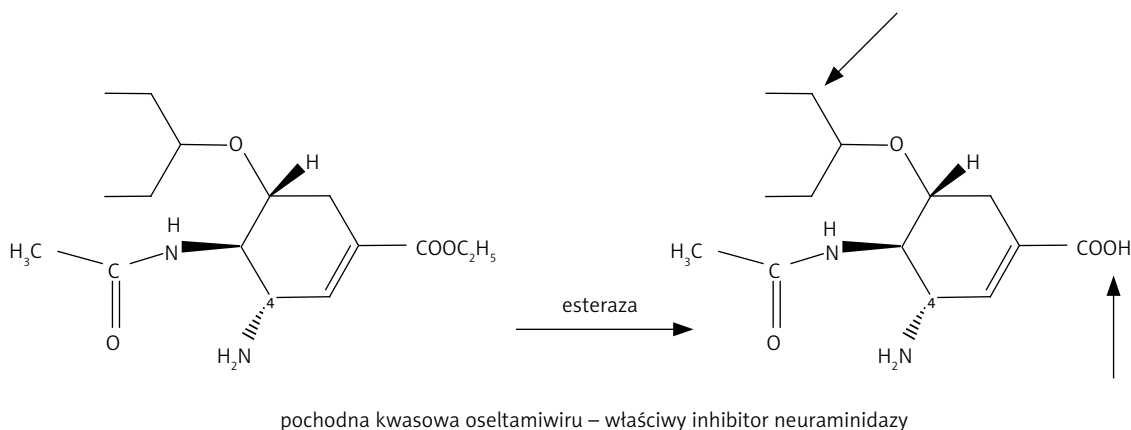
Grupa aminowa i guanidynowa mogą oddziaływać z aminokwasami centrum aktywnego neuraminidazy, w następujący sposób:

- grupa karboksylanowa przy C₂ z arginina w pozycji 118, 292 i 371,
- grupa karbonylowa podstawnika acetamidynowego przy C₅ z arginina w pozycji 152,
- grupa aminowa przy C₄ (oseltamiwir) z glutaminą w pozycji 119 lub z glutaminą w pozycji 227,
- grupa guanidynowa przy C₄ (zanamiwir) z glutaminą w pozycji 119 lub zamiennie z glutaminą w pozycji 227.

Zanamiwir jest selektywnym inhibitorem neuraminidazy wirusa grypy, nie działa na enzymy o podobnej budowie występujące u bakterii lub ssaków. Może być stosowany tylko w postaci inhalacji (doustnej lub donosowej), gdyż jego biodostępność po podaniu doustnym jest niska i wynosi od około 2 do 10%. Po podaniu w postaci inhalacji lek jest deponowany w układzie oddechowym, skąd jest uwalniany do miejsc zakażonych wirusem grypy. Zanamiwir nie wiąże się z białkami, nie podlega modyfikacji w wątrobie i jest w całości wydalany w postaci niezmięnionej.

Obecnie zanamiwir jest produkowany w postaci proszku do inhalacji doustnej przy użyciu aparatu Diskhaler. Badania kliniczne wykazały dużą skuteczność stosowania tego leku w terapii grypy, gdy leczenie nim jest wcześniej rozpoczęte (36 godzin od ekspozycji wirusowej). Nie powinien być stosowany

Wirus grypy został po raz pierwszy wyizolowany w 1933 r. przez Smitha, Andrewesa i Laidlawa, a w latach czterdziestych ubiegłego stulecia określono jego budowę, zdolność do wywoływania hemaglutynacji oraz nauczono się go namnażać wykorzystując kurze zarodki.



Rycina 5. Hydroliza enzymatyczna oseltamiwiru

u dzieci poniżej 5 roku życia (brak odpowiednich badań klinicznych).

Osetamiwir jest prolekiem o budowie estrowej, w przeciwieństwie do zanamiwiru może być podawany doustnie, jego biodostępność przy takiej drodze podania wynosi średnio 80%. Obecnie jest produkowany w formie kapsułek oraz w postaci płynnej przeznaczonej dla dzieci (może być stosowany u dzieci powyżej 6 roku życia). Po absorpcji w układzie pokarmowym ulega szybkiej enzymatycznej hydrolizie w wątrobie przez esterazy do formy aktywnej (**rycina 5**). Co najmniej 75% dawki doustnej dociera do krążenia systemowego. W wątrobie osetamiwir oprócz enzymatycznej hydrolizy może ulegać reakcjom utlenienia.

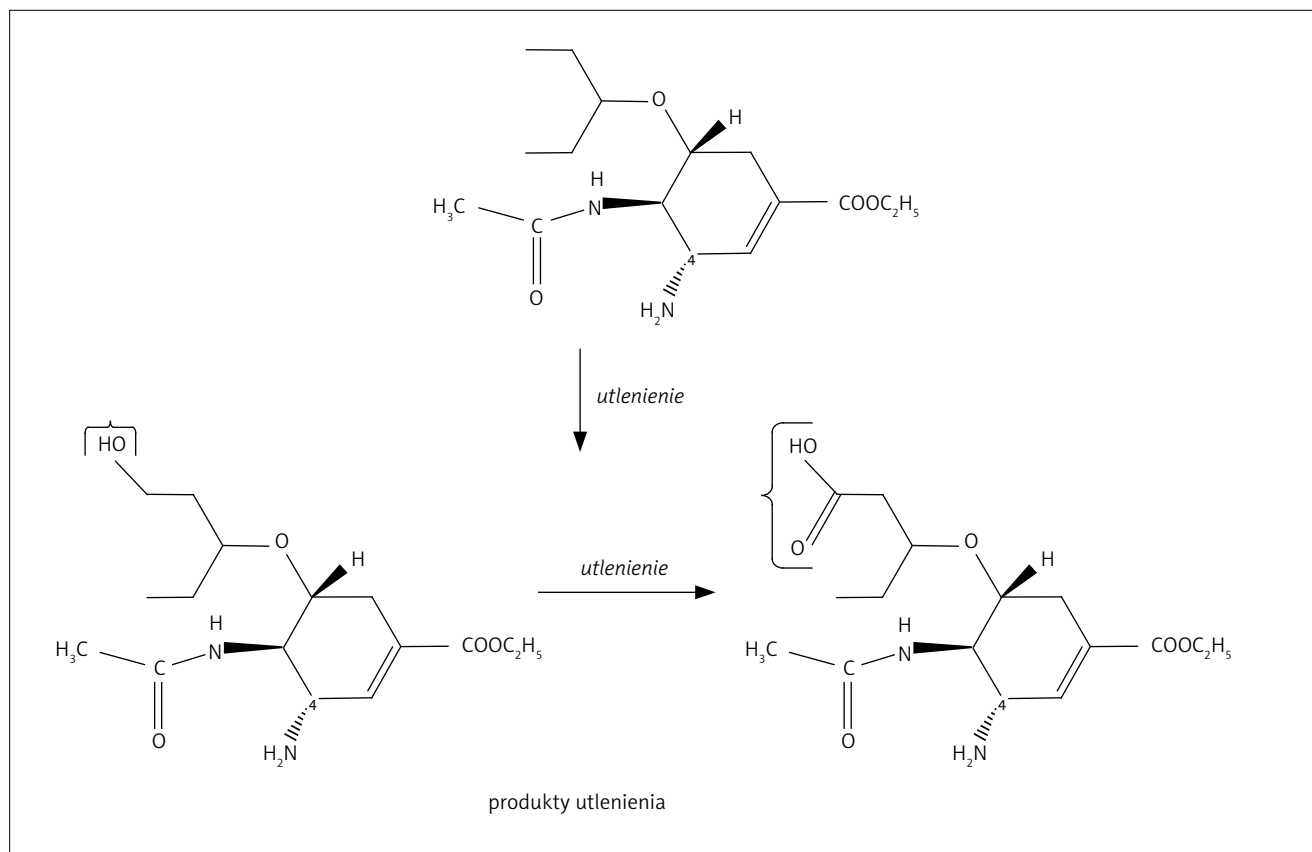
Osetamiwir stosowany w leczeniu grypy, skraca czas trwania choroby o około 30%, zmniejsza natężenie jej objawów już w pierwszych 24 godzinach przyjmowania, czyli w okresie, kiedy objawy grypy są najbardziej nasilone i redukuje liczbę powikłań pogrypowych.

Inhibitory neuraminidazy wykazują wyższość w porównaniu z lekami pochodnymi adamantanu – działają na wirusy grypy typu A i B, ich działanie niepożądane nie dotyczy układu nerwowego, a oporność wirusa na te leki rozwija się w znacznie mniejszym stopniu.

Podsumowanie

Lekami z wyboru do zwalczania wirusa grypy są inhibitory neuraminidazy. Skuteczność tych leków jest tym większa, im szybciej zostaną one podane pacjentom. Obecnie trudno określić, który z zarejestrowanych inhibitorów neuraminidazy – zanamiwir czy osetamiwir jest lekiem lepszym i skuteczniejszym, gdyż nie przeprowadzono dotychczas bezpośrednich badań porównawczych. Dostępne inhibitory neuraminidazy są skuteczne tylko w leczeniu zakażeń wywołanych przez wirusy grypy, nasuwa to potrzebę wprowadzenia szybkich testów diagnostycznych u pacjentów w celu określenia patogenu gdyż stosowanie ich na szeroką skalę, zwłaszcza w nieuzasadnionych przypadkach, może szybko doprowadzić do powstania wirusów opornych. Warto zacytować wypowiedź prof. Roberta Webstera z USA: *mimo że świat otrzymał dwa nowe inhibitory neuraminidazy wirusa grypy, nie należy ich traktować jako substytutu szczepionki przeciwko grypie, ale jako dodatkową wspaniałą broń do walki z grypą* [Genewa, 1999 r.].

Istnieją trzy rodzaje wirusa grypy – wirus typu A (chorują ludzie i inne ssaki, m.in. świnie i konie oraz ptaki), wirus typu B (chorują tylko ludzie) i wirus typu C (chorują tylko ludzie).



Rycina 6. Reakcje utlenienia osetamiwiru

Piśmiennictwo

1. Moellering R.C.: Avian influenza: the next pandemic? *Clinical Microbiology Newsletter*. 2006, 28, 97–101.
2. Iwami S., Takeuchi Y., Liu, X.: Avian–human influenza epidemic model. *Mathematical Biosciences*. 2007, 207, 1–25.
3. Małafiej E.: Grypa – wciąż powracający problem zdrowotny. *Stażba Zdrowia*. 2001, 73/73, 3067–3067.
4. Van-Tam J.: Avian influenza and the threat of the next human pandemic. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2007, 5, 399–400.
5. Brydak L.B.: Diagnostyka i profilaktyka grypy niezabędna w praktyce lekarza rodzinnego. *Standardy Medyczne*. 2001, 12, 16–29.
6. Brydak L.B.: Neurologiczne powikłania zakażeń wywołanych przez wirusa grypy. *Przegląd Epidemiologiczny*. 2002, 56, 16–30.
7. Neumann G., Kawaoka Y.: Reverse Genetics of Influenza Virus. *Virology*. 2001, 287, 243–250.
8. Abed Y., Boivin G.: Treatment of respiratory virus infections. *Antiviral Research*. 2006, 70, 1–16.
9. Virella G.: Mikrobiologia i choroby zakaźne. W: Manos J (tłum. Piotrowska E. *Wirusy RNA III: ortomiksowirusy*. Wyd.1. Wrocław: Urban & Partner, 1999. S. 339–342.
10. Zając M., Pawełczyk E., Jelińska A.: *Chemia leków*. W: *Leki przeciwiwirusowe*, Wyd. 2. Poznań: Akademia Medyczna, 2006. S. 527–539.
11. Park A.W., Glass K.: Dynamic patterns of avian and human influenza in east and southeast Asia. *The Lancet Infectious Diseases*. 2007, 7, 543–548.
12. Wasilewski S.: Neuraminidase-Hemmer: eine neue Waffe gegen Grippe? *Deutsche Apotheker Zeitung*. 1999, 5, 34–39.
13. Williams A.D., Lemke L.T.: *Foye's Principles of Medicinal Chemistry Fifth Edition*. W: *Antiviral Agents and protease inhibitors*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. S. 959–961.
14. Smith J., Dutkowsky R., Ward P.: Antivirals for influenza in healthy adults. *The Lancet*. 2006, 367, 1571.
15. Monto A.S.: The role of antivirals in the control of influenza. *Vaccine*. 2003, 21, 1796–1800.
16. Quigley E.: Influenza therapies: vaccines and antiviral drugs. *Drug Discovery Today*. 2006, 11, 478–480.
17. Townsend K.A., Eiland L.S.: Combating influenza with antiviral therapy in the pediatric population. *Pharmacotherapy*. 2006, 26, 95–103.
18. Dawson J.: Neuraminidase inhibitor and amantadine. *The Lancet*. 2000, 355, 2254.
19. Williams M., Lew W., Mendel D.B. i wsp.: Structure-activity relationships of carbocyclic influenza neuraminidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 1997, 7, 1837–1842.
20. Taylor G.: Sialidases: structures, biological significance and therapeutic potential. *Current Opinion in Structural Biology*. 1996, 6, 830–837.
21. Gubareva L., Kaiser L., Hayden F.G.: Influenza virus neuraminidase inhibitors. *The Lancet*. 2000, 355, 827–835.
22. Ruoff G.E.: Zanamivir for the management of influenza. *Current Therapeutic Research*. 2000, 61, 752–769.
23. Oxford J.: Oseltamivir in the management of influenza. *Expert Opinion Pharmacotherapy*. 2005, 6, 2493–2500.
24. Dreitlein W.B., Maratos J., Brocavich J.: Zanamivir and oseltamivir: two new options for the treatment and prevention of influenza. *Clinical Therapeutics*. 2001, 23, 327–355.
25. Zawilinska B.: Farmakoterapia wobec problemu narastającej oporności wśród drobnoustrojów. Problem leczenia zakażeń wirusowych. *Farmacja Polska*. 2004, 60, 420–430.