

Энисамия йодид – влияние на ключевые компоненты воспалительного процесса при ОРВИ

Е.Н. Карева^{1,2}, Т.А. Федотчева^{✉1}, А.В. Семейкин¹, Н.А. Кочина¹, Е.В. Красношок^{1,2}, Н.Л. Шимановский¹

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Цель. Обосновать перспективность применения противовирусного средства энисамия йодида (Нобазита) для регуляции ключевых воспалительных компонентов при острых респираторных инфекциях (ОРВИ), изучить роль циклооксигеназ (ЦОГ-1 и/или ЦОГ-2), транскрипционного ядерного фактора (NF-κB), трансформирующего ростового фактора (TGFβ), противовоспалительных цитокинов (интерлейкинов ИЛ-4, 10) и провоспалительных цитокинов ИЛ-1, 6, 8, фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) в реализации фармакологической активности этого препарата.

Материалы и методы. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени определяли экспрессию генов, методом иммуноферментного анализа – концентрацию ИЛ, спектрофотометрическим методом (МТТ-тест) оценивали жизнеспособность мононуклеарной фракции крови (МНФК). Оксидантную активность МНФК оценивали хемилюминесцентным методом.

Результаты. Энисамия йодида в концентрации 10 мкМ (соответствует рекомендованной терапевтической дозе при однократном приеме внутрь) снижал экспрессию генов, кодирующих ЦОГ-1, 2, NF-κB, TGFβ, ИЛ-1, 6, в стимулированных фитогемагглютинином МНФК здоровых доноров в среднем на 48% ($p \leq 0,05$). Повышение концентрации энисамия йодида до 50 мкМ не вызывало дальнейшего снижения экспрессии генов провоспалительных цитокинов. При этом энисамия йодид стимулировал секрецию мононуклеарами противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в среднем на 20–50%. Энисамия йодид во всем диапазоне исследуемых концентраций (10–100 мкМ) не снижал жизнеспособность макрофагов, но ингибировал их оксидантную активность (максимальное значение интенсивности хемилюминесценции) в среднем на 55% ($p \leq 0,05$).

Заключение. Противовоспалительное действие энисамия йодида может быть связано с ингибированием экспрессии генов, кодирующих ЦОГ-1, 2, NF-κB, ИЛ-1, 6, TGFβ, но увеличением экспрессии мРНК и продукции ИЛ-10. В противовоспалительную активность энисамия йодида дополнительный вклад вносит наличие у него антиоксидантной и антирадикальной активности. Отсутствие влияния энисамия йодида (10–100 мкМ) на жизнеспособность МНФК свидетельствует о его безопасности для клеток иммунной системы, целесообразности использования для подавления воспалительных реакций при острых респираторных вирусных инфекциях, восстановления качества жизни пациентов и возможности применения Нобазита в качестве эффективного средства в терапии острых респираторных вирусных инфекций различной этиологии.

Ключевые слова: энисамия йодид, ЦОГ-1, ЦОГ-2, NF-κB, ИЛ-10, МНФК, антиоксидантная активность, *in vitro*, полимеразная цепная реакция, иммуноферментный анализ

Для цитирования: Карева Е.Н., Федотчева Т.А., Семейкин А.В., Кочина Н.А., Красношок Е.В., Шимановский Н.Л. Энисамия йодид – влияние на ключевые компоненты воспалительного процесса при ОРВИ. Терапевтический архив. 2022;94(11):1262–1267. DOI: 10.26442/00403660.2022.11.201961

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Федотчева Татьяна Александровна** – д-р мед. наук, проф. каф. молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. П.В. Сергеева ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». Тел. +7(916)935-31-96; e-mail: tfedotcheva@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4998-9991

Карева Елена Николаевна – д-р мед. наук, проф., проф. каф. молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. П.В. Сергеева ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова»; проф. каф. фармакологии Института биодизайна и моделирования сложных систем Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». ORCID: 0000-0002-9441-3468

Семейкин Александр Владимирович – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. НИЛ молекулярной фармакологии ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». ORCID: 0000-0002-8978-7764

Кочина Наталия Андреевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. НИЛ молекулярной фармакологии ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». ORCID: 0000-0001-7748-0071

Красношок Екатерина Вадимовна – ст. лаб. каф. молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. П.В. Сергеева ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», ассистент каф. фармакологии Института биодизайна и моделирования сложных систем Научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». ORCID: 0000-0003-3538-1977

Шимановский Николай Львович – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, проф., зав. каф. молекулярной фармакологии и радиобиологии им. акад. П.В. Сергеева ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». ORCID: 0000-0001-8887-4420

✉ **Tatiana A. Fedotcheva.** E-mail: tfedotcheva@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4998-9991

Elena N. Kareva. ORCID: 0000-0002-9441-3468

Aleksandr V. Semeikin. ORCID: 0000-0002-8978-7764

Natalia A. Kochina. ORCID: 0000-0001-7748-0071

Ekaterina V. Krasnoshchok. ORCID: 0000-0003-3538-1977

Nikolai L. Shimanovskii. ORCID: 0000-0001-8887-4420

The mechanisms of anti-inflammatory action of enisamium iodide

Elena N. Kareva^{1,2}, Tatiana A. Fedotcheva^{✉1}, Aleksandr V. Semeikin¹, Natalia A. Kochina¹, Ekaterina V. Krasnoshchok^{1,2}, Nikolai L. Shimanovskii¹

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Aim. The role of cyclooxygenases (COX-1 and/or COX-2), transcription nuclear factor NF- κ B, anti-inflammatory cytokines – TGF1b, IL-4, IL-10 and pro-inflammatory cytokines IL-1, IL-6 were studied to substantiate the expediency of antiviral agent enisamium iodide (Nobazit) using to regulate key inflammatory components in acute respiratory infections, IL-8, TNF-alpha in the realization of the pharmacological activity of this drug.

Materials and methods. Gene expression was determined by real-time RT-PCR, the concentration of interleukins was determined by ELISA, and the viability of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was assessed by the MTT spectrophotometric method. The chemiluminescence method was used to assess PBMC oxidant activity.

Results. Enisamium iodide (10 μ M) reduced mRNA levels of COX-1, COX-2, NF- κ B, TGF1b, IL-1, IL-6 in stimulated PBMC of healthy donors by an average of 48% ($p \leq 0.05$). At 5 times higher concentration, 50 μ M, enisamium iodide suppressed the expression of these genes by an average of 43% ($p \leq 0.05$). At a concentration of 100 μ M, enisamium iodide reduced the expression of COX-2, TGF1b, IL-1, IL-6 by an average of 47% ($p \leq 0.05$). At a concentration of 10 μ M, enisamium iodide stimulated the secretion of IL-10 by mononuclear cells by 1.2 times, $p \leq 0.05$. The tested drug at a concentration of 50 μ M did not affect on the concentration of IL-1, IL-4, IL-8 and TNF-alpha, but significantly stimulated the production of IL-10 by 1.5 times, $p \leq 0.05$. The chemiluminescence method revealed that enisamium iodide in the entire concentration range (10–100 μ M) does not reduce the viability of macrophages, but inhibits their oxidative activity (maximum value of CL intensity) by an average of 55% ($p \leq 0.05$).

Conclusion. The anti-inflammatory effect of enisamium iodide at a concentration of 10 μ M may be associated with inhibition of the expression of COX-1, 2, NF- κ B, IL-1, IL-6, TGF1b and an increase in the expression and production of IL-10. An additional contribution to the anti-inflammatory activity of enisamium iodide is made by its antioxidant and antiradical activity. The absence of the effect of enisamium iodide (10–100 μ M) on the viability of PBMC indicates its safety for the cells of the immune system and the expediency of using it to suppress inflammatory reactions in acute respiratory infections, restore the quality of life of patients and the possibility of using Nobazit as an effective agent for treatment of these infections of various etiologies.

Keywords: enisamium iodide, COX-1, COX-2, IL-10, PBMC, antioxidant activity, in vitro, RT-PCR, ELIS

For citation: Kareva EN, Fedotcheva TA, Semeikin AV, Kochina NA, Krasnoshchok EV, Shimanovskii NL. The mechanisms of anti-inflammatory action of enisamium iodide. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.)*. 2022;94(11):1262–1267. DOI: 10.26442/00403660.2022.11.201961

Введение

Лечение острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) остается одной из актуальных проблем современной медицины. Особо опасные инфекции, такие как грипп и новая коронавирусная инфекция, на основании симптомов на начальных стадиях заболевания невозможно идентифицировать без лабораторного подтверждения. В связи с особенностями жизненного цикла вирусов начало терапии ОРВИ нельзя откладывать, при этом возможность провести лабораторный анализ есть не всегда, а в некоторых случаях это занимает несколько суток. В этой ситуации применение препаратов узкого спектра действия (например, осельтамивира – ингибитора нейраминидазы, противогриппозного средства) не будет эффективным против других респираторных вирусов. Кроме того, нельзя оставлять без фармакологической помощи пациентов, имеющих диагноз ОРВИ, не относящийся к гриппу или COVID-19, поскольку в этих условиях сохраняется опасность присоединения бактериальных осложнений, особенно у пациентов групп риска.

Терапию ОРВИ следует начинать сразу после появления первых симптомов заболевания препаратами широкого спектра противовирусной активности (интерферонами, умифеновиром, энисамия йодидом). Препараты интерферонов в период эпидемии эффективны для профилактики заболевания, но не всегда для его лечения. Так, сами вирусы гриппа являются мощными индукторами интерферонов, и поэтому терапевтический потенциал этих препаратов после заболевания гриппом резко снижен (по крайней мере в первые 2–3 дня заболевания). Широким спектром противовирусной активности обладают умифеновир и энисамия йодид. Однако для умифеновира нехарактерна противовоспалительная активность, которая крайне полезна при респираторных инфекциях. Энисамия йодид проявляет выраженную противовоспалительную активность, подтвержденную в клинической практике и в эксперименте, но точные молекулярные механизмы такого действия препарата до конца не изучены.

Энисамия йодид (N-метил-4-бензилкарбамидопиридиния йодид) – противовирусное средство, производное изоникотиновой кислоты (Нобазит, Россия), ингибирует репликацию широкого спектра респираторных вирусов человека [1], имеет зарегистрированные показания: лечение гриппа и других ОРВИ, в т.ч. в составе комплексной терапии [2].

В экспериментах *in vivo* установлено, что энисамия йодид не только обладает противовирусной активностью, но и оказывает противовоспалительный и жаропонижающий эффекты, сокращает длительность проявления клинических симптомов, улучшая тем самым качество жизни больных ОРВИ и ускоряя процесс выздоровления [3]. Энисамия йодид снижает уровень фактора некроза опухоли α (ФНО- α) в плазме крови и способствует увеличению количества Th-лимфоцитов 1-го типа, контролирующих специфические противовирусные реакции [4, 5]. Противовоспалительная эффективность энисамия йодида в форме назального спрея (10 мг/мл) также была показана в экспериментах *in vivo* на животных, на модели экспериментального риносинусита у кроликов. Гистоморфологическое исследование выявило значительное уменьшение признаков воспаления в эпителии носовых полостей и слизистой оболочки придаточных пазух носа кроликов в результате применения энисамия йодида [6]. Поэтому можно полагать, что препарат демонстрирует эффективность не только при системном применении, но и при местном, для которого не требуется образование метаболитов.

При изучении противовоспалительной активности энисамия йодида на экспериментальной модели воспаления, индуцированного зимозаном, был выявлен антиэкссудативный эффект исследуемого препарата, не уступающий по силе препарату сравнения ибупрофену [7].

При оценке противовоспалительной эффективности энисамия йодида на модели острого воспаления у крыс, вызванного введением 3% раствора λ -каррагинина под подошвенный апоневроз задней конечности, установлено, что применение препарата приводит к дозозависимому уменьшению отека и

снижению болевой чувствительности животных спустя 24 и 48 ч после индукции воспаления [8]. Препарат сравнения ибупрофен показал идентичные противовоспалительные эффекты с той разницей, что время их наступления было раньше, чем у энисамия йодида. В результате проведенного исследования обнаружено не только противовоспалительное, но и анальгетическое действие энисамия йодида. Разница в сроках проявления эффектов, вероятно, говорит о различных механизмах противовоспалительного и анальгетического действия энисамия йодида и ибупрофена.

Имеющиеся данные свидетельствуют о широком спектре противовоспалительных эффектов энисамия йодида, не уступающих по силе таковым классических нестероидных противовоспалительных средств, однако механизмы его противовоспалительного действия до конца не ясны. В частности, не выяснена роль энисамия йодида в регуляции уровня циклооксигеназ (ЦОГ-1 и/или ЦОГ-2), транскрипционного ядерного фактора (NF-κB), противовоспалительных цитокинов [трансформирующего ростового фактора (TGFβ), интерлейкинов (ИЛ)-4, ИЛ-10] и провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, 6, 8, ФНО-α), которые формируют интегральную воспалительную реакцию [9].

Для выяснения молекулярных механизмов противовоспалительного действия энисамия йодида необходимо изучить его прямое действие (в условиях *in vitro*) на экспрессию генов медиаторов и ингибиторов воспаления (ЦОГ-1, 2, NF-κB, TGFβ, ИЛ-1, 6, 10), оценить его влияние на продукцию мононуклеарными клетками периферической крови (МНФК) провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, 8, ФНО-α) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, 10), а также исследовать влияние энисамия йодида на оксидантную активность МНФК и их жизнеспособность. МНФК содержат моноциты – основные клетки моноцитарно-макрофагальной системы, включающие также макрофаги, дендритные клетки и их костномозговые клетки-предшественники [10].

Материалы и методы

Для проведения исследования производили забор цельной донорской крови (доноры – здоровые женщины, возраст 26–43 года), из которой впоследствии выделяли мононуклеарную фракцию по методу Воуш (1968 г.), основанному на седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фикола. Состав фракции в среднем: Т-лимфоциты – 52,8±3,5%, В-лимфоциты – 5,7±1,02%, моноциты – 8,1±0,8%, что находится в пределах референсных значений. Одним из наиболее информативных методов оценки показателей клеточного иммунитета является исследование функционального состояния лимфоцитов, которое определяют по пролиферативному ответу клеток на митогены или антигены. В данном исследовании использовали митоген фитогемагглютинин-П (ФГА, серия 88/4, ООО НПП «ПанЭКО»); 1 мг ФГА разводили в 1 мл среды DMEM (ООО НПП «ПанЭКО») + амфотерицин В (производитель ООО «Биохимик», Саранск, Россия) + гентамицин (ООО НПП «ПанЭКО»). Раствор (50 мкл) добавляли в пробы с МНФК и питательной средой (450 мкл среда DMEM + амфотерицин В + гентамицин + 50 мкл эмбриональной бычьей сыворотки) до общего объема 500 мкл для достижения конечной концентрации ФГА 0,1 мг/мл, инкубировали в течение 48 ч в термостате при 37,0°C с исследуемыми лекарственными веществами – энисамия йодидом (исследуемый препарат Нобазит, ОАО «Авексима», Россия, субстанция – порошок) в концентрациях 10, 50 и 100 мкМ и мелоксикамом (препарат сравнения, «Канонфарма», Россия) в концентрации 0,0015 мг/мл. Так как средняя суточная доза мелоксикама для человека составляет 7,5 мг, в экспери-

Таблица 1. Последовательность нуклеотидов в праймерах для определения экспрессии генов для ПЦР
Table 1. Sequence of nucleotides in primers to determine gene expression for PCR

| Ген | Up | Low |
|--------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <i>GAPDH</i> | gaa-ggt-gaa-ggt-cgg-agt | gaa-gat-ggt-gat-ggg-att-tcc |
| <i>ЦОГ-1</i> | cag-acg-acc-cgc-ctc-atc-ctc-ata-g | gcc-tca-acc-cca-tag-tcc-acc-aac-a |
| <i>ЦОГ-2</i> | tgg-gaa-gcc-ttc-tct-aac-ctc-tcc-t | ctt-tga-ctg-tgg-gag-gat-aca-tct-c |
| <i>NF-κB</i> | tac-tct-ggc-gca-gaa-att-agg-tc | ctg-tct-cgg-agc-tcg-tct-att-tg |
| <i>TGFβ</i> | tac-ctg-aac-ccg-tgt-tgc-tc | ggt-gct-gag-gta-tcg-cca-gg |
| <i>ИЛ-1</i> | aaa-cag-atg-aag-tgc-tcc-ttc-cag-g | tgg-aga-aca-cca-ctt-gtt-gct-cca |
| <i>ИЛ-6</i> | aac-ctg-aac-ctt-cca-aag-atg-g | tct-ggc-ttg-ttc-ctc-act-act |
| <i>ИЛ-10</i> | agg-gca-ccc-agg-ctg-aga-aca | cgg-cct-tgc-tct-tgt-ttt-cac |

ментах использовали конечную концентрацию 0,0015 мг/мл. В качестве контроля применяли МНФК, инкубированные с ФГА без лекарственных средств с добавлением питательной среды (среда DMEM + амфотерицин В + гентамицин + эмбриональная бычья сыворотка).

По окончании инкубации супернатант использовали для определения уровня цитокинов (иммуноферментным анализом), из клеток выделяли мРНК с помощью комплекта реагентов «РИБО-преп» (AmpliSens, Россия) согласно инструкции производителя. Далее проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ-1 (ООО «Синтол»). Исследование влияния энисамия йодида на уровень экспрессии генов *ЦОГ-1, 2, NF-κB, TGFβ, ИЛ-1, 6, 10* проводили с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Для постановки эксперимента использовали набор готовых реактивов для ПЦР «Реакционная смесь 2,5x для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I» на приборе iCycler iQ5 real-time PCR (BioRad, США). В качестве контрольного гена (гена домашнего хозяйства) использовали ген *Gapdh* (глицеральдегидфосфатдегидрогеназа). Последовательности праймеров представлены в **табл. 1**.

Для определения уровней экспрессии генов использовали величины $0,5^{-\Delta Ct}$, где пороговое число циклов (Ct) – число циклов ПЦР, при котором флуоресценция превышает пороговое значение (для выявления достоверных различий между группами данных), и $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [для выяснения кратности различий, где $\Delta Ct = Ct$ (искомого гена) – Ct (*GAPDH*) и $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ (образец) – ΔCt (контроль)].

Исследование влияния энисамия йодида на продукцию МНФК про- и противовоспалительных цитокинов проводили с помощью готовых наборов реагентов иммуноферментного анализа (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Измеряли величину оптической плотности растворов в лунках стрипов на спектрофотометре вертикального сканирования при длине волны 450 нм.

Исследование влияния энисамия йодида на оксидантную активность МНФК и их жизнеспособность производилось на хемилюминометре Lum-100 («ДиСофт», Россия) и с помощью спектрофотометрического метода (МТТ-теста). Данные анализировали в программе PowerGraph.

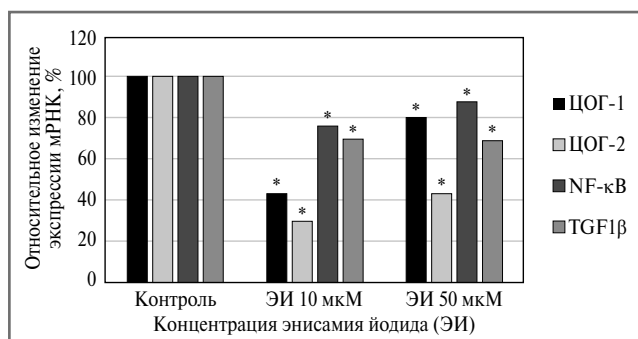


Рис. 1. Влияние энисамия йодида (10 и 50 мкМ) на экспрессию мРНК ЦОГ-1, 2, NF-κB, TGF1β в МНФК, стимулированных ФГА (инкубация 48 ч).

* Отличия от контроля достоверны при $p < 0,05$. Представлены данные 6 независимых экспериментов.

Fig. 1. The influence of the enzyme iodide (10 and 50 μM) on the expression of the mRNA of COX-1, 2, NF-κB, TGF1β in the mononucleic blood fraction stimulated by phytohemagglutinin (incubation 48 h).

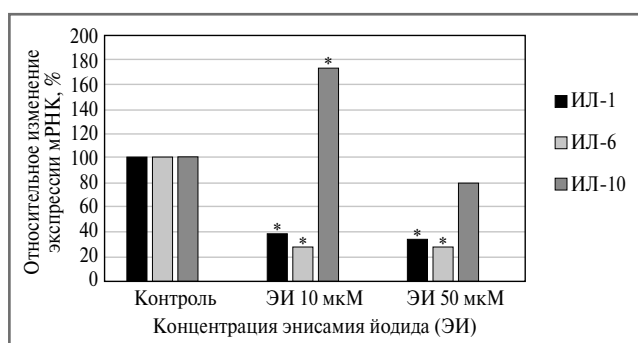


Рис. 2. Влияние энисамия йодида в концентрациях 10 и 50 мкМ на экспрессию мРНК ИЛ-1, 6, 10 в ФГА-стимулированных МНФК при инкубации в течение 48 ч.

* Отличия от контроля достоверны при $p < 0,05$. Представлены данные 6 независимых экспериментов.

Fig. 2. The influence of enisamium iodide in concentrations of 10 and 50 μM on the expression of mRNA IL-1, 6, 10 in phytohemagglutinin-stimulated mononucleic blood fractions, at incubation within 48 h.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 10.0. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Дальнейшую обработку проводили методами непараметрической статистики с применением U-критерия Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса (ANOVA). Различия между группами считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Первая задача данного исследования – оценка уровня мРНК генов ЦОГ-1, 2, NF-κB, TGF1β в МНФК после их инкубации с энисамия йодидом. Энисамия йодид в концентрации 10 мкМ (соответствует рекомендованной терапевтической дозе при однократном приеме внутрь) подавляет экспрессию мРНК ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в МНФК *in vitro*, что может приводить к снижению синтеза простагландинов и развитию противовоспалительного, анальгетического и жаропонижающего эффектов (рис. 1, 2).

Как видно из представленных данных (см. рис. 1), в МНФК, стимулированных ФГА, энисамия йодид снижает

экспрессию мРНК ЦОГ-1, 2, NF-κB, TGF1β в концентрации 10 мкМ (в среднем на 42, 67, 23 и 24%) и 50 мкМ (на 19, 57, 12 и 31%) соответственно.

Следующим этапом исследования было изучение влияния энисамия йодида на экспрессию ИЛ-1, 6, 10 в ФГА-стимулированных МНФК при инкубации 48 ч.

Как видно из данных рис. 2, экспрессия ИЛ-1 и ИЛ-6 подавляется при действии энисамия йодида. В концентрации 10 мкМ энисамия йодид подавляет экспрессию ИЛ-1 на 62%, 50 мкМ – на 67%. В концентрации 10 мкМ энисамия йодид подавляет экспрессию ИЛ-6 на 72%, 50 мкМ – на 73%. Экспрессия ИЛ-10 повышается в присутствии энисамия йодида в концентрации 10 мкМ на 73% ($p < 0,05$).

Имеются данные, что индометацин в концентрации 10 мкМ подавляет экспрессию ИЛ-6 в МНФК, обработанных липополисахаридом, на 83% [11], что соответствует выявленной нами степени ингибирования экспрессии медиаторов воспаления энисамия йодидом в аналогичной концентрации.

При оценке влияния энисамия йодида на продукцию МНФК провоспалительных цитокинов ИЛ-1, 8, ФНО-α и противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, 10 мы использовали препарат сравнения мелоксикам в концентрации 0,0015 мг/мл (42 мкМ), что соответствует суточной дозе для человека 7,5 или 15 мг внутримышечно, $C_{max} 1-3$ мкг/мл.

Было показано, что ни энисамия йодид во всех исследованных концентрациях, ни препарат сравнения мелоксикам статистически достоверно не влияли на концентрацию ИЛ-1, 8 и ФНО-α в инкубационной среде ФГА-стимулированных МНФК. Однако в концентрации 50 мкМ энисамия йодид достоверно повышает выработку ИЛ-10 в 1,5 раза (рис. 3).

Полученные данные демонстрируют, что ФГА вызывал повышение уровня ИЛ-10 почти в 10 раз (см. рис. 3). На фоне индукции ФГА мелоксикам в концентрации 0,0015 мг/мл вызывал достоверно значимое снижение уровня ИЛ-10 – в 4 раза. Энисамия йодид в концентрации 50 мкМ достоверно увеличил уровень ИЛ-10 – в 1,5 раза. Этот результат указывает на различное влияние мелоксикама и энисамия йодида на выработку ИЛ-10. Так как ИЛ-10 является доминантным противовоспалительным цитокином [12], увеличение его продукции сопровождается снижением избыточной воспалительной реакции, которая встречается при вирусных инфекциях.

Согласно полученным данным механизмы противовоспалительного действия энисамия йодида могут быть связаны с ингибированием экспрессии мРНК генов ИЛ-1, 6, TGF1β и увеличением экспрессии и продукции ИЛ-10.

ИЛ-10 является противовоспалительным цитокином, главные функции которого – ограничение и купирование воспалительного процесса [12]. ИЛ-10 угнетает клеточный иммунный ответ, ингибируя синтез Тh-лимфоцитов 1-го типа, провоспалительных цитокинов – ИЛ-1α, 1β, 6, 8, 12, ФНО-α, GM-CSF, подавляет эффекторные функции макрофагов, Т-клеток, нейтрофилов, синтез интерферона γ [12]. ИЛ-10 усиливает рост тучных клеток, В-клеточную пролиферацию и секрецию иммуноглобулинов [12]. На экспериментальных моделях ИЛ-10 показал антиинфицирующий эффект с периферическим механизмом действия, вероятно, через ингибирование высвобождения провоспалительных цитокинов ФНО-α и ИЛ-1β [13]. ИЛ-1β индуцирует острофазовые реакции – лихорадку, лейкоцитоз, продукцию и секрецию белков острой фазы, экспрессию интегринов, хемотаксис гранулоцитов [14]. Снижение экспрессии ИЛ-1 и увеличение экспрессии и продукции ИЛ-10 являются возможными механизмами противовоспалительных эффектов энисамия йодида, наблюдаемых *in vivo*.

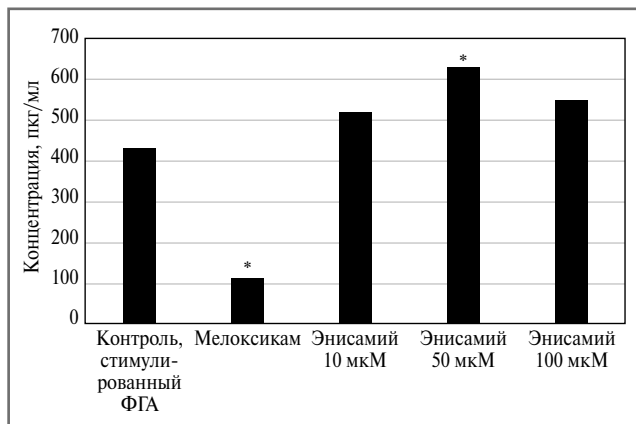


Рис. 3. Концентрация ИЛ-10 после инкубации стимулированных ФГА МНФК с энисамия йодидом 10, 50 и 100 мкМ и мелоксикамом в течение 72 ч.

* Отличия от контроля достоверны при $p < 0,05$. Представлены данные 3 экспериментов.

Fig. 3. Concentration of IL-10 after incubation of the phytohemagglutinin-stimulated mononucleic blood fraction, with enisma of iodide 10, 50 and 100 μM and meloxicam for 72 h.

В качестве дополнительного критерия противовоспалительного действия лекарственных средств используют оценку функциональной активности макрофагов – их окислительный потенциал, который можно определить по интенсивности стимулированной люминол-зависимой хемилюминесценции (СЛХЛ) в МНФК. Активированная хемилюминесценция позволяет оценить антиоксидантную, противовоспалительную и противоаллергическую активность лекарственных препаратов [15]. Определяли влияние энисамия йодида (10, 50 и 100 мкМ) и препарата сравнения мелоксикама (0,0015 мг/мл) на интенсивность СЛХЛ МНФК. Показано, что энисамия йодид ингибирует их окислительную активность в изученном диапазоне концентраций (рис. 4).

Полученные данные свидетельствуют о выраженном подавлении интенсивности СЛХЛ МНФК в присутствии энисамия йодида в концентрации 100 мкМ (рис. 4). Препарат сравнения мелоксикам в концентрации 0,0015 мг/мл практически не влиял на СЛХЛ МНФК. В присутствии 0,015 мг/мл максимальная амплитуда СЛХЛ составила 58% контрольной, а в присутствии 0,15 мг/мл мелоксикама – 1% контрольной.

Результаты оценки СЛХЛ позволяют сделать вывод о подавлении окислительных реакций в МНФК в присутствии энисамия йодида в зависимости от его концентрации, а также о наличии у препарата антиоксидантной и противовоспалительной активности. При этом важно было изучить, влияет ли энисамия йодид на жизнеспособность МНФК, чтобы определить, насколько специфичен его иммуномодулирующий эффект. На рис. 5 представлены данные о влиянии энисамия йодида на жизнеспособность МНФК, где оптическая плотность лунок характеризует жизнеспособность клеток.

Представленный график демонстрирует, что статистически значимого влияния энисамия йодида в концентрациях, соответствующих рекомендованной терапевтической дозе при однократном приеме внутрь и превышающих ее, на жизнеспособность МНФК не оказывает. Это свидетельствует об отсутствии цитотоксического влияния энисамия йодида на МНФК и их способность принимать активное участие в защитных реакциях иммунной системы при действии патогена.

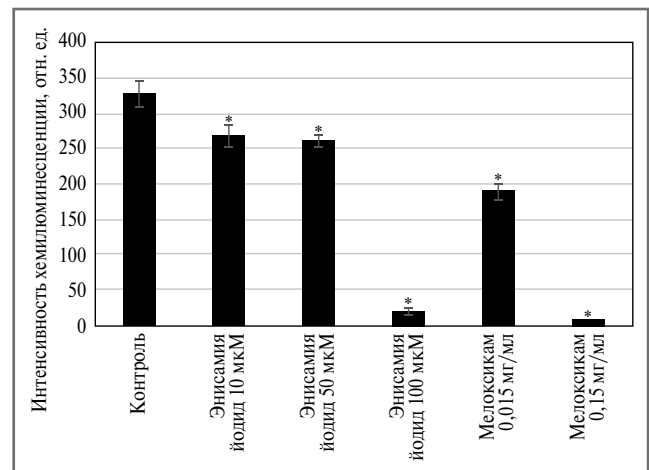


Рис. 4. Максимальные амплитуды интенсивности СЛХЛ МНФК при добавлении энисамия йодида и мелоксикама.

* Отличия от контроля достоверны при $p < 0,05$. Представлены данные 3 экспериментов.

Fig. 4. The maximum amplitude of the intensity of the stimulated luminol-dependent chemiluminescence of the mononucleic blood fraction when the iodide enismaium and meloxicam are added.

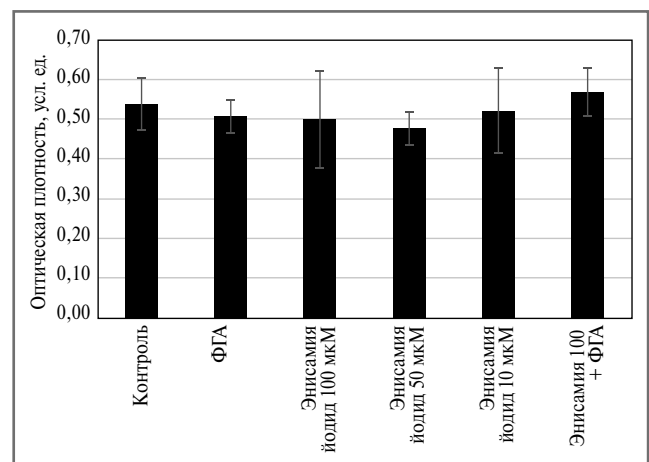


Рис. 5. Жизнеспособность МНФК ($7,5 \times 10^6$ клеток/мл), инкубированных с ФГА (0,1 мг/мл), энисамия йодидом (10, 50 и 100 мкМ) в течение 48 ч. Представлены значения 3 независимых экспериментов, в 1 эксперименте – на экспериментальные лунки по 4 повтора, на контрольные – 12 повторов.

Fig. 5. Viability of mononucleic blood fraction ($7,5 \times 10^6$ cells/ml), incubated with phytohemagglutinin (0.1 mg/ml), enigmaia iodide (10, 50 and 100 μM) for 48 hours. Values of 3 independent experiments are presented, 1 experiment – for experimental moons of 4 repeats, for control – 12 reps.

Закключение

Механизмы противовоспалительного действия энисамия йодида в концентрации 10 мкМ (соответствует рекомендованной терапевтической дозе при однократном приеме внутрь) связаны с ингибированием экспрессии противовоспалительных генов (ЦОГ-1, 2, *NF- κ B*, *TGF β* , *ИЛ-1*, б) в среднем на 48% ($p < 0,05$) и увеличением экспрессии и продукции противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в 1,5 раза ($p < 0,05$) в МНФК.

Энисамия йодид обладает значительной антиоксидантной и противовоспалительной активностью. Энисамия йодид (10–100 мкМ) не снижает жизнеспособность МНФК, но ингибирует их оксидантную активность концентрационнозависимым способом ($p \leq 0,05$).

Энисамия йодид является одним из перспективных препаратов этиотропной и патогенетической терапии ОРВИ, которые всегда протекают с воспалительным компонентом. Для оптимизации применения в клинической практике с учетом индивидуальных особенностей иммунного статуса пациента требуется проведение дополнительных исследований его активности на молекулярном уровне в клинических условиях.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все

авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Список сокращений

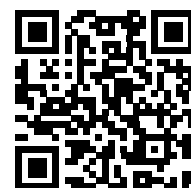
ИЛ – интерлейкин
МНФК – мононуклеарная фракция крови
ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция
ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени
СЛХЛ – стимулированная люминол-зависимая хемилюминесценция
ФГА – фитогемагглютинин

ФНО- α – фактор некроза опухоли α
ЦОГ – циклооксигеназа
GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
NF- κ B – транскрипционный ядерный фактор
TGF β 1 – трансформирующий ростовой фактор 1 β

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Zarubaev V.V., Slita A.V., Sinegubova E.O., et al. Противовирусная активность энисамия йодида в отношении вирусов гриппа и ОРВИ in vitro на различных клеточных линиях. *Терапевтический архив*. 2020;92(11):45-50 [Zarubaev VV, Slita AV, Sinegubova EO, et al. Anti-viral activity of enisamium iodide against viruses of influenza and ARVIs on different cell lines. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter Arkh.)*. 2020;92(11):45-50 (in Russian)]. DOI:10.26442/00403660.2020.11.000872
- Государственный реестр лекарственных средств [Gosudarstvennyi reestr lekarstvennykh sredstv (in Russian)]. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/> Ссылка активна на 10.11.2022.
- Паевская О.А., Зуевская С.Н., Никифоров В.В., и др. Возможности этиотропной терапии в снижении рисков развития тяжелого или осложненного течения ОРВИ и гриппа. *РМЖ*. 2019;1(II):77-80 [Paevskaya OA, Zuevskaya SN, Nikiforov VV, et al. Etiotropic therapy possibilities for risk reduction during severe or complicated ARVI and influenza courses. *RMJ*. 2019;1(II):77-80 (in Russian)]
- Пшеничная Н.Ю., Булгакова В.А., Волчкова Е.В., и др. Обзор текущих и перспективных направлений противовирусной терапии гриппа и острых респираторных вирусных инфекций в России. *Терапевтический архив*. 2019;91(11):105-9 [Pshenichnaya NY, Bulgakova VA, Volchkova EV, et al. Review of current and future directions of antiviral therapy of influenza and acute respiratory viral infections in Russia. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter Arkh.)*. 2019;91(11):105-9 (in Russian)]. DOI:10.26442/00403660.2019.11.000454
- Фролов А.Ф., Фролов В.М., Бухтиярова Т.А., Даниленко В.Ф. Клинические аспекты применения Амизона. *Украинский медицинский журнал*. 2004;39(1):69-74 [Frolov AF, Frolov VM, Buhtiarova TA, Danilenko VF. Clinical aspects of Amizon application. *Ukrainskij medicinskij zhurnal*. 2004;39(1):69-74 (in Russian)].
- Zupanets I, Zhulai T, Shebeko S, et al. Histomorphological Study of a New Nasal Spray with Anti-inflammatory Properties Efficacy in Rabbits with Rhinosinusitis. *Med Arch*. 2020;74(1):8. DOI:10.5455/medarch.2020.74.8-13
- Zhulai TS. The preclinical study of a new nasal spray with the anti-inflammatory properties: the effect on the leukotriene-induced inflammation. *Klinična Farm*. 2018;22(4):27-33. DOI:10.24959/cphj.18.1473
- Зырянов С.К., Бутранова О.И., Гайдай Д.С., Крышень К.Л. Фармакотерапия острых респираторных инфекций, вызванных вирусами гриппа. *Терапевтический архив*. 2021;93(1):114-24 [Zyryanov SK, Butranova OI, Gaidai DS, Kryshen KL. Pharmacotherapy for acute respiratory infections caused by influenza viruses: current possibilities. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter Arkh.)*. 2021;93(1):114-24 (in Russian)]. DOI:10.26442/00403660.2021.01.200551
- Ming O Li, Yisong Y Wan, Shomyseh Sanjabi, et al. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:99-146. DOI:10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737
- Калашникова А.А., Ворошилова Т.М., Чиненова Л.В., и др. Субпопуляции моноцитов у здоровых лиц и у пациентов с сепсисом. *Медицинская иммунология*. 2018;6(20):815-24 [Kalashnikova AA, Voroshilova TM, Chinenova LV, et al. Monocyte subsets in healthy adults and sepsis patients. *Medical Immunology*. 2018;6(20):815-24 (in Russian)]. DOI:10.15789/1563-0625-2018-6-815-824
- Mohsin S, Kurup GM, Mahadevan R. Effect of ascophyllan from brown algae *Padina tetrastrum* on inflammation and oxidative stress in carrageenan-induced rats. *Inflammation*. 2013;36(6):1268-78. DOI:10.1007/s10753-013-9665-4
- Asadullah K, Sterry W, Volk H D. Interleukin-10 therapy – review of a new approach. *Pharmacol Rev*. 2003;55(2):241-69. DOI:10.1124/pr.55.2.4
- Vale ML, Marques JB, Moreira CA, et al. Antinociceptive effects of interleukin-4, -10, and -13 on the writhing response in mice and zymosan-induced knee joint incapacitation in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;304(1):102-8. DOI:10.1124/jpet.102.038703
- Абатуров А.Е., Волосовец А.П., Юлиш Е.И. Участие интерлейкинового семейства 1 в развитии воспалительной реакции при инфекционном процессе. *Здоровье ребенка*. 2014;3(54):154-9 [Abaturov AYe, Volosovets AP, Yulish YeI. The participation of interleukin 1 family in the development of the inflammatory response in infectious process. *Zdorov'e rebenka*. 2014;3(54):154-9 (in Russian)].
- Винник Ю.С., Савченко А.А., Перьянова О.В., и др. Клинические аспекты применения хемилюминесцентного анализа: научное издание. *Сибирское медицинское обозрение*. 2006;3:11-5 [Vinnik YuS, Savchenko AA, Per'yanova OV, et al. The clinical aspects of chemiluminescent analysis USE. *Siberian Medical Review*. 2006;3:11-5 (in Russian)].

Статья поступила в редакцию / The article received: 11.10.2022



OMNIDOCTOR.RU