

К ВОПРОСУ О ПРИМЕНЕНИИ ИНТЕРФЕРОНОВ I ТИПА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ COVID-19

Мелехина Е.В.¹, Николаева С.В.¹, Усенко Д.В.¹, Понежева Ж.Б.¹,
Музыка А.Д.¹, Хлыповка Ю.Н.¹, Шабалина С.В.¹, Горелов А.В.^{1,2}

¹ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

²Первый Московский Медицинский Университет им. И.М.Сеченова
(Сеченовский Университет)

Резюме.

Инфекция COVID-19 (CoronaVirus Disease — коронавирусная болезнь-2019), вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2 — тяжелый острый респираторный синдром), в настоящее время стала одной из самых значительных угроз общественному здоровью. Отличительной особенностью коронавирусов является их способность подавлять выработку ИФН I типа. Перспективным в раннем лечении и профилактике COVID-19 могут быть препараты ИФН I типа. На сегодняшний день поиск этиотропного препарата для лечения COVID-19 продолжается.

Ключевые слова: коронавирус, иммунная система, интерфероны, COVID-19, SARS-CoV-2.

Инфекция COVID-19 (CoronaVirus Disease — коронавирусная болезнь-2019), вызванная новым коронавирусом SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2 — тяжелый острый респираторный синдром), в настоящее время стала одной из самых значительных угроз общественному здоровью. На сегодняшний день поиск этиотропного препарата для лечения COVID-19 продолжается.

Одну из ключевых ролей при вирусной инфекции играют интерфероны (ИФН). Известно 3 типа ИФН: I тип (ИФН-α, ИФН-β, ИФН-ω, ИФН-ε, ИФН-

к), II тип (ИФН- γ) и III тип (ИФН- λ – интерлейкин (ИЛ) 29, ИЛ-28А, ИЛ-28В). ИФН I и III типов – участвуют во врожденной противовирусной защите, ИФН II типа ответственны за иммунорегуляцию. ИФН I типа продуцируется различными типами клеток, прежде всего, плазмоцитоидными дендритными клетками, при распознавании вирусных компонентов рецепторами распознавания образов (PPO). Таким образом, ИФН I типа являются одними из первых цитокинов, синтезируемых во время вирусной инфекции. Цитокины распознаются рецептором ИФНАР, присутствующим на плазматической мембране в большинстве типов клеток. Фиксация ИФН на ИФНАР стимулирует фосфорилирование транскрипционных факторов, таких как STAT1, и их перемещение в ядро, где они активируют гены, индуцированные интерфероном (ГИИ). Большинство ГИИ принимают участие в воспалении, передаче сигналов и иммуномодуляции, препятствуют репликации вируса и распространяются с помощью нескольких механизмов, таких как замедление клеточного метаболизма или секреции цитокинов, которые способствуют активации адаптивного иммунитета. ГИИ включают PPO, которые дополнительно повышают чувствительность клетки к патогенам, а также белки, которые снижают текучесть мембран и предотвращают выход вируса или слияние мембран. Таким образом, ИФН I типа играют важную роль в противовирусном иммунитете. ИФН- γ (II типа) продуцируются под действием чужеродных антигенов Т-лимфоцитами и натуральными киллерами. Основное их действие – блокировка депротеинизации вирусов и активация иммунокомпетентных клеток. ИФН- λ (III типа) синтезируются, преимущественно, эпителиоцитами, связываются с рецептором ИФН III типа (ИФНАР), преимущественно экспрессируемым на эпителиальных клетках и некоторых миелоидных клетках, а их функции, в целом, идентичны таковым ИФН-I, но для них характерна тканеспецифичность и снижение продукции антител. ИФН I и III типов устанавливают клеточное состояние вирусной

резистентности, а также активируют адаптивные иммунные реакции к вирусам.

Врожденная иммунная система распознает атакующие организм патогены, воспринимая их патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП) с помощью рецепторов распознавания образов (PPO). Вирусные ПАМП представляют собой молекулярные сигнатуры, не обнаруженные в клетках человека: уникальные структуры нуклеиновых кислот вирусного генома или промежуточные продукты репликации вирусов. Распознавание РНК-вируса происходит, главным образом, в эндосомальном или цитозольном пространстве двумя различными классами PPO, Toll-подобными рецепторами (ТПР) и RIG-I-подобными рецепторами (РПР).

При «зондировании» коронавирусов различными рецепторами распознавания патогенов ТПР (ТПР3, ТПР4, ТПР7, ТПР8) и РПР (РПР-I) стимулируется выработка провоспалительных цитокинов и ИФН I и III типов. Вирусные белки, кодируемые коронавирусами (SARS-CoV, MERS-CoV, сезонными коронавирусами человека), противодействуют различным стадиям этого противовирусного ответа.

Роль различных РПР в коронавирусной инфекции была в значительной степени выяснена генетическими исследованиями, которые выявили повышенную восприимчивость к инфекции в отсутствие специфических РПР и их сигнальных путей. Поскольку коронавирусы реплицируются в цитоплазме, их промежуточные продукты репликации и реплицированные вирусные геномы могут быть распознаны цитозольными датчиками РНК, РПР-I. Вероятно, что SARS-CoV-2 также воспринимается этими PPO. РНК-сенсоры ТПР расположены в эндосомальной мембране и играют решающую роль в распознавании коронавирусов, включая SARS-CoV, MERS-CoV и сезонные коронавирусы, и необходимы для продукции ИФН- α плазмацитоидными дендритными клетками.

Врожденные механизмы вирусного распознавания запускают сигнальный каскад, ведущий к фактор-NF- κ B-опосредованной индукции

провоспалительных цитокинов (например, Ил-1, ИЛ-6, ФНО- α) и IRF3 и IRF7-опосредованной индукции ИФН I. Транскриптомное профилирование различных типов клеток показало, что инфекция SARS-CoV-2 вызывает очень низкую выработку ИФН-I, индуцируя при этом гены хемокина и провоспалительных цитокинов. В дополнение к вирусному подавлению ответа ИФН на профили цитокинов влияет возраст хозяина. У пожилых макак инфекция SARS-CoV вызывала большее поражение легочной ткани и более высокую экспрессию провоспалительных цитокинов, но более низкую экспрессию ИФН I типа, по сравнению с молодыми макаками (Smits et al., 2010). Вероятно, дисбаланс между провоспалительным и ИФН-ответом при старении может иметь важные последствия для патогенеза заболевания COVID-19.

ИФН I типа индуцируют сотни противовирусных эффекторов для достижения вирусной резистентности клеток. Несмотря на эту мощную противовирусную защиту, коронавирусы остаются высоко патогенными – из-за различных вирусных механизмов уклонения и подавления ответа ИФН. Показано, что более устойчивый ответ ИФН I типа индуцируется при легкой инфекции, вызванной сезонным коронавирусом HCoV-229E, по сравнению с инфекциями, вызванными SARS-CoV и MERS-CoV [1]. Коронавирусы могут вмешиваться в любой из процессов врожденного противовирусного иммунитета [2]. Известно, что коронавирусы кодируют вирусные белки, предназначенные для уклонения от врожденного распознавания РРО; ингибируют продукцию ИФН I типа; вирусные белки блокируют сигнализацию ИФНАР; коронавирусы могут непосредственно подавлять эффекторные функции ISG.

Экзогенный ИФН может быть достаточным для преодоления подавления ответа ИФН коронавирусами. Большинство белков SARS-CoV и SARS-CoV-2 имеют более 90% аминокислотной идентичности, но ряд белков (nsp3, ORF3b, ORF6) имеют относительно низкую гомологию последовательностей [3]. Так, ORF3b SARS-CoV-2 содержит

преждевременный стоп-кодон, который приводит к усеченному белку; белку ORF6b, в дополнение к тому, что он имеет только 69% гомологии с белком SARS-CoV, не хватает двух аминокислот на С-терминале (Frieman et al., 2007). Именно низкой гомологией отдельных белков можно объяснить повышенную восприимчивость SARS-CoV-2 к ИФН [3]. И наоборот, усеченный ORF3b SARS-CoV-2 подавляет индукцию ИФН более эффективно, чем SARS-CoV, что может способствовать сниженной продукции ИФН, которая встречается у пациентов с COVID-19 [4].

Клинические исследования показали отсутствие выработки ИФН у пациентов с атипичной пневмонией, вызванной SARS-CoV, несмотря на надежную продукцию цитокинов и хемокинов, что согласуется с наблюдениями *in vitro*, в соответствии с которыми SARS-CoV не индуцирует значительную продукцию ИФН I типа [5]. Анализ сыворотки крови пациентов с COVID-19 показал аналогичную динамику: провоспалительные цитокины и хемокины были сильно повышены без повышения уровней ИФН I типа [6]. Другие исследования предполагают, что ответ на ИФН может быть запаздывающим, а не полным его отсутствием. Сравнение транскриптома клеток, инфицированных SARS-CoV, в различных временных точках показало, что экспрессия ИФН отстает от экспрессии провоспалительных цитокинов [7, 8]. У мышей при инфекции, вызванной SARS-CoV, ИФН I типа обнаруживался в легких только через несколько часов после пика вирусной нагрузки [9].

Исследования динамики выработки ИФН у больных COVID-19 активно проводятся в настоящее время, демонстрируя достаточно парадоксальные результаты. В работе J. Hadjadj (2020) было установлено, что у больных тяжелой формой COVID-19 уровень ИФН- $\alpha 2$ в плазме крови был значительно ниже, чем у пациентов с легкой и средней степенью тяжести и коррелировали с уровнем интерферон-индуцированных белков [26]. Этот результат контрастировал с повышенным уровнем мРНК ИФН- $\alpha 2$ у большинства пациентов с тяжелыми состояниями, что еще раз доказывает

значимость механизмов ингибирования синтеза ИФН1 типа непосредственно активностью вирусных систем. Важным вопросом остается ранний интерфероновый ответ на внедрение SARS-COV-2, и связь характера течения и исходов COVID-19 с уровнем продукции ИФН1 типа в раннем периоде заболевания. Интересно, что анализ у пациентов, у которых было доступно несколько временных точек, показал четкие закономерности продукции IFN- α с устойчиво высоким ответом у пациентов от легкой до умеренной степени, высоким, но коротким ответом у тяжелых пациентов и низким или без ответа у пациентов продемонстрировавших ухудшение состояния на второй неделе болезни и полным отсутствием продукции ИФН- β . Кроме того, низкие уровни ИФН- α 2 в плазме были в значительной степени связаны с повышенным риском перехода в критическое состояние (ОШ 12, 95% ДИ 1,21-118, $P=0,03$). На основании полученных результатов авторы выдвинули предположение о потенциальной эффективности применения препаратов ИФН α/β , позволяющее компенсировать дефицит продукции в периоде критических состояний, и противовоспалительной терапии препаратами блокирующими IL-6 или TNF- α .

В ранее проведенных исследованиях демонстрировались другие результаты и закономерности. В частности, у пациентов с атипичной пневмонией, вызванной SARS-COV, высокие уровни ИФН- α и ISGs коррелировали с тяжестью заболевания [10]. У пациентов, у которых развилась тяжелая гипоксемия, высокие уровни ИФН-индуцированных хемокинов и ИФНАР1 сохранялись даже после разрешения острого заболевания. Уровни ИФН- α были чаще повышены в группе пациентов с тяжелой формой ближневосточного респираторного синдрома, чем в группе с легкой формой, и коррелировали с количеством вирусных копий РНК [11]. В небольшой когорте пациентов COVID-19 уровни ИФН- α и ISGs были связаны с вирусной нагрузкой, а также тяжестью заболевания [12]. Эти исследования показывают, что тяжелые инфекции приводят к высоким значениям ИФН, но не снижают вирусную нагрузку.

Использование рекомбинантного ИФН- α или ИФН- β в качестве лечения атипичной пневмонии, ближневосточного респираторного синдрома, а теперь и COVID-19 в настоящее время является предметом дискуссий. ИФН I типа рассматривался как перспективный кандидат для лечения атипичной пневмонии и ближневосточного респираторного синдрома на основе исследований *in vitro* и *in vivo* [13]. У мартышек лечение инфицированных животных ИФН- β 1b снижало вирусную нагрузку и патологию легких [14]. У мышей лечение ИФН- β в комбинации с лопинавир-ритонавиром инфекции, вызванной MERS-CoV, хотя и не приводило к значительному снижению легочной патологии, тем не менее улучшало легочную функцию [15]. Введение ИФН- α 2b с рибавирином инфицированным MERS-CoV макакам приводило к улучшению клинических исходов [16]. Исследования инфекции SARS-CoV на животных показали аналогичную эффективность. Профилактическое назначение макакам ИФН- α до начала инфекции SARS-CoV значительно снижало репликацию вируса и повреждение ткани легких [17].

Вместе с тем клинические исследования, проведенные у пациентов с атипичной пневмонией и ближневосточным респираторным синдромом, были не столь убедительными. В исследовании небольшого числа пациентов с атипичной пневмонией добавление ИФН- α к кортикостероидам было связано с лучшим насыщением кислородом и более быстрым разрешением рентгенологических аномалий легких. У пациентов с ближневосточным респираторным синдромом при назначении комбинации ИФН- α и рибавирина отмечали улучшение выживаемости через 14 дней, но не через 28 дней после постановки диагноза [18]. При позднем начале лечения (медиана 19 дней от момента поступления на терапию) комбинированная терапия не была эффективной. В другом ретроспективном когортном исследовании комбинация ИФН+рибавирин достоверно не влияла на уменьшение смертности через 28 дней [19]. Более того, было высказано предположение,

что сопутствующие заболевания, такие как диабет, могут влиять на выработку ИФН [20].

Что касается COVID-19, то *in vitro* показано, что SARS-CoV-2 обладает большей чувствительностью к ИФН I типа по сравнению с SARS-CoV [21, 22]. В этих исследованиях назначение ИФН- α или ИФН- β резко снижало титры коронавируса. Эти данные свидетельствуют о том, что ИФН I типа может быть эффективным профилактическим средством или ранним вариантом лечения COVID-19. В Китае для лечения COVID-19 используют ингаляционные ИФН- α в сочетании с рибавирином [23]. В ретроспективном исследовании у 77 пациентов COVID-19 в Ухане, Китай, получавших через небулайзер ИФН-a2b, перорально Арбидол или комбинацию этих двух препаратов, терапия ИФН-a2b значительно уменьшала продолжительность обнаружения вирусных и воспалительных маркеров, IL-6 и С-реактивного белка [24]. Другое исследование показало, что интранальные капли рекомбинантного ИФН- α могут предотвратить возникновение COVID-19 без побочных эффектов – заболевших среди 2944 медицинских работников, получавших ежедневное лечение ИФН- α в течение 28 дней, не было [25]. Дополнительные результаты текущих клинических исследований, а также разработка моделей на животных, дадут более ответ на вопрос о безопасности и эффективности ИФН I типа в качестве терапии в COVID-19.

Заключение

Понимание кинетики выработки ИФН I типа у пациентов с легкими, среднетяжелыми и тяжелыми формами COVID-19 в ответ на репликацию коронавируса в организме человека позволит выделить четкие показания к назначению ИФН. Раннее их введение (в первые часы от начала болезни, а также в качестве профилактического лечения) может обеспечить максимальную защиту без риска развития тяжелой патологии.

Литература.

1. Lim, Y.X., Ng, Y.L., Tam, J.P., and Liu, D.X. Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases* 2016: 4, 26.
2. C. Qin, L. Zhou, Z. Hu, S. Zhang, S. Yang, Y. Tao, C. Xie, K. Ma, K. Shang, W. Wang, D.-S. Tian Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China *Clin. Infect. Dis.* (2020), 10.1093/cid/ciaa248.
3. Lokugamage, K.G., Hage, A., Schindewolf, C., Rajsbaum, R., and Menachery, V.D. (2020). SARS-CoV-2 is sensitive to type I interferon pretreatment. *bioRxiv*, 2020.03.07.982264.
4. Konno, Y., Kimura, I., Uriu, K., Fukushi, M., Irie, T., Koyanagi, Y., Nakagawa, S., and Sato, K. (2020). SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is further increased by a naturally occurring elongation variant. *bioRxiv*, 2020.05.11.088179.
5. Chen, J., and Subbarao, K. The Immunobiology of SARS. *Annu. Rev. Immunol.* 2007: 25, 443–472.
6. Blanco-Melo, D., Nilsson-Payant, B.E., Liu, W.-C., Uhl, S., Hoagland, D., Møller, R., Jordan, T.X., Oishi, K., Panis, M., Sachs, D., et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. 2020. *Cell*. S0092-8674(20)30489-X. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>.
7. V.D. Menachery, B.L. Yount, L. Josset, L.E. Gralinski, T. Scobey, S. Agnihothram, M.G. Katze, R.S. Baric Attenuation and Restoration of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Mutant Lacking 2'-O-Methyltransferase Activity *J. Virol.*, 88 (2014), 4251-4264, 10.1128/jvi.03571-13
8. T. Yoshikawa, T.E. Hill, N. Yoshikawa, V.L. Popov, C.L. Galindo, H.R. Garner, C.J. Peters, C. Te Tseng Dynamic innate immune responses of human bronchial epithelial cells to severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection *PLoS One*, 5 2010, 10.1371/journal.pone.0008729.

9. Channappanavar, R., Fehr, A.R., Vijay, R., Mack, M., Zhao, J., Meyerholz, D.K., and Perlman, S. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoVInfected Mice. *Cell Host Microbe* 2016: 19, 181–193.
10. Cameron, M.J., Ran, L., Xu, L., Danesh, A., Bermejo-Martin, J.F., Cameron, C.M., Muller, M.P., Gold, W.L., Richardson, S.E., Poutanen, S.M., et al.; Canadian SARS Research Network. Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. *J. Virol.* 2007: 81, 8692–8706.
11. Eu Suk Kim, Pyoeng Gyun Choe, Wan Beom Park, Hong Sang Oh, Eun Jung Kim, Eun Young Nam, Sun Hee Na, Moonsuk Kim. Clinical Progression and Cytokine Profiles of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection *J Korean Med Sci.* 2016 Nov;31(11):1717-1725. English. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.11.1717>.
12. Wei, L., Ming, S., Zou, B., Wu, Y., Hong, Z., Li, Z., Zheng, X., Huang, M., Luo, L., Liang, J., et al. (2020). Viral Invasion and Type I Interferon Response Characterize the Immunophenotypes during COVID-19 Infection (SSRN Journal).
13. Stockman, L.J., Bellamy, R., and Garner, P. SARS: systematic review of treatment effects. *PLoS Med.* 2006: 3, e343.
14. Chan, J.F.-W., Yao, Y., Yeung, M.-L., Deng, W., Bao, L., Jia, L., Li, F., Xiao, C., Gao, H., Yu, P., et al. Treatment With Lopinavir/Ritonavir or Interferonb1b Improves Outcome of MERS-CoV Infection in a Nonhuman Primate Model of Common Marmoset. *J. Infect. Dis.* 2015: 212, 1904–1913.
15. Sheahan, T.P., Sims, A.C., Leist, S.R., Schafer, A., Won, J., Brown, A.J., Montgomery, S.A., Hogg, A., Babusis, D., Clarke, M.O., et al. Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination

- lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat. Commun.* 2020: 11, <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13940-6>.
16. Darryl Falzarano, Emmie de Wit, Angela L Rasmussen, Friederike Feldmann, Atsushi Okumura, Dana P Scott, Doug Brining, Trenton Bushmaker, Cynthia Martellaro, Laura Baseler, Arndt G Benecke, Michael G Katze, Vincent J Munster & Heinz Feldmann. Treatment with interferon- α 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques *Nature Medicine* 2013: 19, 1313–1317.
 17. Haagmans, B.L., Kuiken, T., Martina, B.E., Fouchier, R.A.M., Rimmelzwaan, G.F., van Amerongen, G., van Riel, D., de Jong, T., Itamura, S., Chan, K.-H., et al. Pegylated interferon-alpha protects type 1 pneumocytes against SARS coronavirus infection in macaques. *Nat. Med.* 2004: 10, 290–293.
 18. Omrani, A.S., Saad, M.M., Baig, K., Bahloul, A., Abdul-Matin, M., Alaidaroos, A.Y., Almakhlafi, G.A., Albarrak, M.M., Memish, Z.A., and Albarrak, A.M. Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2014: 14, 1090–1095.
 19. Arabi, Y.M., Shalhoub, S., Omari, Al., et al. Effect of Ribavirin and Interferon on the Outcome of Critically Ill patients with MERS. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017: 195, A6067.
 20. Shalhoub, S., Farahat, F., Al-Jiffri, A., Simhairi, R., Shamma, O., Siddiqi, N., and Mushtaq, A. IFN- α 2a or IFN- β 1a in combination with ribavirin to treat Middle East respiratory syndrome coronavirus pneumonia: a retrospective study. *J. Antimicrob. Chemother.* 2015: 70, 2129–2132.
 21. Lokugamage, K.G., Hage, A., Schindewolf, C., Rajsbaum, R., and Menachery, V.D. SARS-CoV-2 is sensitive to type I interferon pretreatment. *bioRxiv*, 2020.03.07.982264.

22. Mantlo, E., Bukreyeva, N., Maruyama, J., Paessler, S., and Huang, C. Antiviral activities of type I interferons to SARS-CoV-2 infection. *Antiviral Res.* 2020: 179, 104811.
23. Sallard, E., Lescure, F.-X., Yazdanpanah, Y., Mentre, F., and Peiffer-Smadja, N. Type 1 interferons as a potential treatment against COVID-19. *Antiviral Res.* 2020: 178, 104791.
24. Zhou, Q., Wei, X.-S., Xiang, X., Wang, X., Wang, Z.-H., Chen, V., Shannon, C.P., Tebbutt, S.J., Kollmann, T.R., and Fish, E.N. Interferon- α 2b treatment for COVID-19. *medRxiv*, 2020.04.06.20042580.
25. Meng, Z., Wang, T., Li, C., Chen, X., Li, L., Qin, X., Li, H., and Luo, J. An experimental trial of recombinant human interferon alpha nasal drops to prevent coronavirus disease 2019 in medical staff in an epidemic area. *medRxiv*, 2020.04.11.20061473.
26. Jérôme Hadjadj, Nader Yatim, Laura Barnabei, Aurélien Corneau, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 10.1126/science.abc6027 (2020)