

## Στόχοι και Θεραπευτικά Μέσα για την Αντιμετώπιση του Ιού SARS-CoV-2

Σοφία Κ. Κωνσταντινίδου<sup>1\*</sup> και Ιωάννης Π. Παπαναστασίου<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών & Διαβητολογικό Κέντρο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό», ΕΚΠΑ, Αθήνα, 11527, Υπότροφος Ιδρύματος Ωνάση

<sup>2</sup>Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ, Αθήνα 157 84

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:**  
κορωνοϊός SARS-CoV-2; νόσος COVID-19; θεραπευτικά μέσα; εμβόλια; διαγνωστικά τεστ

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο νέος κορωνοϊός 2019 (SARS-CoV-2) εμφανίστηκε αρχικά στην επαρχία Ουχάν της Κίνας, και εξαπλώθηκε παγκοσμίως προκαλώντας πανδημία στις αρχές του 2020 με σοβαρές κοινωνικοοικονομικές επιπτώσεις. Η παρούσα ανασκόπηση αναφέρεται στη νόσο COVID-19, τον αναπαραγωγικό κύκλο του SARS-CoV-2 σε κύτταρα ξενιστές, καθώς και στους στόχους των φαρμάκων κατά του SARS-CoV-2 και τη θεραπευτική χρήση τους. Προς το παρόν, καθώς δεν υπάρχει αποτελεσματική προφύλαξη ή θεραπεία για τη νόσο COVID-19, πολλά ήδη εγκεκριμένα φάρμακα, που έχουν αναπτυχθεί για άλλες χρήσεις, εξετάζονται ως πιθανές θεραπείες για τη συγκεκριμένη νόσο, καθώς επίσης βρίσκονται σε εξέλιξη διαφορετικές ερευνητικές στρατηγικές, προκειμένου να αξιολογηθεί η θεραπευτική αποτελεσματικότητα πειραματικών φαρμάκων και εμβολίων. Οι κατηγορίες φαρμάκων, που εξετάζονται, είναι οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης II, αναστολείς της πρωτεάσης τύπου σερίνης II, αναστολείς του υποδοχέα CD147, αντι-ικά φάρμακα, καρδιοπροστατευτικοί παράγοντες και αντιφλεγμονώδεις ενώσεις. Επίσης, αναφέρονται οι ευεργετικές προοπτικές των διαφόρων υπό ανάπτυξη εμβολίων και διαγνωστικών εξετάσεων.

\* ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ

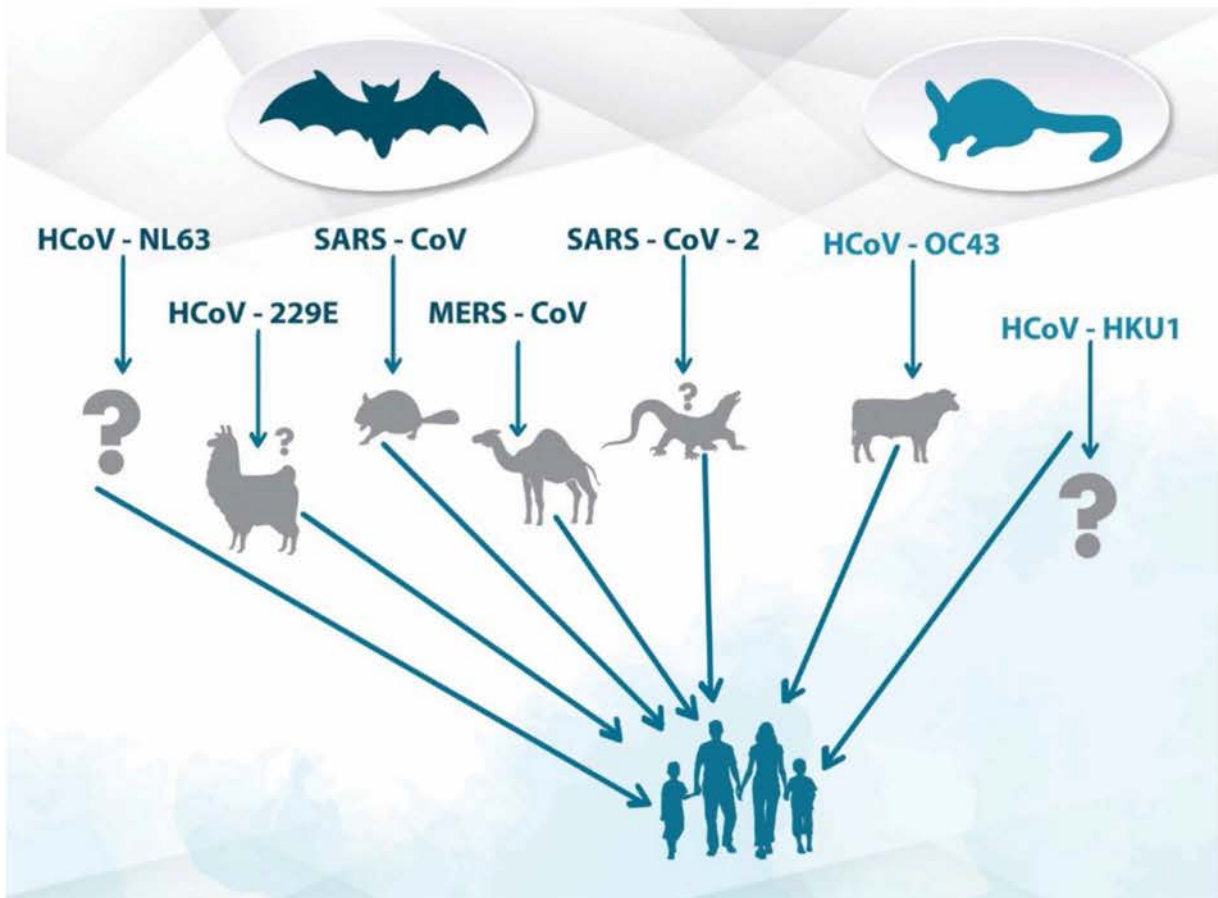
ΑΛΛΗΛΟΓΡΑΦΙΑΣ:

Ιωάννης Π. Παπαναστασίου  
papanastasiou@pharm.uoa.gr

### 1. Εισαγωγή

Ο νέος κορωνοϊός 2019 (SARS-CoV-2) εμφανίστηκε αρχικά στην επαρχία Ουχάν της Κίνας, και εξαπλώθηκε παγκοσμίως προκαλώντας πανδημία στις αρχές του 2020<sup>1</sup>. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) ανακοίνωσε το όνομα της νέας νόσου, ως Coronavirus Disease 19 (COVID-19), η δε ομάδα μελέτης Coronaviridae (CSG) της Διεθνούς Επιτροπής για την ταξινόμηση των ιών, ταξινόμη-

σε το νέο κορωνοϊό, ως Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)<sup>2</sup>. Αυτό το αναπνευστικό παθογόνο ανήκει στην οικογένεια των Coronaviridae, η οποία απαρτίζεται από τέσσερα γένη: α, β, γ και δ, βάσει του γονιδιώματός τους<sup>3</sup>. Οι ιοί από τα δυο πρώτα γένη μολύνουν τα θηλαστικά, ενώ τα στελέχη 229E και NL63 είναι υπεύθυνα για το κοινό κρυολόγημα και ανήκουν στο α-γένος (σχήμα 1). Οι κορωνοϊοί έχουν ταυτοποιηθεί από τα μέσα της δεκαετίας του 1960. Ωστόσο, η πίεση



**Σχήμα 1:** Σχηματική απεικόνιση της μετάδοσης διαφορετικών στελεχών κορωνοϊών από τους φυσικούς τους ξενιστές (νυχτερίδες ή τρωκτικά) στους ενδιάμεσους ξενιστές (θηβητιανές γάτες, αραβικές καμήλες, παγκολίνους ή βοοειδή) και τελικά στον άνθρωπο. Τα στελέχη των κορωνοϊών NL63, 229E, OC43 και HKU1 είναι υπεύθυνα για τον απλό τύπο του κρυολογήματος<sup>7</sup>.

της φυσικής επιλογής, κατά τη συμβίωση των κορωνοϊών (CoVs) και των ξενιστών τους, συμπεριλαμβανομένων και των ανθρώπων, οδήγησαν, για χιλιάδες χρόνια, στην εξελικτική προσαρμογή των κορωνοϊών. Για πρώτη φορά, το 2003, ένα στέλεχος κορωνοϊού συσχετίστηκε με το Σοβαρό Οξύ Αναπνευστικό Σύνδρομο (SARS), και προέκυψε η συνειδητοποίηση του θανατηφόρου κινδύνου και της σημασίας των μολυσματικών στελεχών των κορωνοϊών. Το 2012, ένας νέος ζωονοσογόνος κορωνοϊός, της Μέσης Ανατολής (MERS-CoV), συσχετίστηκε με το σύνδρομο SARS με ποσοστό θνητότητας 36%<sup>4</sup>. Τα δύο αυτά στελέχη ανήκουν στο β-γένος. Η φυλογενετική

ανάλυση αποκάλυψε ότι ο SARS-CoV-2 διαφέρει αρκετά από τον SARS-CoV (~79%) και τον MERS-CoV (~50%), μολονότι ανήκει στο ίδιο γένος. Σε σύγκριση με τα δύο τελευταία στελέχη, ο SARS-CoV-2 εμφανίζει μικρότερο ποσοστό θνητότητας, αλλά η εξάπλωσή του είναι μεγαλύτερη. Το ένα τρίτο του παγκόσμιου πληθυσμού τέθηκε σε περιορισμό καραντίνας, καθώς οι κατά τόπους αρχές εφάρμοσαν σειρά μέτρων για την επιβράδυνση της εξάπλωσης της μόλυνσης, τα οποία περιελάμβαναν από απλές συστάσεις έως και τον υποχρεωτικό γεωγραφικό αποκλεισμό (καραντίνα). Προς το παρόν, καθώς δεν υπάρχει αποτελεσματική προφύλαξη ή θεραπεία για τη νόσο COVID-19,

η παγκόσμια κοινότητα έχει επιταχύνει την έρευνα για φάρμακα και εμβόλια έναντι αυτής της απειλής. Λόγω της επείγουσας κατάστασης, πολλά ήδη εγκεκριμένα φάρμακα του εμπορίου δοκιμάζονται, ως προς τη θεραπευτική επαναστόχευση/αναθεώρηση της δράσης τους<sup>5,6</sup>.

## 2. Η νόσος

Η νόσος COVID-19 προκαλείται από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2, μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο και φαίνεται να παρουσιάζει ένα φάσμα κλινικών συμπτωμάτων, τα οποία κυμαίνονται από συμπτώματα, που δεν είναι εμφανή (ασυμπτωματικοί ασθενείς) έως την εκδήλωση σοβαρής αναπνευστικής δυσχέρειας.

Οι ασθενείς με COVID-19 είναι πιθανόν να εκκρίνουν και να μεταδίδουν τον νέο κορωνοϊό, 2 έως 3 ημέρες πριν εκδηλωθούν τα πρώτα συμπτώματα της νόσου. Συνήθως, οι ασθενείς, που έχουν μολυνθεί από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2 είναι ασυμπτωματικοί για 5 μέρες, κατά μέσο όρο, όσο δηλαδή διαρκεί η επώαση του ιού. Σχεδόν όλοι οι συμπτωματικοί ασθενείς (97,5%) έχουν εμφανίσει τα συμπτώματα της νόσου εντός 12 ημερών από την έκθεσή τους στον ιό και την έναρξη της λοίμωξης, γεγονός που δικαιολογεί την έως τώρα εφαρμοζόμενη απομόνωση (καραντίνα) για 14 μέρες. Η μετάδοση της νόσου COVID-19 γίνεται κυρίως μέσω της επαφής με σταγονίδια, που μεταφέρουν ιικό φορτίο και τα οποία παράγονται, όταν ο ασθενής ομιλεί, βήχει ή φτερνίζεται ή μέσω σταγονιδίων από τη σίελο ή από τη ρινική κοιλότητα. Ο νέος κορωνοϊός SARS-CoV-2 μπορεί να μεταφέρεται και ως αερόλυμα, εκτός από μεγάλα σταγονίδια. Μικροσκοπικά ιικά σωματίδια μπορούν να παραμείνουν στον αέρα και να μολύνουν τους ανθρώπους και σε απόσταση μεγαλύτερη του 1,5 μέτρου. Για την αποφυγή μετάδοσης είναι πολύ σημαντική η εφαρμογή μέτρων ατομικής υγιεινής (πλύσιμο χεριών), η χρήση μάσκας και η αποφυγή συγχρωτισμού.

Η κοινή συμπτωματολογία, κατά την έναρξη της ασθένειας, περιλαμβάνει πυρετό ή ρίγος, βήχα, πονόλαιμο, δύσπνοια ή δυσκολία στην αναπνοή, ρινική συμφόρηση ή καταρροή, κόπωση ή γενική μυαλγία,

απώλεια της γεύσης και της οσμής. Λιγότερο κοινά συμπτώματα είναι η παραγωγή πτυέλων, ο έμετος ή ναυτία, ο πονοκέφαλος και η διάρροια. Ιδιαίτερη αναφορά γίνεται σε ένα λιγότερο συχνό σύμπτωμα της νόσου COVID-19, την εμφάνιση επιπεφυκίτιδας. Ο λόγος αυτής της επισήμανσης είναι ότι η μόλυνση και η μετάδοση της νόσου μπορεί να γίνει και μέσω σταγονιδίων από τον επιπεφυκότα χιτώνα του οφθαλμού. Η αμερικανική οφθαλμολογική ακαδημία (AAO), όπως και άλλοι επίσημοι φορείς συστήνουν να υπάρχει προστασία του στόματος, της μύτης και των ματιών για την πρόληψη της μετάδοσης της νόσου, καθώς έχουν αναφερθεί περιστατικά μετάδοσης από ασυμπτωματικούς για COVID-19 ασθενείς με επιπεφυκίτιδα κατά την εξέτασή τους σε οφθαλμολογικές κλινικές ή τμήματα<sup>8</sup>.

Αρχικά, κατά την ανάλυση των κρουσμάτων<sup>9-11</sup> στην Κίνα, έως τα μέσα Φεβρουαρίου 2020, διαπιστώθηκε ότι το 14% των περιπτώσεων συσχετίστηκε με σοβαρή νόσο (δύσπνοια, αναπνευστική συχνότητα  $\geq 30$  / λεπτό, κορεσμός οξυγόνου στο αίμα  $\leq 93\%$ , κλάσμα μερικής πίεσης αρτηριακού οξυγόνου προς εισπνεόμενο οξυγόνο  $<300$ , ή / και πύκνωση των αεροχώρων του πνεύμονα  $> 50\%$ , εντός 24-48 ωρών) και 5% των περιπτώσεων ήταν κρίσιμες (δηλαδή αναπνευστική δυσχέρεια, σηπτικό σοκ ή πολυοργανική ανεπάρκεια). Αργότερα, σε πιο εκτεταμένη μετα-ανάλυση, διαπιστώθηκε υψηλότερο ποσοστό σοβαρής νόσου (20,3%). Το ποσοστό της θνητότητας της ασθένειας ποικίλλει ανάλογα με την περιοχή, τα δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού, καθώς και τις δυνατότητες φροντίδας υγείας. Για παράδειγμα, στην Ιταλία εκτιμάται ότι το συνολικά υψηλότερο ποσοστό της θνητότητας της ασθένειας, 7,2%, μπορεί να οφείλεται και στο υψηλότερο ποσοστό ατόμων σε προχωρημένη ηλικία σε σύγκριση με την Κίνα. Σύμφωνα με δεδομένα σε παγκόσμια κλίμακα, εκτιμάται ότι το ποσοστό της θνητότητας της νόσου COVID-19 (βασίζεται μόνο σε επιβεβαιωμένες περιπτώσεις) είναι περίπου 6,9%. Η εξέλιξη της ασθένειας προς το σύνδρομο της οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) εμφανίζεται συνήθως σε ηλικιωμένους ασθενείς (άνω των 63 ετών), συχνά με υποκείμενες νόσους, όπως καρδιοπάθεια, υπέρταση ή διαβήτης. Ο αυξημένος κίνδυνος θνητότητας συ-

σχετίστηκε με την προχωρημένη ηλικία, τη σήψη, τη μειωμένη πηκτικότητα του αίματος. Σε άτομα μικρότερης ηλικίας, αλλά άνω των 60 ετών, ο αυξημένος δείκτης μάζας (άνω των 30) συσχετίστηκε με αυξημένη σοβαρότητα της νόσου και την εξέλιξη της νόσου σε σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας. Άλλα συμπτώματα, συμπεριλαμβανομένων των νευρολογικών συμπτωμάτων, έχουν επίσης αναφερθεί σε μικρότερα ποσοστά ασθενών. Επιπλέον, η νόσος αφήνει το αποτύπωμα της, ως φλεγμονή του μυοκαρδίου και αύξηση των ειδικών καρδιακών ενζύμων, κλινικά ευρήματα σχετιζόμενα με τη μυοκαρδιοπάθεια από stress ή αλλιώς με το «σύνδρομο της ραγισμένης καρδιάς». Ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών με COVID-19 δεν αναρρώνουν πλήρως σε λίγες εβδομάδες και παρουσιάζουν συμπτώματα χρόνιας κόπωσης (COVID long-haulers)<sup>12</sup>.

Η βαρύτητα των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19 φαίνεται να επηρεάζεται από την ηλικία και το φύλο<sup>13</sup>. Τα βρέφη και τα παιδιά συνήθως διατρέχουν υψηλό κίνδυνο από λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος από ιούς, όπως ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) και ο ιός της γρίπης. Αντίθετα, οι παιδιατρικοί ασθενείς με COVID-19 εμφανίζουν σχετικά ηπιότερα συμπτώματα, γενικά, σε σύγκριση με τους ηλικιωμένους ασθενείς. Ο λόγος για αυτή τη διαφορά, μεταξύ παιδιών και ενηλίκων, παραμένει ασαφής. Πρόσφατη έκθεση πρότεινε τη συσχέτιση μεταξύ της σοβαρότητας της νόσου COVID-19 και της ποσότητας των ιικών φορτίων, και πιθανώς τα παιδιά μπορεί να έχουν μικρότερα φορτία του ιού ακόμα και αν μολυνθούν από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2. Υπό αυτήν την προοπτική, διατυπώνονται δύο υποθέσεις<sup>14</sup>: η πρώτη υπόθεση αφορά στο ποσοστό έκφρασης του υποδοχέα ACE2, που διαφέρει μεταξύ ενηλίκων και παιδιών. Είναι γνωστό ότι οι υποδοχείς ACE2 εκφράζονται περισσότερο σε καλώς διαφοροποιημένα επιθηλιακά κύτταρα. Επιπλέον, το φύλο μπορεί επίσης να επηρεάσει την έκφραση του υποδοχέα ACE2. Το γονίδιο ACE2 βρίσκεται στο Χ χρωμόσωμα. Τα ποσοστά έκφρασης ACE2 είναι υψηλότερα στους άνδρες από ό, τι στις γυναίκες. Αυτό μπορεί να είναι υπεύθυνο για τη διαφορά στη σοβαρότητα και τη θνητότητα μεταξύ ανδρών και γυναικών τόσο στον ενήλικο, όσο και στον

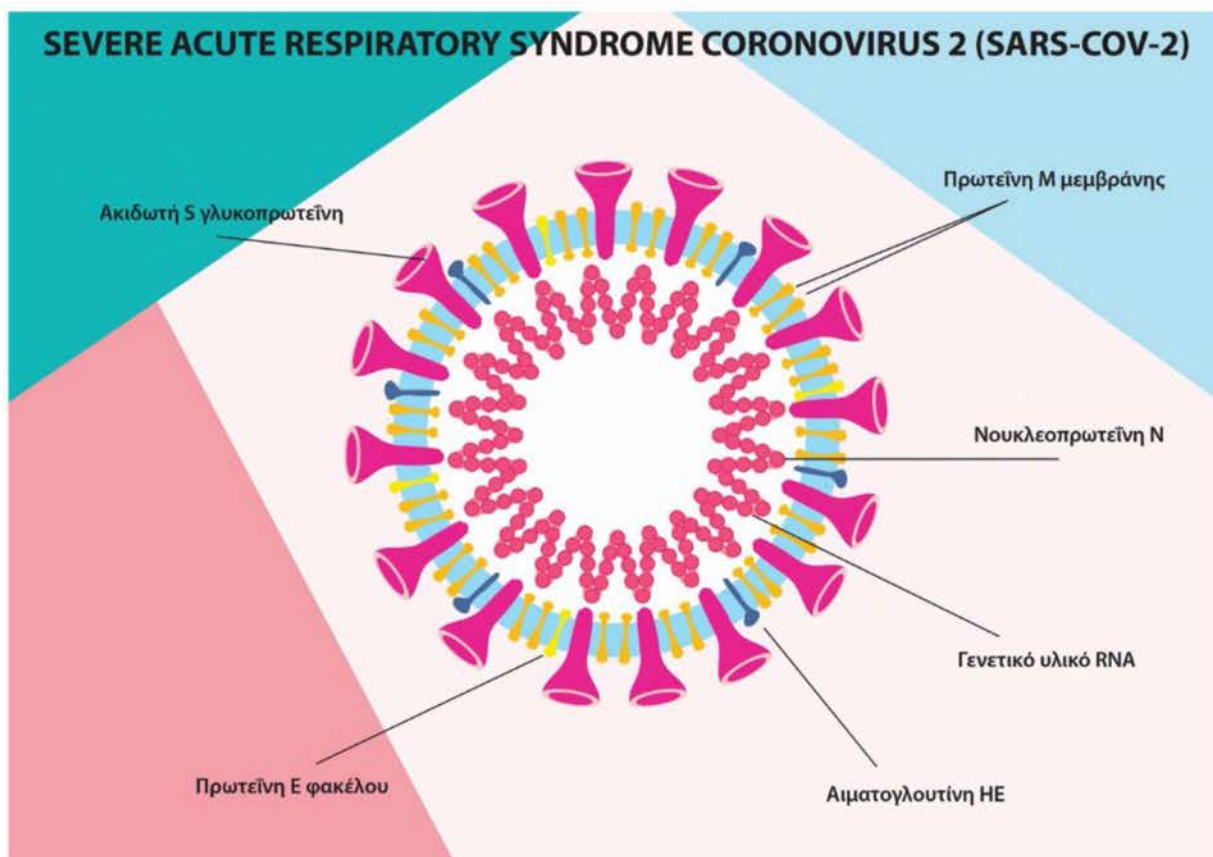
παιδιατρικό πληθυσμό. Η δεύτερη υπόθεση αφορά στην ποιοτικά διαφορετική ανοσοπάντηση στον ιό SARS-CoV-2 των παιδιών σε σχέση με τους ενήλικες. Με τη γήρανση, η συνεχής αντιγονική διέγερση και η εμπλοκή του θύμου αδένου οδηγούν σε μεταβολή της κατανομής των υποσυνόλων των T-κυττάρων, κατά τη διαφοροποίηση και ωρίμανσή τους. Επιπλέον, στατιστικά ανακαλύπτονται και άλλοι παράγοντες, που επηρεάζουν τη βαρύτητα της εκδήλωσης των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19. Οι περισσότεροι από αυτούς τους παράγοντες σχετίζονται με τη ρύθμιση της έκφρασης του υποδοχέα ACE2. Εκτός του φύλου και της ηλικίας, που προαναφέρθηκαν, η έναλος δίαιτα αυξάνει την έκφραση του υποδοχέα ACE2, ενώ, αντίθετα, η νικοτίνη την μειώνει<sup>15</sup>.

Επιπλέον, η βαρύτητα των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19 φαίνεται να επηρεάζεται και από γενετικούς παράγοντες. Ερευνητές της εξελεγκτικής ανθρωπολογίας από το Max Planck Institute υποδεικνύουν ότι γονίδια ηλικίας 60.0000 ετών, που κληρονόμησε ο σύγχρονος άνθρωπος από τον άνθρωπο του Νεάντερταλ της Νότιας Ευρώπης, πολλαπλασιάζουν τον κίνδυνο κατά 3 φορές για ένα ασθενή με COVID-19 να δεχθεί μηχανική αναπνευστική υποστήριξη<sup>16</sup>. Μία περιοχή στο χρωμόσωμα Νο 3, που περιλαμβάνει 50.000 ζεύγη βάσεων, επηρεάζει εάν ένα άτομο θα αρρωστήσει σοβαρά ή όχι.

### 3. Δομή του κορωνοϊού SARS-CoV-2

Ο ιός SARS-CoV-2 αποτελείται από τέσσερις κύριες δομικές πρωτεΐνες, την ακιδωτή γλυκοπρωτεΐνη (S), τη γλυκοπρωτεΐνη μεμβράνης (M), την πρωτεΐνη του νουκλεοκαψιδίου (N) και την πρωτεΐνη του φακέλου (E), καθώς και από άλλες πρωτεΐνες, οι οποίες συνεπικουρούν τη δράση του<sup>17</sup> (σχήμα 2).

Η ακιδωτή γλυκοπρωτεΐνη S είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη με μοριακό βάρος περίπου 150 kDa, η οποία βρίσκεται στο εξωτερικό τμήμα του ιού. Η πρωτεΐνη S σχηματίζει ομοτριμερή, που προεξέχουν από την ιική επιφάνεια και διακρίνεται σε δύο περιοχές, την S1, που είναι υπεύθυνη για την αναγνώριση του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης 2 (ACE2), το οποίο είναι ταυτόχρονα και υποδοχέας του κυττάρου ξενιστή, και στην περιοχή S2, η οποία



Σχήμα 2: Δομή του ιού SARS-CoV-2.

βοηθά στη σύντηξη του ιού με την κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή.

Το νουκλεοκαψίδιο ή αλλιώς πρωτεΐνη N αποτελεί το κύριο δομικό συστατικό του ιού που συνδέεται δομικά με το γενετικό υλικό του ιού. Επειδή η πρωτεΐνη συνδέεται με το RNA, η πρωτεΐνη εμπλέκεται σε διαδικασίες, οι οποίες σχετίζονται με το ιικό γονιδίωμα, τον ιικό κύκλο αναπαραγωγής, καθώς και την κυτταρική απόκριση των κυττάρων ξενιστών στην ιογενή λοίμωξη.

Άλλο δομικό συστατικό του ιού είναι η μεμβράνη ή η πρωτεΐνη M, η οποία έχει ρόλο στον προσδιορισμό του σχήματος του περιβλήματος του ιού. Αυτή η πρωτεΐνη μπορεί να συνδεθεί με όλες τις άλλες δομικές πρωτεΐνες. Η σύνδεση με τη M πρωτεΐνη βοηθά στη σταθεροποίηση των νουκλεοκαψιδίων ή N-πρωτεϊνών και προωθεί την ολοκλήρωση της ιικής συ-

ναρμολόγησης με τη σταθεροποίηση του συμπλέγματος N-πρωτεΐνης-RNA, στο εσωτερικό του ιού. Η πρωτεΐνη φακέλου ή πρωτεΐνη E είναι η μικρότερη πρωτεΐνη στη δομή του SARS-CoV και συμμετέχει στην παραγωγή και την ωρίμανση του ιού.

Το γενετικό υλικό του ιού είναι μονόκλωνο (+) RNA, RNA με «θετική κατεύθυνση», δηλαδή λειτουργεί, ως αγγελιαφόρο m-RNA και αποτελείται από περίπου 30 kb. Μέχρι στιγμής έχουν αναγνωρισθεί γονίδια που κωδικοποιούν 29 πρωτεΐνες, με δομικό και λειτουργικό ρόλο. Στον **πίνακα 1** αναφέρονται συνοπτικά οι πρωτεΐνες με λειτουργικό ρόλο<sup>18</sup>.

Το 5' άκρο του γονιδιώματος κωδικοποιεί μία πολυπρωτεΐνη, η οποία στη συνέχεια διασπάται, από πρωτεολυτικά ένζυμα, προς 16 πρωτεΐνες, nsp1 έως nsp16, οι οποίες δεν έχουν δομικό ρόλο, αλλά λειτουργικό και σχηματίζουν το σύμπλοκο αντιγραφής / με-

**Table 1: Λειτουργικές πρωτεΐνες του ιού SARS-CoV-2**

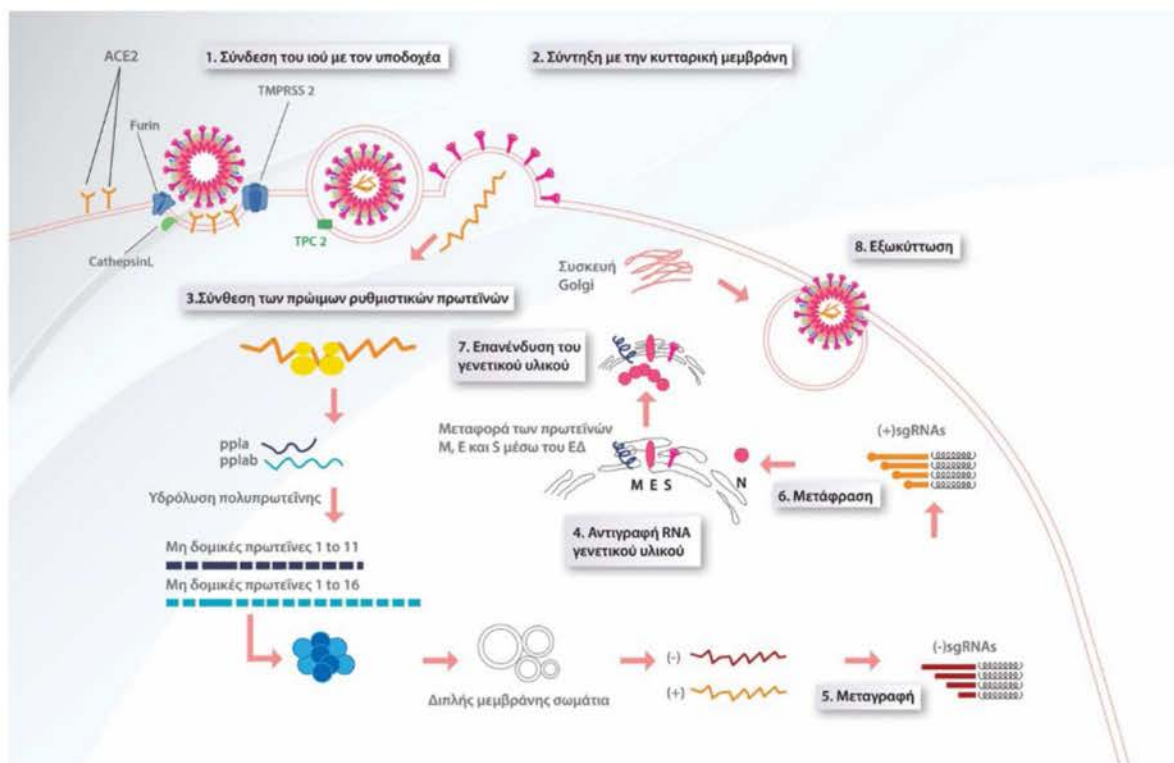
Πρωτεΐνες	Λειτουργία
nsp 1 & 3	Αναστολή της σηματοδότησης IFN και της ανοσοαπάντησης του ξενιστή Αναστολή της μετάφρασης του RNA του ξενιστή
nsp 2	Σύνδεση με ανασταλτικές πρωτεΐνες
nsp 3 & 5	Προώθηση της έκφρασης των κυτοκινών και υδρόλυση της ιικής πολυπρωτεΐνης
nsp 4 & 6	Συμμετοχή στο σχηματισμό των DMVs (σωματίων διπλομεμβράνης)
nsp 7/8 complex	Πολυσχιδής πολυμεράση ικανή για de novo σύνθεση και επιμήκυνση της αλληλουχίας του εκκινητή
nsp 9	Φωσφατάση του RNA
nsp 10, 16 & 14	Επαγωγή της λειτουργίας των ενζύμων της εξωριβονουκλεάσης (ExoN) και της 2-O-μεθυλοτρανσφεράσης (2-O-MT)
nsp 12	RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση
nsp 13	Ελικάση του RNA
nsp 14	Επιδιόρθωση του ιικού γονιδιώματος
nsp 15	Ενδονουκλεάση και πρωτεάση τύπου χυμοθρυψίνης
nsp 16	Αποφυγή της ελικάσης MD5 και της ρύθμισης της ανοσοαπάντησης

ταγραφής. Το βασικό συστατικό αυτού του συμπλόκου είναι η καταλυτική υπομονάδα (nsp12), μίας RNA εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (RdRp). Η nsp12 έχει μικρή δραστηριότητα και οι λειτουργίες της απαιτούν βοηθητικούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένων των nsp7/8, οι οποίοι ενισχύουν την παραγωγή της RdRp. Το σύμπλοκο αντιγραφής περιλαμβάνει και άλλα ένζυμα, που είναι απαραίτητα για το μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων, π.χ. ενδονουκλεάσες και εξωνουκλεάσες. Ωστόσο, παρά την παρουσία του επιδιορθωτικού μηχανισμού του ιικού γονιδιώματος (nsp 14), γονιδιακή μετάλλαξη οδήγησε στην αντικατάσταση του ασπαρτικού οξέος στην υπ' αρ. 614 αμινοξική θέση της ακιδωτής S πρωτεΐνης από τη γλυκίνη (D614G). Το αποτέλεσμα αυτής της μετάλλαξης είναι ότι το μεταλλαγμένο στέλεχος του κορωνοϊού (D614G variant) να αναπαράγεται με περίπου δεκαπλάσια ταχύτητα και είναι πιο μεταδοτικό σε σχέση με το αρχικό στέλεχος που πυροδότησε την πανδημία, χωρίς όμως να προκαλεί βαρύτερη λοίμωξη<sup>19</sup>.

#### 4. Αναπαραγωγικός κύκλος ζωής του ιού SARS-CoV-2 σε κύτταρα ξενιστές

Ο αναπαραγωγικός κύκλος ζωής του SARS-CoV-2 διακρίνεται σε 5 στάδια: την πρόσδεση, την προσρόφηση, τη βιοσύνθεση, τη συναρμολόγηση / ωρίμανση και την απελευθέρωση/εξάπλωση, όπως απεικονίζονται στο **σχήμα 3**. Ο ιός μολύνει κυρίως το αναπνευστικό σύστημα (ρινικά επιθηλιακά κύτταρα, πνευμονοκύτταρα και κυψελιδικά μακροφάγα), καθώς και το γαστρεντερικό σωλήνα (εντεροκύτταρα) του ανθρώπου<sup>20</sup>.

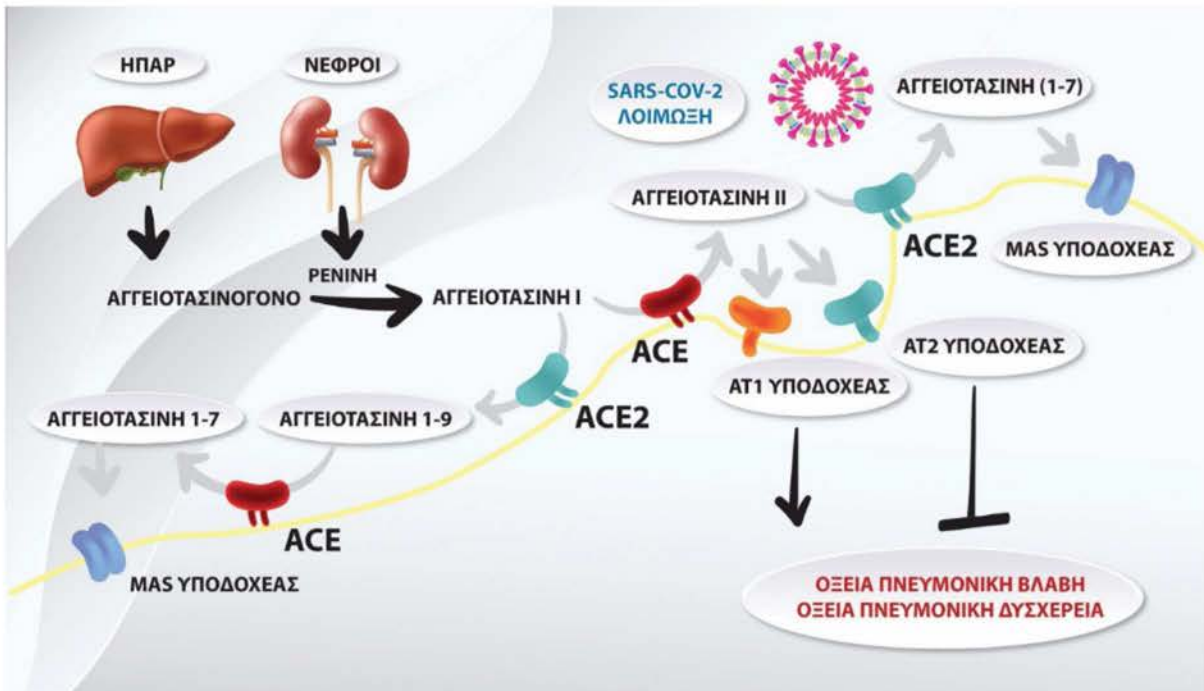
Η επιτυχής είσοδος του ιού στα κύτταρα του ξενιστή λαμβάνει χώρα με την επιλεκτική προσκόλληση της γλυκοπρωτεΐνης S του καψομεριδίου στον υποδοχέα ACE2, του κυτταρικού ενζύμου της μετατροπής της αγγειοτασίνης 2. Αυτή η προσκόλληση εμφανίζεται στον τομέα δέσμευσης της πρωτεΐνης S και περιλαμβάνει τα 331 έως 524 αμινοξέα, τα οποία δεσμεύονται έντονα με τον ανθρώπινο υποδοχέα ACE2. Για



Σχήμα 3: Τα στάδια αναπαραγωγής του ιού SARS-CoV-2.

να πραγματοποιηθεί η σύντηξη του βίριου με το κύτταρο ξενιστή, πρέπει να ενεργοποιηθεί η ακιδωτή S πρωτεΐνη. Η ενεργοποίηση αυτή είναι μία πολύπλοκη διαδικασία, που περιλαμβάνει την πρωτεολυτική υδρόλυση σε δύο σημεία, τις θέσεις S1/S2 και S2', κατά την οποία διακρίνεται ο διαφορετικός ρόλος των δύο υπομονάδων, S1 και S2, της ακιδωτής S πρωτεΐνης<sup>21</sup>. Η υπομονάδα S1 αποτελεί το σημείο σύνδεσης με τον υποδοχέα του ξενιστή, ενώ η υπομονάδα S2 αγκιστρώνεται στη μεμβράνη του ξενιστή κατά τη σύντηξη. Η υδρόλυση στη θέση S2' γίνεται από τη διαμεμβρανική πρωτεάση τύπου σερίνης II (TMPRSS2)<sup>22</sup> που υπάρχει στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή. Η υδρόλυση στη θέση S1/S2 γίνεται από το ένζυμο της φουρίνης και ενεργοποιεί διαμορφωτικές αλλαγές, οι οποίες επιτρέπουν την έκθεση της θέσης S2' προς τα πρωτεολυτικά ένζυμα του ξενιστή κατά την είσοδο του ιού στο κύτταρο του ξενιστή. Κατά την υδρολυτική δράση της φουρίνης αποκαλύπτεται ένα καρβοξυτελικό άκρο (Arg-Arg-Ala-Arg-COOH) στην υπομονάδα S1, που συνδέεται με το διαμεμβρανικό υποδοχέα

του ξενιστή, τη νευροφυλίνη-1 (neurophilin-1/NRP1)<sup>23,24</sup>. Η NRP1 βρίσκεται σε αφθονία στον ανθρώπινο οργανισμό και ίσως να αποτελεί τον παράγοντα που διαφοροποιεί τη μολυσματικότητα και τη μεταδοτικότητα του SARS-CoV-2 σε σχέση με τους υπόλοιπους κορωνοϊούς. Στη συνέχεια, ο ιός μεταφέρεται / ενδοκυττώνεται στο ενδόσωμα, όπου οι όξινες πρωτεάσες του ενδοσώματος διασπούν την πρωτεΐνη S. Η cathepsin L είναι μία σημαντική λυσοσωμική πρωτεάση, για την ενδοκύττωση του ιού, γιατί βρέθηκε ότι η αναστολή της μειώνει την είσοδο του ιού κατά 76%. Επιπλέον, ο ιός αναστέλλει το δίαυλο 2 πόρων (TPC2) που επηρεάζει την ωρίμανση των ενδοσωματιών κατά την ενδοκύττωση του SARS-CoV-2. Το ιικό γονιδίωμα αποδεσμεύεται και μεταφράζεται προς τις ιικές πολυπρωτεΐνες PP1a και PP1ab, οι οποίες διασπώνται σε λειτουργικές πρωτεΐνες από ιικές πρωτεάσες. Ο θετικής κατεύθυνσης κλώνος του ιικού RNA μεταγράφεται προς τον αρνητικής κατεύθυνσης κλώνο RNA, που επιτρέπει τη σύνθεση νέων γονιδιωματικών RNA, καθώς επίσης και προς τους αλληλεπικαλυπτόμενους



Σχήμα 4: Σχηματική αναπαράσταση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης κατά τη νόσο COVID-19.

υπογονιδιωματικούς αρνητικούς κλώνους. Τα υπογονιδιωματικά mRNA στη συνέχεια συντίθενται και μεταφράζονται για την παραγωγή τεσσάρων δομικών και έξι βοηθητικών πρωτεϊνών. Μετά τη μετάφραση, η συναρμολόγηση του ιού λαμβάνει χώρα ταχέως με την εισαγωγή της μεμβράνης (M), του φακέλου (E) και των ακιδωτών S πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο ER του ξενιστή. Το ελικοειδές νουκλεοκαψίδιο, που σχηματίστηκε από τη συναρμολόγηση του νουκλεοκαψιδίου (N) και του ιικού RNA, αλληλεπιδρά με τις άλλες δομικές πρωτεΐνες, για να σχηματίσει τα ώριμα βίρια. Μετά την πλήρη συναρμολόγησή τους, τα βίρια εξέρχονται από το κύτταρο με εξωκύττωση ή εκβλάστηση<sup>20</sup>.

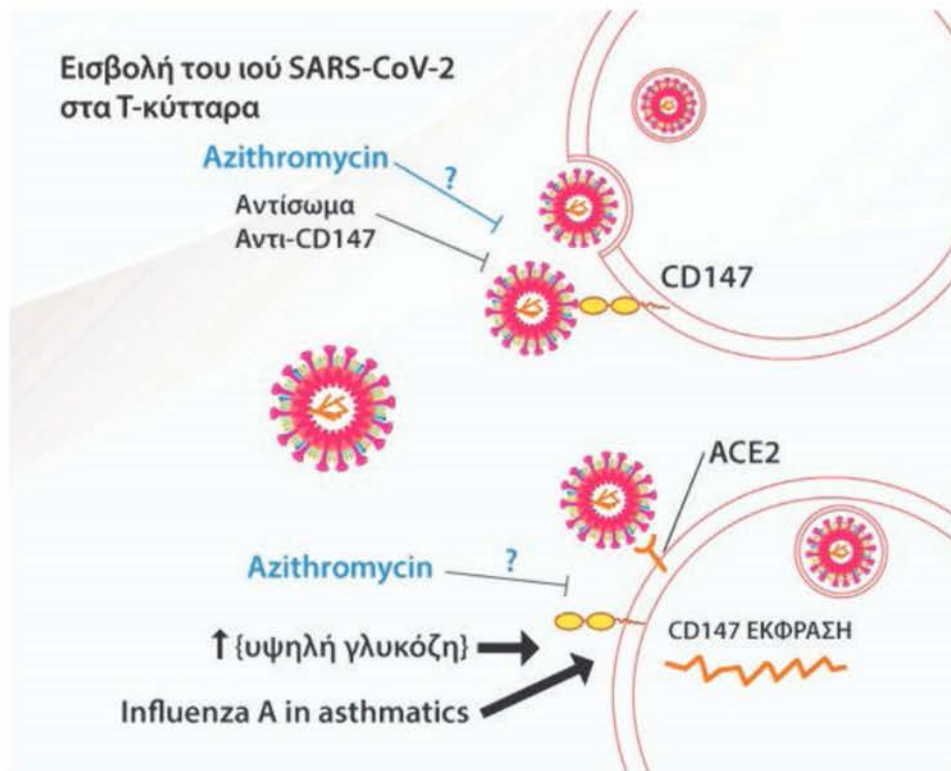
## 5. Στόχοι φαρμάκων κατά του ιού SARS-CoV-2.

### 5.1 Το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτασίνης 2 (ACE2)

Η είσοδος του SARS-CoV-2 στα κύτταρα σχετίζεται με τη δέσμευση της ακιδωτής S πρωτεΐνης του ιού

στον υποδοχέα ACE2. Μία καθορισμένη περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα, στην προαναφερθείσα ακιδωτή πρωτεΐνη, αναγνωρίζει ειδικά τον υποδοχέα ACE2 στον ξενιστή του ιού. Και τα δύο στελέχη κορωνοϊών, SARS-CoV και SARS-CoV-2, μοιράζονται σε υψηλό ποσοστό την αμινοξική αλληλουχία της S πρωτεΐνης. Αυτή η ομοιότητα της αναγνώρισης των υποδοχέων μπορεί να αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα, που σχετίζεται με τις μεταλλάξεις των κορωνοϊών και τη μόλυνση νέων διασταυρούμενων ειδών ξενιστών από τους κορωνοϊούς. Το ένζυμο ACE2 είναι μία μεταλλοπρωτεΐνωση ψευδαργύρου και αποτελεί μέρος του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης (RAS), που ρυθμίζει την καρδιαγγειακή ομοίωση και την αρτηριακή πίεση, μέσω της ισορροπίας των ηλεκτρολυτών<sup>25,26</sup>. Επιπλέον, υδρολύει την καρβοξυτελική λευκίνη από την αγγειοτασίνη I (δεκαπεπτίδιο), για να παράγει το εννιαπεπτίδιο αγγειοτασίνη-(1-9). Το ένζυμο ACE2 μετατρέπει, επίσης, την αγγειοτασίνη II (οκταπεπτίδιο) προς αγγειοτασίνη-(1-7), η οποία προκαλεί αγγειοδιαστολή και μειώνει το οξειδωτικό stress (σχήμα 4). Όσον αφο-



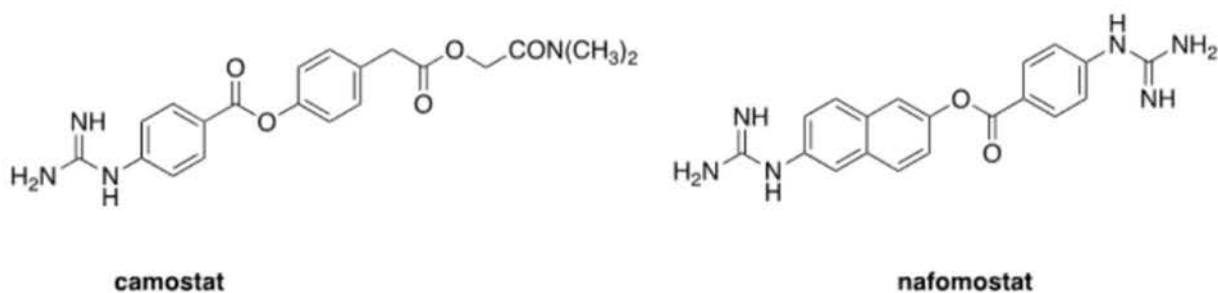


**Σχήμα 5:** Σχηματική απεικόνιση της εμπλοκής του υποδοχέα CD147 στον κύκλο ζωής του ιού SARS-CoV-2

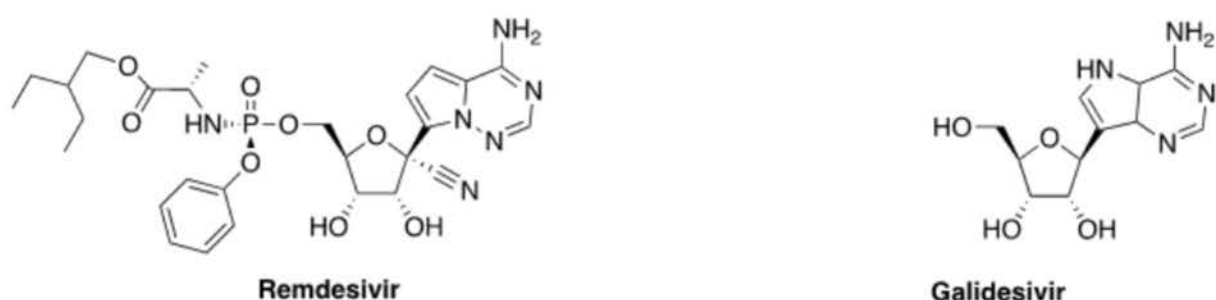
ρά στις λοιμώξεις του κορωνοϊού, ο ACE2 υποδοχέας μεσολαβεί στην είσοδο κυττάρων ξενιστών με S πρωτεΐνη. Ο σχηματισμός του συμπλέγματος της S πρωτεΐνης-ACE2 έχει επίσης αναφερθεί ότι οδηγεί σε μερική μείωση ή ολική απώλεια της ενζυμικής λειτουργίας του ACE2 στα κύτταρα του ξενιστή, αυξάνοντας τη συγκέντρωση της προ-φλεγμονώδους αγγειοτασίνης II. Τα υψηλά επίπεδα της αγγειοτασίνης II στον πνεύμονα ευνοούν την απόπτωση, ξεκινώντας τη φλεγμονώδη διαδικασία με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των προφλεγμονωδών κυτοκινών, οι οποίες μπορεί τελικά να οδηγήσουν σε σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS). Οι υποδοχείς ACE2 υπάρχουν σε πολλούς κυτταρικούς τύπους και ιστούς, κυρίως στους πνεύμονες, την καρδιά, το ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων, τους νεφρούς, το ήπαρ και το γαστρεντερικό σωλήνα. Γι' αυτό, άλλωστε, εντοπίζονται σε αυτά τα όργανα και οι βλάβες από τη λοίμωξη COVID-19.

Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη νόσο COVID-19 που αφορούν στο ένζυμο ACE2 περιλαμβάνουν: i) την παραγωγή εμβολίου με βάση την ακιδωτή S πρωτεΐνη, ii) την αναστολή της σύντηξης ιού και κυττάρου ξενιστή, μέσω της διαμεμβρανικής πρωτεάσης της σερίνης 2 (TMPRSS2) και iii) τον αποκλεισμό του υποδοχέα ACE2.

Οι αναστολείς του υποδοχέα της αγγειοτασίνης II τύπου 1 (angiotensin II receptor blockers-ARBs) προστατεύουν άμεσα την ακεραιότητα του ενδοθηλιακού φραγμού των πνευμόνων και έμμεσα ρυθμίζουν τους υποδοχείς ACE2, μειώνοντας τη φλεγμονή, την ίνωση των οργάνων και τον τραυματισμό του ενδοθηλίου<sup>27</sup>. Για αυτό το λόγο, αρχικά, διατυπώθηκε ο φόβος ότι η αυξορύθμιση των υποδοχέων ACE2 από τη χρήση των αναστολέων, αυξάνει τον κίνδυνο της μόλυνσης από τον νέο κορωνοϊό. Ωστόσο, κλινικές μελέτες έδειξαν ότι νοσηλευμένοι ασθενείς με COVID-19 και υπέρταση, όταν έλαβαν θεραπεία με αναστο-



Σχήμα 6: Δομές των ενώσεων camostat και nafomostat.



Σχήμα 7: Δομές των ενώσεων remdesivir και galidesivir.

λείς ACE ή ARB, εμφάνισαν χαμηλότερο κίνδυνο θνητότητας, ανεξαρτήτως των αιτιών. Ενδεικτικά, αναφέρεται η ένωση losartan και η telmisartan με τα καλύτερα αποτελέσματα σε αυτές τις μελέτες.

Αξίζει, επίσης, να αναφερθεί ότι οι στατίνες ρυθμίζουν τους υποδοχείς ACE2, μέσω επιγενετικών τροποποιήσεων και παρεμβαίνουν στη σηματοδότησή του<sup>28</sup>. Ως γνωστόν, οι στατίνες μειώνουν τη χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τη συνακόλουθη φλεγμονή και το οξειδωτικό stress, που προκαλείται, και συμβάλλουν ευεργετικά στις καρδιαγγειακές παθήσεις. Επιπλέον, οι στατίνες παρεμβαίνουν στην ανοσοαπάντηση σε διαφορετικά επίπεδα και την παραγωγή κυτοκινών. Οι στατίνες αποκαθιστούν, επίσης, την ισορροπία των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων στα αγγεία μειώνοντας τις δραστικές μορφές οξυγόνου και βελτιώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα του οξειδίου του αζώτου, και αντίστοιχα τη λειτουργία και την ακεραιότητα του ενδοθηλίου. Οι στατίνες, παράλληλα με τους αναστολείς ARB, έχουν αναφερθεί ότι είναι αποτελεσματικές στη βελτίωση της απόκρισης

του ξενιστή και στην πρόληψη της βλάβης του ενδοθηλίου σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με τον ιό του Ebola, κατά τη διάρκεια της πρόσφατης σχετικής επιδημίας στη Δυτική Αφρική. Αυτά τα ευρήματα προτείνουν μία πολλαπλά υποσχόμενη ερευνητική κατεύθυνση κατά του ιού SARS-CoV-2.

### 5.2 Ο Υποδοχέας CD147 ή Basigin (BSG)

Ένας ακόμα υποδοχέας που εξετάζεται, ως προς το ρόλο του στη μόλυνση των κυττάρων του ξενιστή, από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2, είναι ο CD147, που ονομάζεται επίσης Basigin (BSG) ή εξωκυτταρικός επαγωγέας της μεταλλοπρωτεΐνάσης (EMMPRN). Ο υποδοχέας CD147 διευκολύνει την είσοδο του παράσιτου της ελονοσίας *Plasmodium falciparum* στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Ο υποδοχέας CD147 είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία επίσης συνδέεται με την ακιδωτή S πρωτεΐνη του SARS-CoV-2. Έχει διαπιστωθεί ότι οι ασθενείς COVID-19 με διαβήτη τύπου 2 εμφανίζουν υψηλότερο ποσοστό θνητότητας

σε σχέση με ασθενείς COVID-19 με καλά ελεγχόμενη γλυκόζη στο αίμα (11% έναντι 1,1%). Η υψηλή συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα ρυθμίζει την έκφραση του υποδοχέα CD147 στα ανοσοκύτταρα. Επομένως, ο μηχανισμός που συσχετίζει τον υποδοχέα CD147 με τον κορωνοϊό SARS-CoV-2 αφορά στην υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα και την επαγόμενη έκφραση του CD147 στα T-κύτταρα. Σε *in vitro* μελέτη έχει βρεθεί ότι τα ανθρώπινα αντισώματα, meropolizumab, αντι-CD147, αναστέλλουν την είσοδο του ιού στα κύτταρα του ξενιστή. Επιπλέον, οι μακρολίδες, και κυρίως η αζιθρομυκίνη, μειώνει την έκφραση του υποδοχέα CD147 και αναστέλλουν την εισβολή του ιού στα κύτταρα του ξενιστή<sup>29</sup> (σχήμα 5).

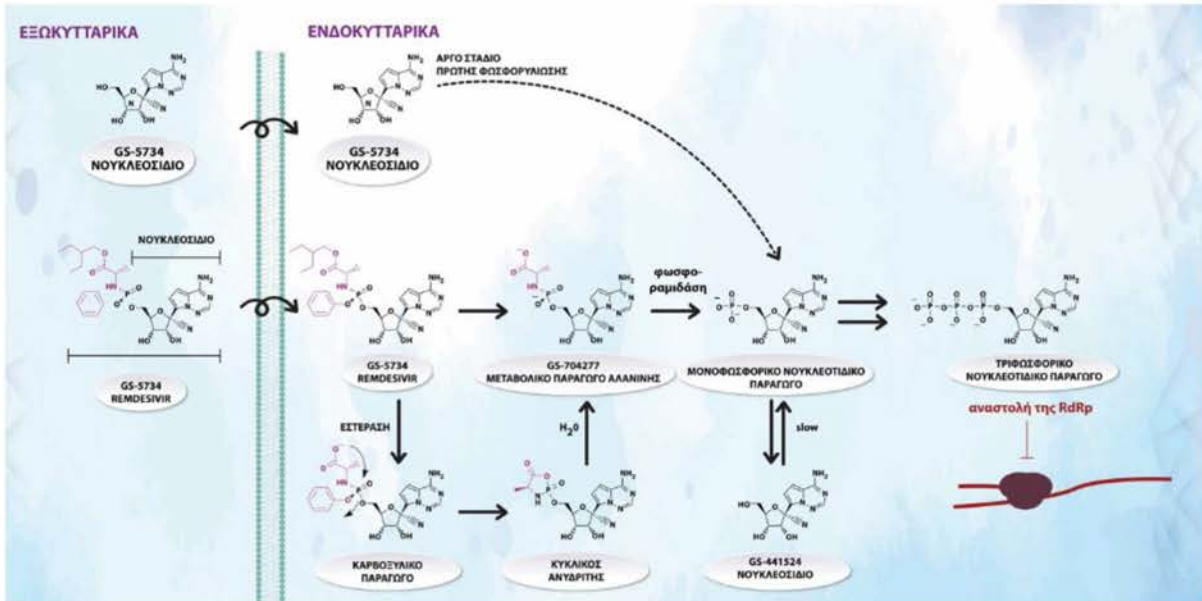
### 5.3 Η πρωτεάση τύπου σερίνης II (TMPRSS2)

Από τα πεπτιδομιμητικά φάρμακα που έχουν προταθεί για την αντιμετώπιση του νέου κορωνοϊού, οι πεπτιδομιμητικοί αναστολείς τύπου σερίνης II προηγούνται στις κλινικές μελέτες με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Οι αναστολείς της πρωτεάσης TMPRSS2 αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου, όπως αναλύθηκε προηγουμένως, και αποτρέπουν τη σύντηξη του περιβλήματος του ιού SARS-CoV-2 με την επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή, το πρώτο βήμα της ιικής μόλυνσης. Ενδεικτικά αναφέρεται ένα εγκεκριμένο φάρμακο, το camostat mesylate, (Foixan) ο μεθανοσουλφονικός βενζοϊκός εστέρας της 4-{2-[2-(διμεθυλαμινο)-2-οξοαιθοξυ]-2-οξοαιθυλο}φαινυλο-4-γουανιδίνης. Το camostat είναι αναστολέας της πρωτεάσης τύπου σερίνης II, TMPRSS2. Τα ένζυμα της πρωτεάσης της σερίνης έχουν ποικίλες λειτουργίες στον ανθρώπινο οργανισμό, και έτσι το camostat έχει ευρύ φάσμα χρήσεων. Το μεζυλικό άλας του camostat εγκρίθηκε στην Ιαπωνία το 1985, ως σκεύασμα δισκίου (Foixan) για τη θεραπεία της οισοφαγίτιδας, από παλινδρόμηση, καθώς και της χρόνιας παγκρεατίτιδας. Μια μελέτη το 2012 έδειξε ότι η αναστολή του TMPRSS2 από το camostat αναστέλλει μερικώς τη μόλυνση από τον SARS-CoV και τον ανθρώπινο κορωνοϊό NL63 σε κύτταρα HeL<sup>30-32</sup>. Η ένωση nafamostat είναι επίσης πεπτιδομιμητικός αναστολέας τύπου σερίνης II, της οποίας η χρήση

αναθεωρήθηκε και χρησιμοποιήθηκε κατά του ιού MERS-CoV, το 2016<sup>33</sup>. Στην ίδια κατηγορία πεπτιδομιμητικών αναστολέων TMPRSS2 ανήκει η ένωση arprotinin, η οποία έχει εγκριθεί στη Ρωσία, ως αερόλυμα για τη θεραπεία της γρίπης. Επειδή οι θεραπευτικές συγκεντρώσεις της arprotinin αναστέλλουν τον αναδιπλασιασμό του SARS-CoV-2 με τον ίδιο μηχανισμό, όπως έχει αναλυθεί, θα μπορούσε το αερόλυμα arprotinin να χρησιμοποιηθεί τοπικά για την έγκαιρη αναστολή της μόλυνσης από το νέο κορωνοϊό και την πρόληψη της εξέλιξης της μόλυνσης σε νόσο COVID-19<sup>34</sup>. Ωστόσο, η αναστολή του ενζύμου TMPRSS2 θα μπορούσε να γίνει και κατά τη μεταγραφή του γονιδιώματος που κωδικοποιεί το ένζυμο, από τους αντίστοιχους παράγοντες, πχ. οιστρογόνα<sup>35</sup>.

### 5.4 Στόχευση της προφλεγμονώδους υπερκυτταροναϊμίας/δευτεροπαθούς αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοϊστικοκύτωσης

Έχουν παρατηρηθεί αυξημένα ποσοστά θανάτου σε ασθενείς, λόγω της αθρόας και ανεξέλεγκτης αντίδρασης του ανοσοποιητικού συστήματος στον ιό, προκαλώντας θανατηφόρο υπερκυτταροναϊμία ή αλλιώς το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών (καταιγίδα κυτοκινών) (CRS) και το σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων (MAS), που μπορεί να οδηγήσει σε πνευμονική βλάβη και πολυοργανική ανεπάρκεια. Το σύνδρομο CRS έχει παρατηρηθεί, ως ανοσοαπάντηση σε κορωνοϊούς, συμπεριλαμβανομένων των ιών SARS και MERS, με υψηλή έκφραση της ιντερλευκίνης IL-6. Αρκετές ερευνητικές μελέτες έχουν καταδείξει ότι ορισμένες προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες αυξάνονται στο πλάσμα των ασθενών με COVID-19. Η IL-6 είναι μια κυτοκίνη, η οποία φαίνεται ότι αυξάνει ακόμη περισσότερο τη φλεγμονή στη νόσο COVID-19, με αποτέλεσμα την παραγωγή περισσότερων κυτοκινών, μακροφάγων και κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων, που αυξάνουν τη φλεγμονή των πνευμόνων. Οι θεραπευτικές αγωγές, οι οποίες μελετώνται για τη θεραπεία ασθενών με COVID-19, με σοβαρή αναπνευστική δυσχέρεια και επιδείνωση συμπτωμάτων με υπερφλεγμονώδες σύνδρομο, περιλαμβάνουν μονοκλωνικά αντι-



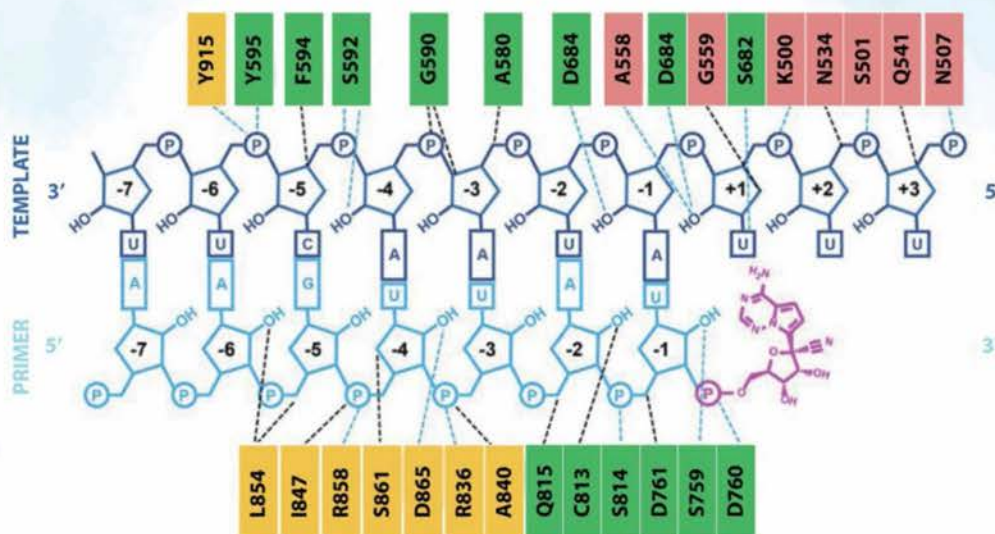
**Σχήμα 8:** Βιομετατροπή της ένωσης remdesivir. Το remdesivir (GS-5734) είναι προφάρμακο, που μεταβολίζεται εντός των κυττάρων προς μεταβολίτη της αλανίνης, ο οποίος στη συνέχεια μετατρέπεται προς το μονοφωσφορικό παράγωγο, και τελικά προς το δραστικό τριφωσφορικό νουκλεοσιδικό παράγωγο.

σώματα, όπως tocilizumab<sup>36</sup> (ανταγωνιστής IL-6), leronlimab, τους αναστολείς των κινάσων Janus, τις ιντερφερόνες λάμδα (IFNλs) και τα κορτικοστεροειδή, όπως η δεξαμεθαζόνη.

Η ένωση tocilizumab αναστέλλει την κυτοκίνη IL-6, περιορίζοντας τη φλεγμονή και προστατεύει τους ασθενείς από την καταιγίδα κυτοκινών. Η κλινική δοκιμή φάσης III EMPACTA, η οποία εξέτασε 389 ασθενείς με πνευμονία που νοσηλεύτηκαν με COVID-19, έδειξε ότι η tocilizumab μειώνει σε ποσοστό 44% την πιθανότητα διασωλήνωσης ή κατάληξης. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκε μείωση της θνητότητας σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και μείωση του χρόνου νοσηλείας στο νοσοκομείο<sup>37,38</sup>. Ωστόσο, η χρήση της tocilizumab για τη νόσο COVID-19 είναι αμφιλεγόμενη, επειδή η κυτοκίνη IL-6 έχει προφλεγμονώδη και αντιφλεγμονώδη δράση και σχετίζεται με αντι-ικές αντιδράσεις. Ο αποκλεισμός της IL-6 μπορεί να αυξήσει τους κινδύνους δευτερογενών λοιμώξεων των ασθενών. Η αποτυχία της μελέτης COVACTA δημιουργεί αμφιβολίες για προηγούμενες αναφορές περί μειωμένης θνητότητας ασθενών

σε μονάδες εντατικής θεραπείας, αλλά ακόμα αναμένονται τα πλήρη δεδομένα της δοκιμής<sup>39</sup>.

Οι ανασυνδυασμένες ή πεγκυλιωμένες μορφές των ιντερφερονών IFNλs μπορούν να αναστείλλουν την καταιγίδα των κυτοκινών και να μειώσουν το ιικό φορτίο, αποτρέποντας τη βλάβη των πνευμονικών ιστών. Η χρήση των IFNλs αναμένεται να είναι μία πολλά υποσχόμενη θεραπεία για τη θεραπεία ασθενών με COVID-19, η οποία θα πρέπει να εξεταστεί σε κλινικές δοκιμές, καθώς μπορεί να αποτρέψει σοβαρά συμπτώματα πνευμονίας και ARDS, και συνεπώς το θάνατο<sup>40</sup>. Ωστόσο, πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί εάν η διέγερση της παραγωγής των IFNλs ή η περίπτωση σοβαρής επιμόλυνσης, μήπως οδηγήσει σε επιπλέον αύξηση των ιντερφερονών και συνακόλουθα σε δυσμενείς επιπτώσεις στον άνθρωπο. Η δεξαμεθαζόνη, ως κορτικοστεροειδές, χρησιμοποιείται για ένα ευρύ φάσμα αντιφλεγμονώδους δράσης και ανοσοκαταστολής, τόσο τοπικά, όσο και συστηματικά, όπως σε αναπνευστικές παθήσεις. Ωστόσο, σε σχέση με τη νόσο COVID-19, βρέθηκε ότι μειώνει τους θανάτους σε ασθενείς με αναπνευστική υπο-



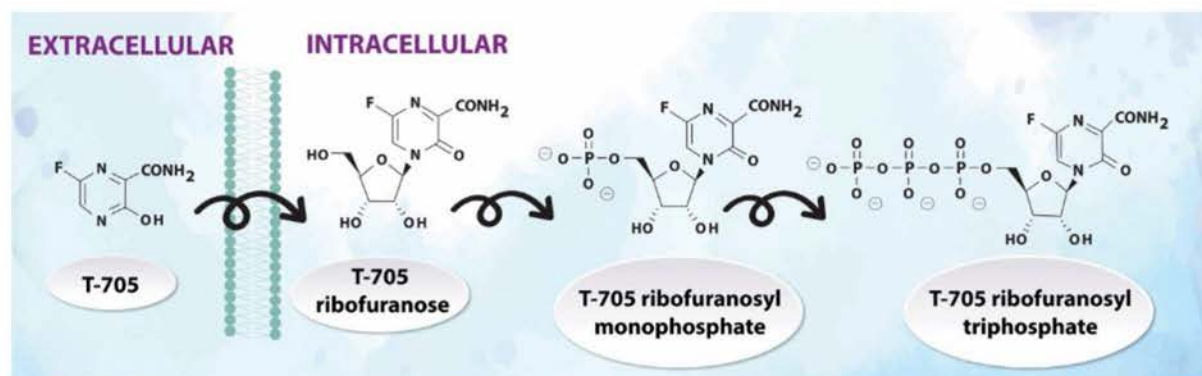
Σχήμα 9: Συναγωνιστική αναστολή της RNA εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (RdRp).

στήριξη, κατά 33%, και κατά 20% σε ασθενείς που χρειάζονται μόνο οξυγόνο. Δεν διαπιστώθηκαν οφέλη για ασθενείς που δεν χρειάζονταν αναπνευστική βοήθεια<sup>41</sup>.

Στην υπέρμετρη φλεγμονώδη απόκριση του οργανισμού στον SARS-CoV-2, σε πολυσυστηματικό επίπεδο, συμπεριλαμβάνεται και το μυοκάρδιο. Η πολύχρονη εμπειρία με την κολχικίνη και τις θεραπευτικές αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της, οδήγησαν μια ομάδα Ελλήνων επιστημόνων στη σκέψη να χρησιμοποιηθεί ώστε να βοηθηθεί ο οργανισμός από τις φλεγμονώδεις επιδράσεις του ιού. Η κολχικίνη, ένα ασφαλές και φθινό φάρμακο, χρησιμοποιείται σε διάφορες παθήσεις, όπως στην περικαρδίτιδα. Η πρώτη παγκοσμίως τυχαίοποιημένη κλινική μελέτη που αποτύπωσε τη θεραπευτική αξία της κολχικίνης σε νοσηλεύομενους ασθενείς με κορωνοϊό, ήταν η μελέτη GRECCO-19<sup>42</sup>. Στη μελέτη αυτή, η επιβίωση στην ομάδα των ασθενών που πήρε κολχικίνη, ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από την ομάδα που πήρε την κλασική θεραπεία. Επιπλέον, η χορήγηση κολχικίνης, ως συμπληρωματική φαρμακευτική αγωγή, έδειξε σημαντική μείωση της πιθανότητας διασωλήνωσης και της θνητότητας σε νοσηλεύομενους ασθενείς<sup>42</sup>. Η κολχικίνη, με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της, δρα

αποτελεσματικά στη φλεγμονή που προκαλείται όχι μόνο στο μυοκάρδιο, αλλά συνολικά στον οργανισμό. Μια δεύτερη σημαντική μελέτη, από ιταλική ερευνητική ομάδα, επιβεβαίωσε τα θετικά αποτελέσματα της ελληνικής έρευνας. Η COLCORONA είναι μια πολυκεντρική, τυχαίοποιημένη, διπλά τυφλή δοκιμή με 6.000 συμμετέχοντες που βρίσκεται σε εξέλιξη, η οποία στοχεύει στη διερεύνηση του κατά πόσον η βραχυπρόθεσμη θεραπεία με κολχικίνη μπορεί να μειώσει τη θνησιμότητα και τις πνευμονικές επιπλοκές σε ασθενείς με COVID-19<sup>43</sup>.

Οι εταιρείες NeuroRx και Relief Therapeutics ανακάλυψαν ότι η ένωση aniptadil οδήγησε σε ταχεία ανάρρωση από πνευμονική ανεπάρκεια σε ασθενείς με COVID-19, που νοσηλεύονταν σε σοβαρή κατάσταση<sup>44</sup>. Η ένωση aniptadil ή RLF-100 είναι ένα αγγειοδραστικό εντερικό πολυπεπτιδίο (VIP), που εντοπίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στους πνεύμονες και μπλοκάρει φλεγμονώδεις κυτοκίνες, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό του ιού στα κύτταρα του πνεύμονα. Σύμφωνα με τις παραπάνω εταιρείες το 81% των ασθενών που έλαβαν aniptadil επέζησαν μετά από 60 ημέρες, σε σύγκριση με το 17% των ασθενών που δεν έλαβαν το φάρμακο<sup>44</sup>. Επιπλέον, οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με aniptadil παρουσί-



Σχήμα 10: Αναβολισμός της ένωσης favipiravir.

ασαν εννέα φορές αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης και ανάρρωσης από αναπνευστική ανεπάρκεια. Με αυτά τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα, ο FDA χορήγησε άδεια νέου ερευνητικού φαρμάκου (IND) για ενδοφλέβια και εισπνεύσιμη χορήγηση του συνθετικού πολυπεπτιδικού anivrtadil για τη θεραπεία της νόσου COVID-19 και δύο κλινικές μελέτες Φάσης IIb/III βρίσκονται σε εξέλιξη<sup>45,46</sup>.

Ιδιαίτερη σημασία, στα θεραπευτικά πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται κατά της νόσου COVID-19, έχει η βιταμίνη D. Η ανεπάρκεια και τα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D στον ορό μπορεί να αυξήσουν την ευαισθησία σε λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Αντίθετα, η βιταμίνη D μπορεί να προστατεύσει από οξείες λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος<sup>47</sup>, επειδή αποτρέπει την απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτοκινών και τροποποιεί την απόκριση των μακροφάγων<sup>48</sup> με αποτέλεσμα να έχει προστατευτικό ρόλο έναντι της λοίμωξης από τον ιό SARS-CoV-2<sup>49</sup>. Για αυτό το λόγο, προτείνεται για τη νοσηλεία βαρέων περιστατικών με οξεία αναπνευστική δυσχέρεια και πνευμονική ίνωση, να χορηγείται ενέσιμο σκεύασμα παρακαλσιτόλης, συνθετικού αναλόγου της βιταμίνης D, κατά αντιστοιχία με τους ασθενείς με κίρρωτικό ήπαρ<sup>50</sup>.

Επιπλέον, η τριάδα των ιντερλευκινών IL-6, IL-10 και IP-10 και η ποσοτικοποίησή τους μπορεί να λειτουργήσει ως εργαλείο για την πρόγνωση της εξέλιξης της νόσου και τη διάρκεια της νοσηλείας. Ενδεχομένως, η εξέταση των τιμών των ιντερλευκινών IL-6, IL-10 και IP-10 σε κλινικά test ρουτίνας, θα μπορού-

σε να βοηθήσει στην έγκαιρη κατηγοροποίηση των ασθενών με βάση τον κίνδυνο που διατρέχουν και να έχει μεγάλο όφελος για την παροχή υγειονομικής περίθαλψης, ιδιαίτερα υπό έκτακτες συνθήκες κατά την πανδημία<sup>51</sup>.

Αξίζει, τέλος, να αναφερθεί ότι νεότερες μελέτες δείχνουν ότι τα επίπεδα των κυτοκινών σε ασθενείς, με λοίμωξη COVID-19 σοβαρής κατάστασης, δεν είναι υψηλότερα από ό,τι ασθενείς με βακτηριακή σήψη ή καρδιακή ανακοπή<sup>52</sup>.

### 5.5 RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp)

Η ένωση remdesivir, (S)-{2-[(S)-[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-αμινοπυρρολο[2,1-f] [1,2,4]τριαζιν-7-υλο)-5-κυανο-3,4-(δωδροζυτετραϋδροφουραν-2-υλο)μεθοξυ] (φαινοξυφωσφορυλ)αμινο}}προπανοϊκός 2-αιθυλοβουτυλεστέρας, αρχικά, αναπτύχθηκε από την εταιρεία Gilead Sciences κατά του ιού της ηπατίτιδας C και στη συνέχεια κατά του ιού Ebola, χωρίς ωστόσο να έχει τα επιθυμητά αποτελέσματα<sup>53</sup>. Στη συνέχεια, η Gilead Sciences ανακάλυψε ότι το remdesivir είχε αντι-ική in vitro δράση έναντι πολλών ιών, αναπνευστικών ιών, παραμυξοϊών και κορωνοϊών.

Τα νουκλεοτιδικά παράγωγα δεν διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη, λόγω της υδροφιλίας τους. Επιπλέον, πρέπει να υποστούν δύο φωσφορυλιώσεις για την παραγωγή του τριφωσφορικού νουκλεοσιδικού παραγώγου (NTP), για να χρησιμοποιηθούν ως υπόστρωμα για τις ικές RNA εξαρτώμενες RNA πολυμεράσες για την αναπαραγωγή του γονιδιώματος.

Κατά αυτόν τον τρόπο, τα τριφωσφορικά νουκλεοτιδικά παράγωγα NTP μπορούν στη συνέχεια να ενσωματωθούν σε ιικό RNA από την εξαρτώμενη από ιικό RNA πολυμεράση RNA. Για να υπερκεραστεί το εμπόδιο της χαμηλής λιποφιλίας, μία εφαρμοσμένη προσέγγιση στο σχεδιασμό αντι-ιικών φαρμάκων είναι η χρήση φωσφοραμιδικών προφαρμάκων. Τα φωσφοραμιδικά προφάρμακα αποτελούνται από ένα μονοφωσφορικό νουκλεοζίτη, ο οποίος συνδέεται με ένα αρωματικό δακτύλιο και εστέρα αμινοξέος (φωσφοραμιδική ομάδα).

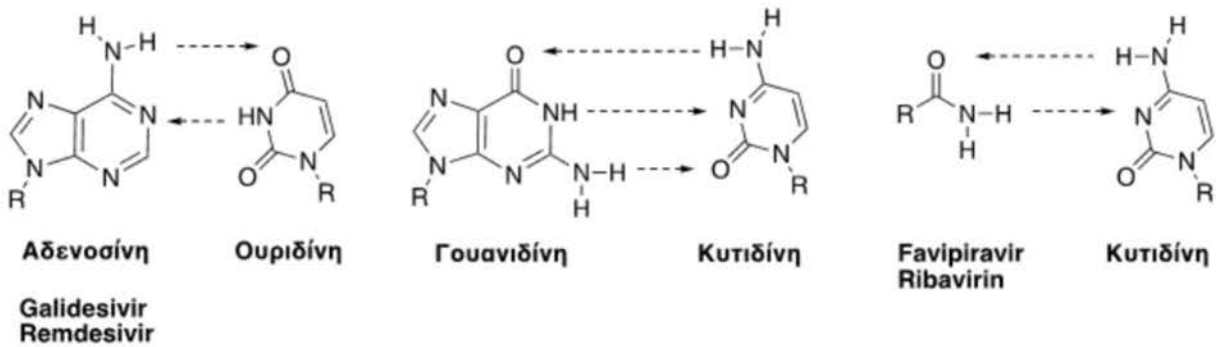
Το προφάρμακο μεταβολίζεται, εντός του κυττάρου, με μία ακολουθία υδρολυτικών σταδίων που ξεκινά με την υδρόλυση της εστερικής ομάδας από την αντίστοιχη εστεράση προς ένα καρβοξυλικό οξύ. Ακολουθώντας, το προφάρμακο κυκλώνει προς το αντίστοιχο κυκλικό φωσφοραμίδιο με απομάκρυνση της φαινοξυ-ομάδας. Για την ένωση remdesivir, ο ασταθής κυκλικός ανυδρίτης υδρολύεται, παρουσία νερού, προς το μεταβολίτη της αλανίνης GS-704277, του οποίου ο δεσμός P-N υδρολύεται από το ένζυμο της φωσφοραμιδάσης. Σε αυτό το τελικό βήμα αποδεσμεύεται ο μονοφωσφορικός νουκλεοζίτης, ο οποίος είναι πολύ πολικός και δεν διαχέεται εκτός της κυτταρικής μεμβράνης και παγιδεύεται εντός του κυττάρου. Η επακόλουθη φωσφορυλίωση από τις κινάσες του κυττάρου-ξενιστή μετατρέπει την ένωση στο τριφωσφορικό ανάλογο NTP, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα από την ιική πολυμεράση RdRp<sup>54</sup> (Σχήμα 8).

Η ένωση remdesivir, επιφέρει τον καθυστερούμενο τερματισμό της μεταγραφής παρά το γεγονός ότι διαθέτει ένα 3'-υδροξύλιο και μπορεί ακόμη να σχηματίσει έναν φωσφοδιεστερικό δεσμό με το επόμενο νουκλεοτίδιο που ενσωματώνεται. Ωστόσο, φαίνεται ότι ο υποκαταστάτης 1'-CN του remdesivir παρεμποδίζεται στερεοχημικά από το αμινοξύ της σερίνης S861 κατά την περαιτέρω επιμήκυνση της αλυσίδας του RNA (remdesivir + τρία επιπλέον νουκλεοτίδια), παραμορφώνοντας την τοποθέτηση του RNA και παρεμποδίζοντας την επιμήκυνση της αλυσίδας στην τέταρτη θέση, μετά την μονοφωσφορυλιωμένη ένωση της remdesivir. Η ένωση galidesivir είναι ένας πυρρολικός C-νουκλεοζίτης με το ίδιο άγλυκο μέρος της αδενίνης στην ένωση remdesivir, και ανα-

στέλλει, επίσης, την RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp) (Σχήμα 9).

Η ένωση remdesivir χορηγείται ενδοφλεβίως (IV) με δόση εφόδου την 1η ημέρα (200 mg σε ενήλικες,) ακολουθούμενη από ημερήσια δόση συντήρησης (100 mg σε ενήλικες) έως και 10 ημέρες. Στα πρωτεύοντα πλιν του ανθρώπου, με καθημερινή χορήγηση 10 mg/kg remdesivir, ο χρόνος ημίσειας ζωής στο πλάσμα του προφαρμάκου είναι  $t_{1/2} = 39$  min. Παρενέργειες του φαρμάκου είναι η αναμμία, η θρομβοπενία, οι αυξημένες τρανσαμινάσες και ο ίκτερος, η αναπνευστική ανεπάρκεια.

Η κλινική μελέτη ACTT<sup>55</sup> των 1.062 ασθενών έδειξε ότι η ένωση remdesivir ήταν ανώτερη από το εικονικό φάρμακο στη συντόμευση του χρόνου ανάρρωσης σε 10 από 15 ημέρες, σε ενήλικες που νοσηλεύτηκαν με COVID-19 και είχαν ενδείξεις λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος<sup>56</sup>. Μια δεύτερη τυχαίοποιημένη, πολυκεντρική κλινική δοκιμή σε ενήλικα νοσηλεύόμενα άτομα με μέτρια COVID-19 έδειξε ότι οι πιθανότητες βελτίωσης των συμπτωμάτων COVID-19 ενός ατόμου ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα της remdesivir την 11η ημέρα σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν μόνο το εικονικό φάρμακο<sup>57</sup>. Έτσι, τον Οκτώβριο του 2020, ο FDA ενέκρινε τη remdesivir ως την πρώτη θεραπεία κατά της λοίμωξης COVID-19 που απαιτεί νοσηλεία, για χρήση σε ενήλικες και παιδιατρικούς ασθενείς ηλικίας 12 ετών και άνω<sup>58</sup>. Ωστόσο, τα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης Solidarity του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), η οποία βρίσκεται σε εξέλιξη, δείχνουν ότι η remdesivir δεν επηρεάζει ουσιαστικά την πιθανότητα επιβίωσης ασθενών με κορωνοϊό ή τη διάρκεια νοσηλείας τους<sup>59,60</sup>. Πιο πρόσφατα βρέθηκε σε διπλά-τυφλή, τυχαίοποιημένη μελέτη, ότι ο συνδυασμός του αναστολέα JAK1 / JAK2, baricitinib (Olmiant) και της αντι-ιικής ένωσης remdesivir έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της νοσηλείας, κατά μία ημέρα, στο μέσο χρόνο ανάρρωσης από COVID-19, σε σχέση με το χρόνο νοσηλείας, όταν χορηγείται αποκλειστικά μόνο remdesivir<sup>61</sup>. Το baricitinib είναι φάρμακο για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας (RA) που έχει εγκριθεί από την Ε.Ε., ως θεραπεία δεύτερης γραμμής για μέτρια έως σοβαρή ρευ-



**Σχήμα 11:** Απεικόνιση του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών βάσεων των νουκλεοτιδίων και των τροποποιημένων νουκλεοτιδίων.

ματοειδή αρθρίτιδα σε ενήλικες.

Μία άλλη ένωση αυτής της κατηγορίας των αναστολέων της RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp) είναι η favipiravir (FPV, T-705), Avigan, (3-υδροξυ-6-φθορο-2-πυραζινοκαρβοξαμίδιο). Η ένωση favipiravir αναβολίζεται στα κύτταρα του ξενιστή προς τον 5'-τριφωσφορυλιωμένο 4-ριβοφουρανοσυλεστέρα και αποτελεί υπόστρωμα της RNA εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (RdRp), την οποία και αναστέλλει<sup>62</sup> (σχήμα 10). Η ένωση favipiravir εμφανίζει ένα ευρύ αντι-ικό φάσμα που ανακαλύφθηκε από την Toyoma Chemical Company, Ltd. (Fujifilm Group), αποτελεί ένα τροποποιημένο ανάλογο της πυραζίνης, που είχε αρχικά εγκριθεί για αντοχή στη γρίπη στην Ιαπωνία και πλέον δοκιμάζεται σε κλινικές μελέτες με ασθενείς με COVID-19. Αναστέλλει την αντιγραφή τόσο του ιού της γρίπης A, όσο και του B και έχει επίσης παρουσιάσει δράση έναντι της γρίπης των πτηνών. Το FPV είναι ένα προφάρμακο που υφίσταται ενδοκυτταρική ριβοζυλίωση και φωσφορυλιώσεις, για να μετατραπεί προς το ενεργό φάρμακο, ο τριφωσφορυλιωμένος εστέρας και αποτρέπει την επιμήκυνση του RNA κλώνου κατά την αντιγραφή του. Η παρουσία αναλόγων νουκλεοτιδίων της πουρίνης μπορεί να μειώσει σημαντικά την αντι-ική δράση του favipiravir, υποδηλώνοντας ότι υφίσταται ανταγωνισμός μεταξύ του favipiravir και των φυσικών νουκλεοτιδίων για την ίδια θέση σύνδεσης.

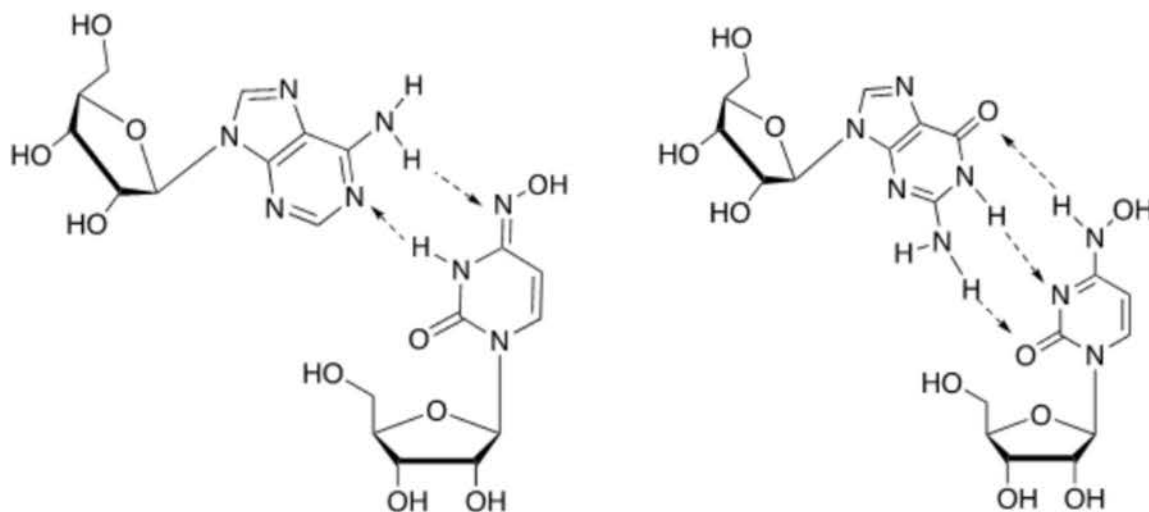
Κλινικές δοκιμές ασθενών με COVID-19, που βρίσκονται σε εξέλιξη, χρησιμοποιούν αρχική δόση FPV

1600 mg, δύο φορές ημερησίως, την πρώτη ημέρα και για τις επόμενες 9 ημέρες από 600 mg, δύο φορές ημερησίως. Η ένωση favipiravir χορηγείται per os, παρουσιάζει πολύ υψηλή βιοδιαθεσιμότητα στον άνθρωπο, 98%. Οι μεταβολίτες του εκκρίνονται κατά κύριο λόγο από τους νεφρούς και ο χρόνος ημιζωής του εκτιμάται ότι κυμαίνεται από 2 έως 5,5 ώρες. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες του favipiravir, που αναφέρθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης για τη θεραπεία γρίπης, περιλαμβάνουν ήπια έως μέτρια διάρροια, ασυμπτωματική αύξηση του ουρικού οξέος του αίματος και των τρανσαμινασών και μείωση του αριθμού των ουδετερόφιλων.

Η καρβοξαμιδική ομάδα της ένωσης favipiravir περιλαμβάνεται και στη δομή ενός άλλου αντι-ικού φαρμάκου, στην ένωση ribavirin<sup>63</sup>. Η ένωση ribavirin είναι εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία του HCV και του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού (RSV) και έχει αξιολογηθεί σε ασθενείς με SARS και MERS, αλλά οι ανεπιθύμητες ενέργειές του, όπως η αναιμία, μπορεί να είναι σοβαρές σε υψηλές δόσεις. Ωστόσο, και οι δύο αυτές δραστικές ενώσεις θεωρούνται σαν γουανιδικά παράγωγα, επειδή σχηματίζουν σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με την κυτοσίνη κατά τη σύζευξη των βάσεων στη συγκρότηση διπλής έλικας<sup>64</sup> (σχήμα 11).

Μία άλλη ένωση που έχει τον ίδιο στόχο δράσης με την remdesivir, αλλά έχει το πλεονέκτημα να δίνεται per os και όχι ενδοφλέβια, όπως η remdesivir, είναι ο 5'-ισοπροπυλεστέρας της β-D-N4-υδροξυκυτιδίνης, EIDD-2801. Η ένωση β-D-N4-υδροξυκυτιδί-





**Σχήμα 12:** Η EIDD-1931, με την ταυτομερή μορφή της οξίμης, προσομοιάζει στην ουριδίνη και συζεύγνυται με την αδενοσίνη (αριστερά), ενώ η άλλη ταυτομερής μορφή προσομοιάζει στην κυτιδίνη και συζεύγνυται με τη γουανοσίνη (δεξιά).

νη (NHC), EIDD-1931 έχει ευρύ αντι-ικό φάσμα έναντι του chikungunya\*, του ιού της εγκεφαλίτιδας των ίππων της Βενεζουέλας (VEEV), του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού (RSV), ιού της ηπατίτιδας C, νοροϊούς, ιούς της γρίπης A και B, καθώς και του ιού Ebola.

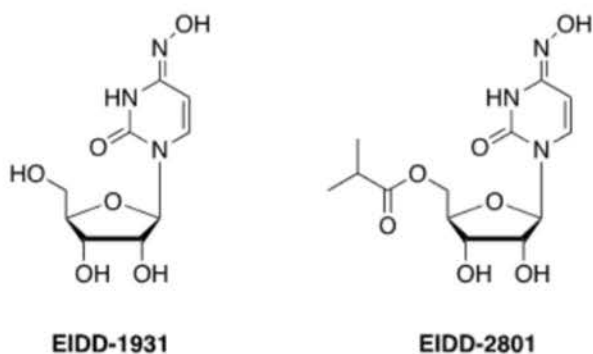
Η ένωση  $\beta$ -D-N4-υδροξυκυτιδίνη (NHC), EIDD-1931, μπορεί να υπάρχει σε δύο ταυτομερείς μορφές και η εναλλαγή μεταξύ αυτών των δυο μορφών μπορεί να προκαλέσει αναντιστοιχία κατά τη μεταγραφή. Στη μία μορφή, η EIDD-1931 προσομοιάζει στην κυτιδίνη, με έναν μόνο δεσμό μεταξύ του άνθρακα και της ομάδας N-OH. Στην άλλη της μορφή (οξίμη με διπλό δεσμό μεταξύ του άνθρακα και της ομάδας N-OH) προσομοιάζει στην ουριδίνη. Έτσι, όταν ο ιός αναπτύσσεται, παρουσία EIDD-1931, η εξαρτώμενη από RNA πολυμεράση RNA θεωρεί την ένωση ως ουριδίνη, αντί για κυτιδίνη, οπότε συζεύγνυται με την αδενοσίνη, αντί της γουανοσίνης, όπως απεικονίζεται στο **σχήμα 12**. Αυτή η λανθασμένη «ανάγνωση» δημιουργεί ένα τεράστιο αριθμό μεταλλάξεων στο ιικό γονιδίωμα, με αποτέλεσμα οι νέοι ιοί να μην είναι λειτουργικοί. Επομένως, η ένωση EIDD-1931 αλ-

ληλεπιδρά με την RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp) με διαφορετικό τρόπο σε σχέση με τα προηγούμενα νουκλεοσιδικά ανάλογα, γεγονός που της επιτρέπει να αποφεύγει τις επιδιορθώσεις της ιικής 3'-5' εξωριβονουκλεάσης (ExoN).

Κατά την *in vivo* φαρμακολογική εξέταση σε ποντίκια και σκύλους, η ένωση EIDD-1931 παρουσίασε την επιθυμητή δράση. Ωστόσο, κατά την εξέταση σε ανώτερα θηλαστικά (μαϊμούδες) βρέθηκε ότι η EIDD-1931 φωσφορυλιώνεται στην 5'-OH θέση και εγκλωβίζεται στο εντερικό επιθήλιο των μαϊμούδων, χωρίς να εκδηλωθεί η αντι-ική δράση. Για να υπερβληθεί αυτό το εμπόδιο, σχεδιάστηκε ο αντίστοιχος εστέρας στη θέση 5'-OH (**σχήμα 13**). Το προφάρμακο EIDD-2801 που προέκυψε, υδρολύεται από τις εστέρας, οι οποίες βρίθουν στο αίμα και αποδεσμεύεται η ενεργός μορφή της δραστικής ένωσης.

Πολλά ακόμα πειραματικά και εγκεκριμένα φάρμακα χρησιμοποιήθηκαν σε κλινικές δοκιμές για την αντιμετώπιση της νόσου COVID-19, τα οποία στην αρχή παρουσίασαν λιγότερο ή περισσότερο ενθαρρυντικά αποτελέσματα που δεν επιβεβαιώθηκαν, οπότε

\*στα σουαχίλι σημαίνει "αυτός που βαδίζει σκυφτός" λόγω των έντονων αρθραλγιών που προκαλεί ο ιός



**Σχήμα 13:** Δομή της ένωσης β-D-N4-υδροξυκυτιδίνη (NHC), EIDD-1931 και του προφαρμάκου της, EIDD-2801.

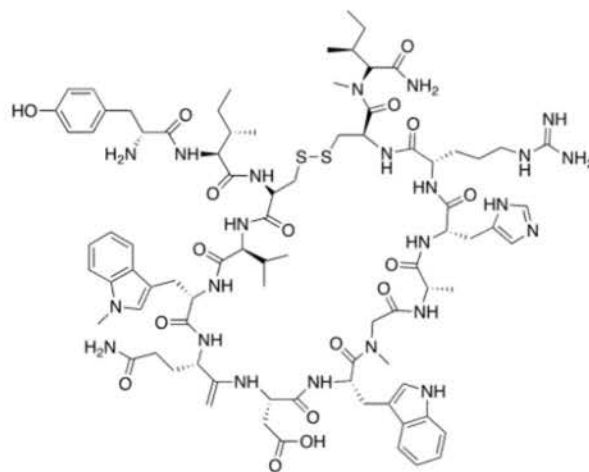
και δεν συμπεριλήφθηκαν στη συνέχεια στο θεραπευτικό πρωτόκολλο της νόσου<sup>59</sup>. Ενδεικτικά αναφέρεται ο συνδυασμός των αναστολέων της ασπαρατικής πρωτεάσης του HIV των πεπτιδομιμητικών ενώσεων lopinavir/ritonavir<sup>65</sup>, που τελικά δεν υιοθετήθηκε για την αντιμετώπιση της νόσου. Ιδιαίτερη αναφορά θα γίνει επίσης για τα γνωστά και παλιά ανθελονοσιακά φάρμακα της υδροχλωρικής ή φωσφορικής χλωροκίνης και της θειικής υδροξυχλωροκίνης. Η χλωροκίνη έχει παρουσιαστεί αναλυτικά για την σχισοκτόνο δράση της κατά την ερυθροκυτταρική φάση των μεροζωιδίων όλων των τύπων των πλασμοδίων και είναι γνωστή η ανοσοκατασταλτική της δράση κατά των αυτοάνοσων νοσημάτων. Αρχικές μελέτες για τη χρήση της χλωροκίνης σε συνδυασμό με την αζιθρομυκίνη εμφάνισαν θετικά αποτελέσματα, κατά της νόσου COVID-19, με την υποσημείωση της καρδιοτοξικότητας και των κοιλιακών αρρυθμιών από την παράταση του επάρματος QT του μυοκαρδιακού κυτταρικού δυναμικού ενεργείας, λόγω της χλωροκίνης. Τελικά, η χλωροκίνη αφαιρέθηκε από τη φαρέτρα των φαρμάκων κατά του κορωνοϊού SARS-COV-2 μετά την κατάληξη ασθενών με COVID-19 από καρδιολογικά αίτια<sup>66</sup>. Οι θετικές όμως θεραπευτικές ενδείξεις της χλωροκίνης, πιθανώς να υποδεικνύουν μια κατεύθυνση για την επιστημονική έρευνα και την ανακάλυψη νέων δραστικών ενώσεων, που να στηρίζονται στο μηχανισμό δράσης της χλωροκίνης, σε ό,τι αφορά στη λυσοσωμική δραστηριότητα σε μοριακό επίπε-

δο, την αυτοφαγία και την ανοσορρυθμιστική δράση στις φλεγμονώδεις κυτοκίνες<sup>67,68</sup>.

### 5.6 Άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις

Ως μία πιθανή εξήγηση για το μηχανισμό της πολυοργανικής ανεπάρκειας της νόσου COVID-19 προτείνεται, επίσης, η υπέρμετρη ενεργοποίηση μίας ομάδας πρωτεϊνών της φυσικής ανοσίας, το «σύστημα του συμπληρώματος», που οδηγεί στην ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων κυττάρων. Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα παράγουν στην κυκλοφορία του αίματος τις εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων NETs (Neutrophil Extracellular Traps), οι οποίες μεταφέρουν ισχυρούς φλεγμονώδεις παράγοντες στο ενδοθήλιο των αγγείων και προκαλούν τη θρόμβωση στη μικροκυκλοφορία, καθώς και τη λειτουργική ανεπάρκεια πολλών οργάνων. Ωστόσο, η αναστολή της κομβικής πρωτεΐνης C3 του συμπληρώματος από το κυκλικό πολυπεπτίδιο AMY-101 (Cp40) μπορεί να εξουδετερώσει τον μηχανισμό της υπέρμετρης φλεγμονής και θρόμβωσης που προκαλείται από τα ουδετερόφιλα και τα NETs<sup>69</sup> (σχήμα 14).

Άλλη θεραπευτική προσέγγιση, έναντι της νόσου COVID-19, είναι η ανοσοποίηση, παθητική και ενεργητική. Η λοίμωξη COVID-19 προκαλεί την ανάπτυξη IgG και IgM αντισωμάτων σε διάστημα ημερών ή εβδομάδων μετά από την έναρξη των συμπτωμάτων.



**Σχήμα 14:** Δομή του πολυπεπτιδίου AMY-101 (Cp40)

Οι μέχρι σήμερα μελέτες αναφέρουν ότι οι ασθενείς με σοβαρή μορφή της νόσου παρουσιάζουν υψηλότερους τίτλους αντισωμάτων. Παρ' όλα αυτά, η παρουσία αντισωμάτων και οι υψηλοί τίτλοι δεν σχετίζονται πάντοτε με την κλινική βελτίωση της νόσου. Επιπλέον, δεν έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη ισόβιας ανοσίας μετά από προσβολή από οποιοδήποτε στέλεχος κορωνοϊού. Ωστόσο, η χρήση αντισωμάτων IgG και IgM, από ασθενείς με COVID-19 που έχουν αναρρώσει, θα μπορούσε να αποτελέσει μία εναλλακτική στρατηγική παθητικής ανοσοποίησης για ασθενείς υψηλού κινδύνου. Η θεραπευτική μετάγγιση πλάσματος (άνοσου ορού) θα πρέπει να γίνεται στα πρώτα στάδια της νόσου, πριν την ανάπτυξη σηπτικού shock ή πολυοργανικής λειτουργικής ανεπάρκειας. Θα πρέπει, όμως, να σημειωθεί ότι η μετάγγιση του πλάσματος ενέχει κίνδυνο μεταβολής της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή και αλλεργικών αντιδράσεων.

Μία προσέγγιση που έχει δείξει θετικά δείγματα στις πρώιμες κλινικές μελέτες είναι τα τεχνητά αντισώματα που παράγονται στο εργαστήριο, αν και προς το παρόν τα δεδομένα είναι περιορισμένα. Σύμφωνα με αρχικά αποτελέσματα φάνηκε να μειώνουν τον κίνδυνο διασωλήνωσης ή θανάτου στους νοσηλευόμενους με COVID-19 ασθενείς και να μειώνουν το ιικό φορτίο του SARS-CoV-2. Ένα πειραματικό μονοκλωνικό αντίσωμα της Eli Lilly, το LY-CoV555 (bamlanivimab), το οποίο στρέφεται εναντίον της ακιδωτής S πρωτεΐνης του SARS-CoV-2, μείωσε σημαντικά, μετά από μερικές μέρες, τα επίπεδα του κορωνοϊού και τα συμπτώματα στους ανθρώπους που χορηγήθηκε, καθώς και την πιθανότητα εισαγωγής τους στο νοσοκομείο<sup>70</sup>. Σύμφωνα με τη μελέτη BLAZE-1, σε 452 ασθενείς που είχαν πρόσφατα διαγνωσθεί με COVID-19, το 1,7% των ασθενών που πήραν το αντίσωμα LY-CoV555, σε μία δόση, εισήχθησαν τελικά στο νοσοκομείο, έναντι 6% από αυτούς είχαν πάρει εικονικό φάρμακο. Στις 9 Νοεμβρίου 2020, ο FDA χορήγησε άδεια έκτακτης ανάγκης (EUA) για το bamlanivimab 700 mg για τη θεραπεία ήπιας έως μέτριας COVID-19 σε ενήλικες και παιδιατρικούς ασθενείς ηλικίας 12 ετών και άνω, οι οποίοι διατρέχουν υψηλό κίνδυνο να προχωρήσουν σε σοβαρή COVID-19 ή/και νοσηλεία. Το bamlanivimab πρέπει να χορηγείται το συντομότερο δυνατό μετά

από θετικό τεστ COVID-19 και εντός 10 ημερών από την έναρξη των συμπτωμάτων<sup>71</sup>.

Αντίθετα, η κλινική δοκιμή ACTIV-3, η οποία διεξάγεται από το Εθνικό Ινστιτούτο Αλλεργίας και Λοιμωδών Νοσημάτων (NIAID), μέρος του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας (NIH) των ΗΠΑ, διεκόπη από το NIH, καθώς διαπιστώθηκε ότι είναι απίθανο να βελτιώσει τα αποτελέσματα στον πληθυσμό των ασθενών, που μελετήθηκαν, και οι διαφορές στα αποτελέσματα ασφάλειας μεταξύ των ομάδων δεν ήταν σημαντικές. Ενώ η ασφάλεια ήταν η αιτία για την παύση, η επιτροπή παρακολούθησης δεν αξιολόγησε, επιπλέον, σημαντικές διαφορές ασφάλειας στο ενημερωμένο σύνολο δεδομένων (ACTIV-3)<sup>72</sup>. Παράλληλα, δοκιμάζεται από την ίδια εταιρεία και ένα δεύτερο μονοκλωνικό αντίσωμα, το LY-CoV016 (etesevimab), το οποίο προσδένεται σε διαφορετικό σημείο πάνω στο SARS-CoV-2<sup>73</sup>. Αυτή τη στιγμή υπάρχουν πολλά μονοκλωνικά αντισώματα υπό εξέταση παγκοσμίως, συγκεντρώνοντας το ενδιαφέρον από την επιστημονική κοινότητα για την αντιμετώπιση της πανδημίας COVID-19. Παρ' όλα αυτά η μαζική παραγωγή τους με τη βοήθεια βακτηρίων είναι αρκετά δύσκολη, δαπανηρή και χρονοβόρα.

Πρόσφατα, τρεις φαρμακοβιομηχανίες, η Amgen Inc., η Takeda Pharmaceutical Inc. και η UCB ξεκίνησαν μια παγκόσμια κλινική δοκιμή, COMMUNITY trial, κατά του νέου κορωνοϊού SARS-CoV-2, για να διαπιστώσουν εάν κάποιο από τρία φάρμακα, apremilast, lanadelumab και zilucoplan, μπορεί να μειώσει τη βαρύτητα της νόσου COVID-19 σε νοσηλευόμενους ασθενείς<sup>74</sup>. Το Otezla® (apremilast), ήδη εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία της ψωρίασης και της ψωριασικής αρθρίτιδας, αναστέλλει τη δράση του ενζύμου φωσφοδιεστεράσης 4 (PDE4), και την παραγωγή κυτοκινών, που συμμετέχουν στη δημιουργία φλεγμονής. Το Takhzyro® (lanadelumab) είναι ένα πλήρως ανθρώπινο, μονοκλωνικό αντίσωμα που αναστέλλει την πρωτεολυτική δραστηριότητα της ενεργού καλρικρεΐνης στο πλάσμα και χρησιμοποιείται στο κληρονομικό αγγειοοίδημα<sup>74</sup>. Το zilucoplan, ερευνητική φαρμακευτική ένωση για τη μυασθένεια Gravis σε Φάση III, είναι ένας υποδορικός αναστολέας του C5 πεπτιδίου<sup>74</sup>. Στόχος αυτής της μελέτης είναι να εξεταστεί αν κάποιο από τα παραπάνω φάρμακα μπορεί να απο-

τρέψει την υπερβολική αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος στον ιό SARS-CoV-2.

## 6. Ανάπτυξη εμβολίων

Κατά την πανδημία COVID-19, η ανοσοποίηση του πληθυσμού, μέσω εμβολιασμού αναγνωρίζεται ως πρώτη προτεραιότητα για τη δημόσια υγεία<sup>75</sup>. Η ανάπτυξη ενός εμβολίου αποτελεί μια πολύπλοκη και χρονοβόρα διαδικασία που διαρκεί 12-15 χρόνια και διαφέρει από την ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Ενώ τα φάρμακα προσανατολίζονται στη θεραπεία μιας ασθένειας της οποίας τα συμπτώματα έχουν εμφανιστεί, το εμβόλιο προορίζεται για χρήση σε άτομα που δεν έχουν ακόμη εμφανίσει συμπτώματα ασθένειας, προκειμένου να αποφευχθεί η εμφάνιση της νόσου. Οι κλινικές δοκιμές για την αποτελεσματικότητα ενός εμβολίου εστιάζονται στην απόδειξη της ικανότητάς του να αποτρέπει την ασθένεια-στόχο, με ελάχιστες ανεπιθύμητες ενέργειες, που εμφανίζονται βραχυπρόθεσμα με αποτέλεσμα την ανάγκη συμμετοχής περισσότερων ατόμων από ό,τι σε συμβατικές μελέτες φαρμάκων. Οι μακροχρόνιες παρενέργειες των εμβολίων είναι πιο σπάνιες και, εάν υπάρχουν, εμφανίζονται κατά τη διάρκεια των δοκιμών που είναι της χρονικής τάξεως δεκαετίας. Ωστόσο, αγώνας δρόμου σε παγκόσμια κλίμακα βρίσκεται σε εξέλιξη για την ανάπτυξη εμβολίων, διαφορετικής τεχνολογίας, κατά του SARS-CoV-2<sup>76</sup>. Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της ανάπτυξης των εμβολίων για τη νόσο COVID-19 είναι το εύρος των νέων τεχνολογιών που αξιολογούνται, όπως εμβόλια νουκλεϊκών οξέων (DNA και RNA), εμβόλια σύζευξης, εμβόλια υπομονάδων, πεπτιδίων και ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης, τοξικογενή, εμβόλια εξασθενημένων ιών και αδρανοποιημένων ιών. Επιπλέον, υπάρχουν ολοένα και περισσότερες ενδείξεις ότι εμβόλια που περιέχουν ζωντανά εξασθενημένα παθογόνα στελέχη μικροοργανισμών, παρέχουν προστασία έναντι θανατηφόρων λοιμώξεων που δεν σχετίζονται με το παθογόνο στόχο του εμβολίου, επειδή προκαλούν την παραγωγή «εκπαιδευμένων» ανοσοκυττάρων και βελτιώνουν την ανοσοαπάντηση των ξενιστών έναντι επακόλουθων λοιμώξεων. Αυτή είναι η περίπτωση δυο διαφορετικών εμβολίων, του εμβολίου

Bacillus Calmette-Guérin (BCG), κατά της φυματίωσης και του MMR (Measles-Mumps-Rubella), εμβολίου κατά της ιλαράς, παρωτίτιδας, και ερυθράς, που επιδημιολογικά συσχετίστηκαν με χαμηλότερα ποσοστά θνητότητας, ως προς τη νόσο COVID-19, των πληθυσμών που είχαν εμβολιαστεί σε σχέση με τους ανεμβολίαστους πληθυσμούς<sup>77</sup>.

Σύμφωνα με τις ανακοινώσεις των εταιρειών με τα υπό ανάπτυξη εμβόλια, δύο τουλάχιστον εμβόλια κατά του SARS-CoV-2 θα είναι διαθέσιμα έως τα τέλη του 2020. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), μέχρι τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, πάνω από 50 διαφορετικά εμβόλια δοκιμάζονται σε κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους, 11 από τα οποία βρίσκονται στη Φάση III<sup>78</sup>. Μία πρωτοποριακή παγκόσμια συνεργασία, COVID-19 COVAX, έχει δημιουργηθεί για την επιτάχυνση της ανάπτυξης, της παραγωγής και της δίκαιης πρόσβασης σε δοκιμές, θεραπείες και εμβόλια για τη νόσο COVID-19. Στόχος της είναι να επιταχύνει την ανάπτυξη και κατασκευή εμβολίων και να διασφαλίσει δίκαιη πρόσβαση για κάθε χώρα του κόσμου<sup>79</sup>.

Η αμερικανική βιοφαρμακευτική εταιρεία Moderna, σε συνεργασία με το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ (NIH), έλαβε επιβεβαίωση της καταλληλότητας του υπό ανάπτυξη εμβολίου της, mRNA-1273, για τη νόσο COVID-19 σύμφωνα με τη Φάση III της μελέτης COVE, με 33.000 εθελοντές<sup>80</sup>. Σύμφωνα με πρώιμα στοιχεία της Φάσης III που δόθηκαν στη δημοσιότητα, το εμβόλιο παρουσιάζει 94,5% αποτελεσματικότητα έναντι του SARS-CoV-2<sup>81</sup>. Τα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν στην Επιτροπή Ασφάλειας και Παρακολούθησης Δεδομένων, έναν ανεξάρτητο φορέα ανάλυσης των στοιχείων που προκύπτουν από τις κλινικές μελέτες. Η ενδιάμεση ανάλυση περιελάμβανε 95 συμπτωματικούς ασθενείς με COVID-19, από τους οποίους οι 90 ήταν από την ομάδα του εικονικού φαρμάκου και οι 5 ανήκαν στην ομάδα των εμβολιασμένων. Από αυτούς τους ασθενείς, 11 εμφάνισαν σοβαρή μορφή COVID-19 οι οποίοι ανήκαν στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου<sup>82</sup>. Η Moderna ανέφερε ότι το εμβόλιο mRNA-1273 έγινε καλά ανεκτό στους εθελοντές, χωρίς σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες και ένα μικρό ποσοστό εμφάνισε μυϊκά άλγη και πονοκεφάλους.

Παρ' όλα αυτά, εκκρεμούν περισσότερα δεδομένα, όπως για το αν προστατεύει και στην ασυμπτωματική φορεία. Ένα μεγάλο πλεονέκτημα είναι ότι δεν απαιτεί κατάψυξη των  $-70^{\circ}\text{C}$  για τη συντήρησή του, αλλά μεταφέρεται και στους  $-20^{\circ}\text{C}$  και διατηρείται για 30 ημέρες σε τυπικές θερμοκρασίες ψύξης  $2-8^{\circ}\text{C}$ .

Τον Σεπτέμβριο του 2020, η γαλλική φαρμακευτική εταιρεία Janssen ξεκίνησε δοκιμές Φάσης III (ENSEMBLE) του υποψήφιου εμβολίου, JNJ-78436735, το οποίο αξιοποιεί την τεχνολογική πλατφόρμα AdVac®, που χρησιμοποιήθηκε πρόσφατα και για την ανάπτυξη και την παρασκευή του εμβολίου της Janssen κατά του ιού Έμπολα, καθώς και των υποψήφιων εμβολίων κατά των ιών HIV, Zika και RSV<sup>83</sup>. Η αμερικανική εταιρεία Novavax ξεκίνησε το Σεπτέμβριο του 2020 τις δοκιμές Φάσης III για το ανοσοενισχυτικό εμβόλιο, NVX-CoV2373<sup>84</sup>.

Η εταιρεία Sanofi σε συνεργασία με την Translate Bio ανακοίνωσαν θετικά προκλινικά αποτελέσματα για το πειραματικό mRNA εμβόλιο, MRT5500, αναφέροντας ότι προκαλεί θετική ανοσολογική αντίδραση σε ποντίκια και πιθήκους, ενώ οι δοκιμές Φάσης I/II σε ανθρώπους θα ξεκινήσουν πριν το τέλος του έτους<sup>85</sup>. Επιπλέον, η Sanofi σε συνεργασία με την GlaxoSmithKline, αναπτύσσει ένα ακόμα υποψήφιο εμβόλιο για τον COVID-19 με βάση την ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, ξεκινώντας κλινική δοκιμή Φάσης I/II<sup>86</sup>. Το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης και η εταιρεία AstraZeneca αναπτύσσουν το εμβόλιο αδενοϊκού φορέα AZD1222 ή ChAdOx1 (Φάση III). Τα αποτελέσματα από τη δοκιμή Φάσης I του εμβολίου δείχνουν ότι είναι ασφαλές και προκαλεί ικανή ανοσοαπόκριση<sup>87</sup>. Στα αποτελέσματα μίας ενδιάμεσης ανάλυσης της Φάσης III, η AstraZeneca ανέφερε ότι το AZD1222, το οποίο χρησιμοποιήθηκε σε δύο διαφορετικά δοσολογικά σχήματα, είχε αποτελεσματικότητα 90%, σε όσους έλαβαν αρχικά την τυπική δόση κατά το ήμισυ, ακολουθούμενο από πλήρη δόση, τουλάχιστον ένα μήνα μετά, και αποτελεσματικότητα 62%, σε όσους έλαβαν δύο πλήρεις δόσεις με διαφορά τουλάχιστον ενός μήνα. Το συγκεκριμένο εμβόλιο μπορεί να αποθηκευτεί σε κανονικές συνθήκες ψύξης για τουλάχιστον έξι μήνες.

Οι εταιρείες BioNTech και Pfizer Inc. πραγματοποιούν δοκιμές Φάσης III του mRNA εμβολίου

του BNT162b2, σε δόση 30  $\mu\text{g}$  σε σχήμα δύο δόσεων, με πάνω από 44.000 εθελοντές στις ΗΠΑ, την Αργεντινή, Νότια Αφρική, Γερμανία και τη Βραζιλία<sup>88</sup>. Η Pfizer έλαβε την έγκριση του FDA για την ένταξη παιδιών ηλικίας 12 ετών και άνω, στα κλινικά δείγματα των μελετών για την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα του υπό ανάπτυξη εμβολίου. Τα πρώτα αποτελέσματα από την κλινική δοκιμή Φάσης III του εμβολίου των Pfizer/BioNTech η οποία είναι ακόμα σε εξέλιξη<sup>89</sup>, δείχνουν ότι το BNT162b1 έχει 95% αποτελεσματικότητα 28 ημέρες μετά την πρώτη δόση. Μέχρι στιγμής, αξιολογήθηκαν 170 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις λοίμωξης COVID-19, από τις οποίες 162 παρατηρήθηκαν στην ομάδα εικονικού φαρμάκου και 8 στην ομάδα των εμβολιασθέντων. Οι εταιρείες ανακοίνωσαν ότι το εμβόλιο ήταν καλά ανεκτό και δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανησυχίες για την ασφάλειά του, με 3,8% των εθελοντών να αναφέρει κόπωση και 2% πονοκεφάλους<sup>90</sup>.

Στις αρχές Οκτωβρίου 2020, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων δήλωσε ότι ξεκίνησε μια ανασκόπηση, για να επιταχύνει την αξιολόγηση δύο εμβολίων για τη νόσο COVID-19, το εμβόλιο, που αναπτύχθηκε από το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης / AstraZeneca και το mRNA εμβόλιο που αναπτύχθηκε από την BioNTech / Pfizer. Μέχρι στιγμής, τα εμβόλια BNT162b1 και mRNA-1273 παρουσιάζουν παρόμοια ποσοστά αποτελεσματικότητας, καθώς έχουν αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας την ίδια τεχνική χορήγησης αγγελιοφόρου RNA (mRNA) και απαιτούν δύο δόσεις, ώστε να παραχθεί ο ικανός αριθμός αντισωμάτων. Πολλές ακόμα εταιρείες διεξάγουν κλινικές μελέτες με στόχο την εύρεση ασφαλών και αποτελεσματικών εμβολίων, όπως η CureVac, η Medicago, η Inovio, η Sinopharm κ.ά. Ωστόσο, οι εταιρείες Pfizer/BioNTech και Moderna έλαβαν έκτακτη άδεια κυκλοφορίας από τους αδειοδοτικούς οργανισμούς, EMA και FDA, ΕΕ και ΗΠΑ, αντίστοιχα, όπως και η AstraZeneca από τον Ρυθμιστικό Οργανισμό Φαρμάκων και Προϊόντων Υγείας (MHRA) του Ηνωμένου Βασιλείου.

Η Ρωσία παρουσίασε ελπιδοφόρα στοιχεία για το εμβόλιο Sputnik V<sup>91</sup>, το οποίο βρίσκεται στη Φάση III των κλινικών μελετών. Το εμβόλιο περιέχει δύο φο-

ρείς, τον ανασυνδυασμένο αδενοϊό τύπου 26 (rAd26) και τον ανασυνδυασμένο αδενοϊό τύπου 5 (rAd5), που φέρουν ολόκληρο το γονίδιο της S γλυκοπρωτεΐνης του νέου κορωνοϊού (rAd26-S και rAd5-S)<sup>92</sup>. Ο εμβολιασμός με το Sputnik-V, πραγματοποιείται σε δύο στάδια, και σύμφωνα με το Εθνικό Ερευνητικό Κέντρο Gamaleya της Ρωσίας, που παρήγαγε το εμβόλιο, τα αποτελέσματα σε μία δεύτερη ενδιάμεση ανάλυση δεδομένων Φάσης III, έδειξαν ότι ήταν αποτελεσματικό κατά 91,4%, την 28η ημέρα και πάνω από 95% την 42η ημέρα<sup>93</sup>. Το εμβόλιο Sputnik-V έχει λάβει έκτακτη άδεια κυκλοφορίας από 14 χώρες μέχρι στιγμής.

Ωστόσο, μόλις εγκριθεί ένα εμβόλιο, οι κατασκευαστές πρέπει να διασφαλίσουν ότι υπάρχει επαρκής ποσότητα, ώστε να διανεμηθεί δίκαια παγκοσμίως. Μέχρι τότε η χορήγησή του θα δοθεί βάσει προτεραιοτήτων, ανάλογα με την ηλικία και τον κλινικό κίνδυνο. Οι εταιρείες Pfizer και Moderna ανέφεραν ότι θα παράγουν αρκετά εμβόλια για 35 εκατομμύρια άτομα το 2020 και ίσως έως και 1 δισεκατομμύριο το 2021<sup>94</sup>. Ακόμη δεν είναι γνωστό για πόσο καιρό μπορεί να διαρκέσει η προστασία που προκαλείται από το εμβόλιο στους ανθρώπους και παραμένει πιθανό να απαιτηθούν ενισχυτικοί εμβολιασμοί για τη διατήρηση της προστασίας έναντι του νέου κορωνοϊού. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας θέτει ως στόχο τουλάχιστον 50% (κατά προτίμηση 70%) αποτελεσματικότητα για τα εμβόλια SARS-CoV-2<sup>95</sup>. Επιπλέον, υπάρχουν ορισμένες ανησυχίες σχετικά με τη μεταφορά και την αποθήκευση των εμβολίων, γεγονός που περιπλέκει την αποστολή και διάθεση, καθώς για παράδειγμα, το mRNA είναι φυσικά ασταθές και πρέπει να αποθηκευτεί κατεψυγμένο σε θερμοκρασία κάτω των -20° C, και σε ορισμένες περιπτώσεις μέχρι -70 και -80 ° C<sup>96</sup>.

## 7. Εξετάσεις ανίχνευσης του ιού SARS-CoV-2

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) συστήνει, όποτε αυτό είναι εφικτό, να λαμβάνονται κλινικά δείγματα από το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα, όπως πτυέλα, ενδοτραχειακές εκκρίσεις ή βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, καθώς έχουν υψηλότερη διαγνωστική αξία από τα δείγματα του ανώτερου αναπνευ-

στικού συστήματος. Εάν αυτό δεν είναι εφικτό ή οι ασθενείς δεν εμφανίζουν συμπτώματα ή σημεία λοίμωξης κατώτερου αναπνευστικού, τότε θα πρέπει να λαμβάνονται δείγματα από το ανώτερο αναπνευστικό, όπως ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις ή συνδυασμός δειγμάτων ρινοφαρυγγικού και στοματοφαρυγγικού επιχρίσματος<sup>97</sup>.

Οι εξετάσεις ανίχνευσης του νέου κορωνοϊού SARS CoV-2 χωρίζονται σε αυτές που αναζητούν άμεσα την παρουσία του ιού (RT-PCR) και σε αυτές που την αναζητούν έμμεσα (ανίχνευση αντισωμάτων). Υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι προσδιορισμών ανίχνευσης του νέου κορωνοϊού SARS CoV-2: ο μοριακός έλεγχος (RT-PCR), η ταχεία ανίχνευση αντιγόνου (rapid test) και η ανίχνευση αντισωμάτων<sup>98</sup>.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) είναι μία μέθοδος, με τη βοήθεια ενζύμων, κατά την οποία απομονώνεται και πολλαπλασιάζεται μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA. Για την ανίχνευση του SARS CoV-2, χρησιμοποιείται η PCR πραγματικού χρόνου (Real Time PCR) η οποία αποτελεί την πιο αξιόπιστη μέθοδο για τον έλεγχο ενεργού λοίμωξης από SARS CoV-2. Παρ' όλα αυτά, η μοριακή μέθοδος μπορεί να είναι αρνητική σε πολύ αρχικά στάδια της νόσου, καθώς και σε ορισμένους ασθενείς, στους οποίους ο ιός μπορεί να συνεχίσει να υπάρχει στους πνεύμονες, αλλά να μην υπάρχει στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα<sup>98,99</sup>.

Επιπλέον, υπάρχουν τα τεστ ταχείας ανίχνευσης αντιγόνων του SARS-CoV-2 (rapid tests). Σήμερα διατίθεται μία πληθώρα ταχέων τεστ, τα οποία βασίζονται είτε σε μοριακή ανίχνευση του ιού, ή σε ανίχνευση αντισωμάτων, ή στην ανίχνευση αντιγόνων του ιού. Τα τεστ αυτά μειώνουν σημαντικά το χρόνο ανάλυσης και δίνουν τη δυνατότητα αύξησης του αριθμού των εξεταζόμενων δειγμάτων. Προς το παρόν μόνο τα εργαστηριακά μοριακά τεστ που βασίζονται σε RT-PCR συστήνονται από τον ΠΟΥ, ενώ τα τεστ ταχείας ανίχνευσης προτείνονται για ερευνητικούς σκοπούς. Ωστόσο, τα ταχέα τεστ μπορούν να αποτελέσουν μια σημαντική βάση για την ανάπτυξη εμβολίων<sup>98</sup>.

Τα τεστ αντισωμάτων γίνονται με αιμοληψία και ανιχνεύονται στον ορό τα ειδικά για τον ιό αντισώματα που παράγει ο ανθρώπινος οργανισμός και εί-

να τριών ειδών: IgA, IgG και IgM. Τα αντισώματα IgG χρησιμοποιούνται, για να διαπιστωθεί εάν ο ασθενής έχει προσβληθεί από τον ιό στο παρελθόν και έχει αποκτήσει ανοσία, ενώ τα IgM δείχνουν, εάν υπάρχει ενεργή λοίμωξη. Με αυτό τον τρόπο διαπιστώνεται εάν ο εξεταζόμενος έχει προσβληθεί, κάποια στιγμή στο παρελθόν, από τον ιό. Τα αντισώματα παράγονται από τα Β-λεμφοκύτταρα και χρησιμοποιούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα, για να αναγνωρίσουν και να ακινητοποιήσουν εισβολείς, όπως είναι τα βακτήρια και οι ιοί<sup>98,99</sup>. Τα αντισώματα αρχίζουν συνήθως να αναπτύσσονται εντός 1 έως 3 εβδομάδων μετά τη μόλυνση<sup>100</sup>. Αυτά τα τεστ δεν είναι 100% ακριβή και ενδέχεται να προκύψουν ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα των τεστ αντισωμάτων δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση ασθενών με ενεργή λοίμωξη<sup>100</sup>.

### 8. Επίλογος

Η εξάπλωση της πανδημίας COVID-19 βρίσκεται σε εξέλιξη, κατά τη συγγραφή της παρούσας ανασκόπησης. Το 2020 ήταν ένα έτος σημαντικών επιστημονικών επι-

τευγμάτων, καθώς σε λιγότερο από 12 μήνες, ταυτοποιήθηκε μια νέα ασθένεια, καταγράφηκε το γονιδίωμα ενός νέου ιού, αποκωδικοποιώντας τη γενετική σύσταση του SARS-CoV-2, εφαρμόστηκαν νέες διαγνωστικές εξετάσεις για την ανίχνευσή του, αναπτύχθηκαν νέα πρωτόκολλα θεραπείας, αποτελεσματικά φάρμακα και νέα εμβόλια με τυχαίοποιημένες κλινικές μελέτες<sup>94</sup>. Η επιστημονική κοινότητα έχει κινητοποιηθεί με πρωτόγνωρους ρυθμούς, για να αντιμετωπίσει την υγειονομική κρίση, που έχει προκύψει σε παγκόσμια κλίμακα. Οι επιστημονικές μέθοδοι εξελίσσονται και νέες τεχνολογίες αναπτύσσονται, για να ανταποκριθούν στην επιβεβλημένη αναγκαιότητα. Οι συνέπειες της νόσου επηρεάζουν κάθε πτυχή κοινωνικής και οικονομικής δραστηριότητας του σύγχρονου κόσμου. Αυτό το αποτύπωμα της νόσου στον ανθρώπινο πολιτισμό θα μελετηθεί με ενάργεια μετά τη λήξη της, με σκοπό τα ασφαλή συμπεράσματα που θα προκύψουν, να αποτρέψουν την επανάληψή της. □

### Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς ευχαριστούν τη σχεδιάστρια Μυρτώ Ατλάνη για την επιμέλεια των σχημάτων.

## Targets and Therapeutic Agents against SARS-CoV-2

Sofia K. Konstantinidou<sup>1\*</sup> and Ioannis P. Papanastasiou<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>First Department of Propaedeutic Internal Medicine and Diabetes Center, Medical School, Laiko General Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, 115 27 Athens, Greece, Onassis Foundation Scholar

<sup>2</sup>Division of Pharmaceutical Chemistry, Department of Pharmacy, School of Health Sciences, National and Kapodistrian University of Athens, 157 84, Athens,

### KEYWORDS:

SARS-CoV-2; COVID-19; therapeutic agents; vaccines; diagnostic tests

### ABSTRACT

The recent coronavirus outbreak of SARS-CoV-2 has spread worldwide, causing serious socioeconomical disruption. Due to the urgency of the situation, various research strategies are ongoing, in order to

evaluate the therapeutic efficacy of repurposed and experimental drugs, as there are neither prophylactic nor therapeutic treatments available. The present review provides a brief account of the

**\* CORRESPONDING AUTHOR:**

Ioannis P. Papanastasiou,  
E-mail:  
papanastasiou@pharm.uoa.gr

COVID-19 disease and the reproductive cycle of SARS-CoV-2 with host proteins. Moreover, it apposes drugs/bioactive substances and their targets, that are being or may be used for the treatment of COVID 19. These include different therapeutic classes, such as ACE2 inhibitors, TMPRSS2 and CD147 inhibitors, antivirals, cardioprotective agents and anti inflammatory drugs. Therapeutic perspectives of the various vaccines and diagnostic tests that are being developed are also discussed.

**REFERENCES**

- Lai, C. C., Shih, T. P., Ko, W. C. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents* 55, 105924, 2020.
- Gorbalenya, A. E., Baker, S., Baric, S. et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiol.* 5, 536–544, 2020.
- Ye, Z. W., Yuan, S., Yuen, K.S. et al. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int. J. Biol. Sci.* 16, 1686–1697, 2020.
- Fehr, A.R., Channappanavar, R., Perlman, S. Middle East respiratory syndrome (MERS): Emergence of a pathogenic human Coronavirus. *Annu. Rev. Med.* 68, 387–399, 2017.
- Konstantinidou, S. Papanastasiou, I.P. Repurposing current therapeutic regimens against SARS-CoV-2 (Review). *Exp. Ther. Med.* 2, 5–7, 2020.
- De Savi, C., Hughes, D. L., Kvaerno, L. Quest for a COVID-19 Cure by Repurposing Small-Molecule Drugs: Mechanism of Action, Clinical Development, Synthesis at Scale, and Outlook for Supply. *Org. Process Res. Dev.* 14, 940–976, 2020.
- Docea, A. O., Tsatsakis, D., Albulescu, D. et al. A new threat from an old enemy: Re-emergence of coronavirus (Review). *Int. J. Mol. Med.* 45, 1631–1643, 2020.
- Casalino, G., Monaco, G., Di Sarro, P.P. et al. Coronavirus disease 2019 presenting with conjunctivitis as the first symptom. *Eye (Basingstoke)* 34, 1235–1236, 2020.
- Chen, N. Zhou, M., Dong, X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 395, 507–513, 2020.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395, 497–506, 2020.
- Guan, W. Ni, Z., Hu, Y. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 382, 1708–1720, 2020.
- Marshall, M. The lasting misery of coronavirus long-haulers. *Nature* 585, 339–341 2020.
- Jin, J. M. Bai, P., He, W. et al. Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. *Front. Public Heal.* 8, 1–6, 2020.
- Yuki, K., Fujiogi, M. & Koutsogiannaki, S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin. Immunol.* 215, 108427, 2020.
- Li, Y., Zhou, W., Yang, L. & You, R. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. *Pharmacol. Res.* 157, 104833, 2020.
- Zeberg, H., Pääbo, S. The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neanderthals. *Nature* 587, 610–612, 2020
- Gil, C., Ginex, T., Maestro, I. et al. COVID-19: Drug Targets and Potential Treatments. *J. Med. Chem.* 63 (21), 12359–12386, doi:10.1021/acs.jmedchem.0c00606.
- Chen, Y., Liu, Q., Guo, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* 92, 418–423, 2020.
- Hou Y. J., Chiba S., Halfmann, Pet al. SARS-CoV-2



- D614G Variant Exhibits Enhanced Replication ex vivo and Earlier Transmission in vivo. *Science*, eabe8499, 2020. doi:10.1126/science.abe8499,
20. Ahidjo, B. A., Loe, M. W. C., Ng, Y. L. et al. Current Perspective of Antiviral Strategies against COVID-19. *ACS Infect. Dis.* 6, 1624–1634, 2020.
  21. Xiu, S., Dick, A., Ju, H. et al. Inhibitors of SARS-CoV-2 Entry: Current and Future Opportunities. *J. Med. Chem.* 63 (21), 12256–12274, 2020. doi:10.1021/acs.jmedchem.0c00502.
  22. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181, 271–280.e8, 2020.
  23. Cantuti-Castelvetri, L., Ojha, R., Pedro, L. et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science* 2985, 370 (6518), 856–860, 2020.
  24. Daly, J. L., Simonetti B., Klein K. et al. Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. *Science* 370 (6518), 861–865, 2020.
  25. Yan, T., Xiao, R., Lin, G. Angiotensin-converting enzyme 2 in severe acute respiratory syndrome coronavirus and SARS-CoV-2: A double-edged sword? *FASEB J.* 34, 6017–6026 (2020) doi:10.1096/fj.202000782.
  26. Zhang, H., Penninger, J. M., Li, Y. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 46, 586–590, 2020.
  27. Saavedra, J. M. Angiotensin receptor blockers and COVID-19. *Pharmacol. Res.* 156, 104832, 2020.
  28. Castiglione, V., Chiriaco M., Emdin M., Taddei Stefano, V. G. Statin therapy in COVID-19 infection. *Eur. Hear. J. - Cardiovasc. Pharmacother.* 6(4), 258–259, 2020. doi:10.1093/ehjcvp/pvaa042.
  29. Ulrich, H., Pillat, M. M. CD147 as a Target for COVID-19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. *Stem Cell Rev. Reports* 16, 434–440, 2020.
  30. Uno, Y. Camostat mesilate therapy for COVID-19. *Intern. Emerg. Med.* 15, 1577–1578, 2020.
  31. Rabaan, A. A. Middle East respiratory syndrome coronavirus: five years later. *Expert Rev. Respir. Med.* 11, 901–912, 2017.
  32. Zhou, Y., Vendantham, P., Lu, K. et al. Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry. *Antiviral Res.* 116, 76–84, 2015.
  33. Yamamoto, M., Matsuyama, S., Li, X. et al. Identification of nafamostat as a potent inhibitor of middle east respiratory syndrome Coronavirus s protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60, 6532–6539, 2016.
  34. Bojkova, D., Bechtel M., McLaughlin K. et al. Aprotinin Inhibits SARS-CoV-2 Replication. *Cells* 9, 2377, 2020.
  35. Stopsack, K. H., Mucci, L. A., Antonarakis, E. S. et al. TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or opportunity for intervention? *Cancer Discov.* 10, 779–782, 2020.
  36. Zhang, C., Wu, Z., Li, J.W., Zhao H. et al. The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and Interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist Tocilizumab may be the key to reduce the mortality. *Int. J. Antimicrob. Agents* 55(5), 105954, 2020.
  37. A Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Tocilizumab in Hospitalized Participants With COVID-19 Pneumonia - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04372186>.
  38. Roche - Roche provides an update on the phase III COVACTA trial of Actemra/RoActemra in hospitalised patients with severe COVID-19 associated pneumonia. <https://www.roche.com/investors/updates/inv-update-2020-07-29.htm>.
  39. Furlow, B. COVACTA trial raises questions about tocilizumab's benefit in COVID-19. *Lancet Rheumatol.* 2, e592, 2020.
  40. Andreaskos, E., Tsiodras, S. COVID-19: lambda interferon against viral load and hyperinflammation. *EMBO Mol. Med.* 12, e12465, 2020. doi:10.15252/emmm.202012465.
  41. RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. *N. Engl. J. Med.* (2020) doi:10.1056/nejmoa2021436.
  42. Deftereos, S. G., Siasos G., Giannopoulos G. et al. The Greek study in the effects of colchicine in COvid-19 complications prevention (GRECCO-19 study): Ra-

- tionale and study design. *Hell. J. Cardiol.* 61(1), 42-45, 2020. doi:10.1016/j.hjc.2020.03.002.
43. Colchicine Coronavirus SARS-CoV2 Trial (COLCORONA) - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04322682>.
  44. Relief Therapeutics and NeuroRx Release Data Showing Efficacy of Aviptadil in Patients with COVID-19 and Respiratory Failure. <https://www.trialsitenews.com/relief-therapeutics-and-neurorx-release-data-showing-efficacy-of-aviptadil-in-patients-with-covid-19-and-respiratory-failure/>.
  45. Intravenous Aviptadil for Critical COVID-19 With Respiratory Failure - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04311697>.
  46. Inhaled Aviptadil for the Prevention of COVID-19 Related ARDS - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04536350>.
  47. Martineau, A. R., Jolliffe, D.A., Richard L, Hooper, R.L. et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: Systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ* 356, 2017.
  48. Helming, L., Böse, J., Ehrchen, J. et al. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 is a potent suppressor of interferon  $\gamma$ -mediated macrophage activation. *Blood* 106, 4351-4358, 2005.
  49. Ilie, P. C., Stefanescu, S., Smith, L. The role of Vitamin D in the prevention of Coronavirus Disease 2019 infection and mortality CURRENT STATUS: POSTED. *Aging Clin. Exp. Res* 32(7),1195-1198, 2019. doi: 10.1007/s40520-020-01570-8.
  50. Evans, R. M., Lippman, S. M. Shining Light on the COVID-19 Pandemic: A Vitamin D Receptor Checkpoint in Defense of Unregulated Wound Healing. *Cell Metab.* 32, 704-709, 2020.
  51. Laing A. G., Lorenc A., del Molino del Barrio I. et al. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nat. Med.* 26, 1623-1635, 2020.
  52. Kox, M., Waalders, N. J. B., Kooistra, E. J. et al. Cytokine levels in critically ill patients with COVID-19 and other conditions. *JAMA* 324(15),1565-1567, 2020. doi:10.1001/jama.2020.17052.
  53. Warren, T. K., Jordan, R., Lo, M. et al. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature* 531, 381-385, 2016.
  54. Eastman, R. T., Roth, J.S., Brimacombe, K. et al. Remdesivir: A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. *ACS Cent. Sci.* 6, 5, 672-683, 2020. doi:10.1021/acscentsci.0c00489.
  55. Adaptive COVID-19 Treatment Trial (ACTT) - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04280705>.
  56. Beigel, J. H., Tomashek, K. M., Dodd, L. E. et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N. Engl. J. Med.* 383,1813-1826, 2020. doi:10.1056/nejmoa2007764.
  57. Wang, Y. Zhang, D., Du, G. et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 395 (10236), 1569-1578, 2020.
  58. FDA Approves First Treatment for COVID-19 | FDA. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-treatment-covid-19>.
  59. Solidarity Therapeutics Trial produces conclusive evidence on the effectiveness of repurposed drugs for COVID-19 in record time. <https://www.who.int/news/item/15-10-2020-solidarity-therapeutics-trial-produces-conclusive-evidence-on-the-effectiveness-of-repurposed-drugs-for-covid-19-in-record-time>.
  60. Dyer, O. Covid-19: Remdesivir has little or no impact on survival, WHO trial shows. *BMJ* 371, m4057, 2020.
  61. Baricitinib and remdesivir reduce time to recovery in COVID-19 patient trial. <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/128563/baricitinib-and-remdesivir-reduce-time-to-recovery-in-covid-19-patient-trial/>.
  62. Furuta, Y., Takahashi, K., Kuno-Maekawa, M. et al. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 981-986, 2005.
  63. Cinatl, J., Michaelis, M., Hoever, G. et al. Develop-

- ment of antiviral therapy for severe acute respiratory syndrome. *Antiviral Res.* 66, 81–97, 2005.
64. De Clercq, E. New Nucleoside Analogues for the Treatment of Hemorrhagic Fever Virus Infections. *Chem. Asian J.* 14, 3962–3968, 2019.
  65. Cao, B. Wang Y, Wen, D. et al. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 382, 1787–1799, 2020. doi:10.1056/NEJMoa2001282.
  66. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Revokes Emergency Use Authorization for Chloroquine and Hydroxychloroquine | FDA. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-revokes-emergency-use-authorization-chloroquine-and>.
  67. Gordon, D. E., Jang, G.M, Bouhaddou, M. et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature* 583, 459–468, 2020. doi:10.1038/s41586-020-2286-9.
  68. Schrezenmeier, E. Dörner, T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat. Rev. Rheumatol.* 16, 155–166, 2020.
  69. Mastaglio, S., Ruggeri, A., Risitano, A.M. et al. The first case of COVID-19 treated with the complement C3 inhibitor AMY-101. *Clin. Immunol.* 215, 108450, 2020.
  70. Chen, P, Nirula, A., Heller, B. et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 1–9, 2020. doi:10.1056/nejmoa2029849.
  71. Lilly's neutralizing antibody bamlanivimab (LY-CoV555) receives FDA emergency use authorization for the treatment of recently diagnosed COVID-19 | Eli Lilly and Company. <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/lillys-neutralizing-antibody-bamlanivimab-ly-cov555-receives-fda>.
  72. Statement-NIH-Sponsored ACTIV-3 Trial Closes LY-CoV555 Sub-Study | NIH: National Institute of Allergy and Infectious Diseases. <https://www.niaid.nih.gov/news-events/statement-nih-sponsored-activ-3-trial-closes-ly-cov555-sub-study>.
  73. Lilly provides comprehensive update on progress of SARS-CoV-2 neutralizing antibody programs | Eli Lilly and Company. <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/lilly-provides-comprehensive-update-progress-sars-cov-2>.
  74. World's Leading Life Science Companies Now Enrolling COMMUNITY, A Global Platform Trial For Hospitalized Patients with COVID-19. <https://www.takeda.com/newsroom/news-releases/2020/worlds-leading-life-science-companies-now-enrolling-community-a-global-platform-trial-for-hospitalized-patients-with-covid-19/>.
  75. Krammer, F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature* 586, 516–527, 2020. doi:10.1038/s41586-020-2798-3.
  76. Thanh Le, T., Andreadakis, Z., Kumar A. et al. The COVID-19 vaccine development landscape. *Nat. Rev. Drug Discov.* 305-306, 2020. doi:10.1038/d41573-020-00073-5.
  77. Fidel, P. L., Noveri, M. C. Could an unrelated live attenuated vaccine serve as a preventive measure to dampen septic inflammation associated with covid-19 infection? *MBio* 11(3), e00907-20, 2020.
  78. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>.
  79. COVAX: Working for global equitable access to COVID-19 vaccines. <https://www.who.int/initiatives/act-accelerator/covax>.
  80. A Study to Evaluate Efficacy, Safety, and Immunogenicity of mRNA-1273 Vaccine in Adults Aged 18 Years and Older to Prevent COVID-19 - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04470427>.
  81. Promising Interim Results from Clinical Trial of NIH-Moderna COVID-19 Vaccine | National Institutes of Health (NIH). [https://www.nih.gov/news-events/news-releases/promising-interim-results-clinical-trial-nih-moderna-covid-19-vaccine?fbclid=IwAR0NffJKFM-reWKmP3jq\\_Zx4g-JS\\_HvWcP9emQWyaeeuWqXproXk0CgDzJd8#.X7J9R-70yZA.facebook](https://www.nih.gov/news-events/news-releases/promising-interim-results-clinical-trial-nih-moderna-covid-19-vaccine?fbclid=IwAR0NffJKFM-reWKmP3jq_Zx4g-JS_HvWcP9emQWyaeeuWqXproXk0CgDzJd8#.X7J9R-70yZA.facebook).
  82. Promising Interim Results from Clinical Trial of NIH-Moderna COVID-19 Vaccine | National Institutes of Health (NIH).

83. Johnson & Johnson Initiates Pivotal Global Phase 3 Clinical Trial of Janssen's COVID-19 Vaccine Candidate | Johnson & Johnson. <https://www.jnj.com/johnson-johnson-initiates-pivotal-global-phase-3-clinical-trial-of-janssens-covid-19-vaccine-candidate>.
84. Novavax Initiates Phase 3 Efficacy Trial of COVID-19 Vaccine in the United Kingdom | Novavax Inc. - IR Site. <https://ir.novavax.com/news-releases/news-release-details/novavax-initiates-phase-3-efficacy-trial-covid-19-vaccine-united>.
85. Sanofi and Translate Bio mRNA COVID-19 vaccine candidate induced high antibody levels in preclinical studies - Sanofi. <https://www.sanofi.com/en/media-room/press-releases/2020/2020-10-15-14-00-00>.
86. Sanofi and GSK initiate Phase 1/2 clinical trial of COVID-19 adjuvanted recombinant protein-based vaccine candidate - Sanofi. <https://www.sanofi.com/en/media-room/press-releases/2020/2020-09-03-07-00-00>.
87. Folegatti, P. M., Ewer, KJ., Aley, P.K. et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 396, 467–478, 2020.
88. COVID-19 | BioNTech. <https://biontech.de/covid-19>.
89. Pfizer and BioNTech Announce Vaccine Candidate Against COVID-19 Achieved Success in First Interim Analysis from Phase 3 Study | Pfizer. <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-announce-vaccine-candidate-against>.
90. Pfizer and BioNTech Conclude Phase 3 Study of COVID-19 Vaccine Candidate, Meeting All Primary Efficacy Endpoints | Pfizer. <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-conclude-phase-3-study-covid-19-vaccine>.
91. Balakrishnan, V. S. The arrival of Sputnik V. *Lancet Infect. Dis.* 20, 1128, 2020.
92. Logunov, D. Y. et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet* 396, 887–897, 2020.
93. Second interim analysis of clinical trial data showed a 91.4% efficacy for the Sputnik V vaccine on day 28 after the first dose; vaccine efficacy is over 95% 42 days after the first dose | Official website vaccine against COVID-19 Sputnik V. <https://sputnikvaccine.com/newsroom/press-releases/second-interim-analysis-of-clinical-trial-data-showed-a-91-4-efficacy-for-the-sputnik-v-vaccine-on-d/>.
94. The Lancet. COVID-19 vaccines: no time for complacency. *Lancet* (London, England) 396, 1607, 2020.
95. Krause, P, Fleming, TR., Longini, I. et al. COVID-19 vaccine trials should seek worthwhile efficacy. *Lancet* 396, 741–743, 2020.
96. COVID-19 Vaccination Program Interim Operational Guidance for Jurisdictions Centers for Disease Control and Prevention (CDC) COVID-19 Vaccination Program Interim Playbook for Jurisdiction Operations. 2020.
97. ΕΟΔΥ, 2020. Οδηγίες για την εργαστηριακή διερεύνηση για το νέο κορωνοϊό SARS-CoV-2 <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2020/03/covid-19-ergastiriaki-diagnosi.pdf>.
98. Abbasi, J. The Promise and Peril of Antibody Testing for COVID-19. *JAMA* 323, 1881–1883, 2020.
99. CDC's Diagnostic Test for COVID-19 Only and Supplies | CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/virus-requests.html>.
100. Using Antibody Tests for COVID-19 | CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests.html>.