

# Koronawirus SARS-CoV-2

## nie jest sztucznym wytworem laboratoryjnym?

## Coronavirus SARS-CoV-2 is not an artificial laboratory product?

**prof. dr hab. Krzysztof L. Krzystyniak<sup>1, 2</sup>**

<sup>1</sup> Université du Québec à Montréal, Canada (emerytowany)

<sup>2</sup> Wyższa Szkoła Inżynierii i Zdrowia, Warszawa

■ **Słowa kluczowe:** koronawirus COVID-19, konwertaza angiotensyny 2 (ACE2), furyna, zespół ostrej niewydolności oddechowej (ARDS), ostre uszkodzenie płuc (ALI), chlorochina, lopinawir, remdesivir.

■ **Keywords:** coronavirus SARS-CoV-2, angiotensin convertase 2 (ACE2), furin, acute respiratory distress syndrome (ARDS), acute lung injury (ALI), chloroquine, lopinavir, remdesivir.

■ **Abstract:** Optimized high affinity binding of the COVID-19 viral spike receptors to human angiotensin convertase 2 (ACE2) receptor is most likely the result of natural selection of mutated virus strains. In addition, acquisition in viral spike polysaccharidess of polybasic cleavage sites susceptible to human furin protease is a plausible mechanism of converting low pathogenic virus strains into highly pathogenic. Overall analyses of viral genome convincingly show that COVID-19 is not a laboratory construct or a purposely manipulated virus.

### ■ Wprowadzenie

Dane dotyczące wcześniejszych epidemii koronawirusów SARS (2003 r.) i MERS (2012 r.) oraz wybitnie szybszego rozprzestrzeniania się nowego koronawirusa SARS-CoV-2 wywołującego chorobę COVID-19 (2019/20) (w tekście używane są zamiennie obie nazwy: SARS-CoV-2 i COVID-19) wskazują na optymalizację zdolności infekcyjnych tego ostatniego. Czy niespotykana dotąd wirulencja może być wynikiem naturalnego przeskoku zoonotycznego na człowieka, szybkich mutacji i naturalnej selekcji zmutowanych szczepów tego

koronawirusa? Odpowiedź na to pytanie jest możliwa dopiero po przeanalizowaniu zmian w genomie i różnic w mechanizmach zakażenia poznanych wcześniej dla koronawirusów, które atakują człowieka.

### ■ Udoskonalona infekcja wirusowa

COVID-19 jest siódmym znanym koronawirusem, z których większość powoduje u ludzi łagodne objawy grypopodobne i nie stanowi zagrożenia życia. Znany jest ogólny mechanizm wnikania koronawirusów do komórek gospodarza: dzięki charakterystycznym „kolcom”,

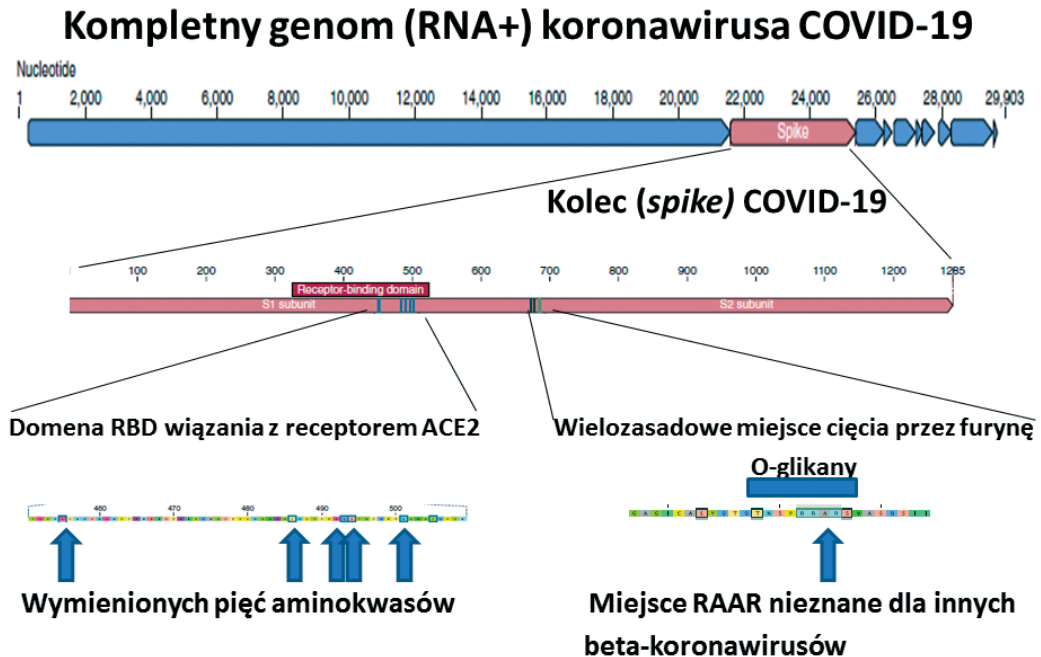
a raczej „wysięgnikom” (*spikes*), wirus ten może odnaleźć i przyłączyć się do odpowiedniego receptora na powierzchni atakowanych komórek. Kolce wirusa mają podwójną funkcję wiązania oraz fuzji z błoną komórkową zaatakowanej komórki [1]. Analiza genomu RNA wirusa COVID-19 wskazuje, że wirus ten zoptymalizował łączenie się z komórką gospodarza poprzez wymianę pięciu z sześciu kluczowych aminokwasów w miejscu wiązania, tzw. domeny wiązania receptora RBD (*receptor-binding domain*) wspomnianych kolców (ryc. 1). Wysokie powinowactwo kolców wirusowych z receptorem ACE2 (*angiotensin-converting enzyme 2*) komórek gospodarza z dużym prawdopodobieństwem jest wynikiem naturalnej selekcji, a nie sztucznej, celowej manipulacji [2].

## ■ Ułatwione proteolityczne działanie furyny

Człowiek produkuje ponad 550 proteaz działających jako „molekularne nożyczki”, tnące

białka. Jedną z kluczowych proteaz człowieka jest furyna (*furin*), proteaza serynowa tnąca ponad 150 białek wirusowych, bakteryjnych i własnych białkowych składników komórkowych [3].

Znanym substratem dla furyny są wirusowe glikoproteiny otoczki, obecne u wielu ewolucyjnie niespokrewnionych wirusów. Jakkolwiek furyna gromadzi się głównie w aparacie Golgiego, może być transportowana na powierzchnię komórki i z powrotem do endosomów. Wniknięcie wirusa COVID-19 wymaga aktywacji proteolitycznej, a ułatwieniem jest specyficzne dla furyny wirusowe wielozasadowe miejsce cięcia (*polybasic cleavage site*), w miejscu złącza dwóch podjednostek S1 i S2 omawianych kolców wirusowych. Wstawiony jest w tym miejscu aminokwas prolina oraz tlenowo przyłączone glikany [2]. Tak skonstruowane miejsce cięcia dla furyny jest specyficzne dla wirusa COVID-19 i nie występuje u innych beta-koronawirusów atakujących człowieka. Inaczej mówiąc, zoptymalizowany został niebęd-



**Rycina 1.** Modyfikacje genomu RNA koronawirusa COVID-19 w miejscu jego domeny wiązania receptora RBD (*receptor-binding domain*) kolców (*spikes*) wirusowych oraz tlenowo przyłączonych glikanów, odróżniających genom COVID-19 od genomu wirusa SARS wg [2]

ny dla wnikięcia wirusa etap aktywacji proteolitycznej przez furynę.

Podobne ułatwienie zainfekowania wirusem zaobserwowano w zagęszczonych przemysłowych hodowlach kurczaków, gdzie u wyselekcjonowanych szczepów wirusowych ptasiej grypy w ich białku hemaglutyninie pojawia się wielozasadowe miejsce cięcia dla proteazy. Dodajmy, że hemaglutynina wirusa grypy spełnia podobną funkcję w wiązaniu i wnikaniu do wnętrza komórek gospodarza, jak kolce koronawirusa. W przeciwieństwie do szczepów niskopatogennych, wysokopatogenne szczepy ptasiej grypy posiadają w swojej hemaglutynie wielozasadowe miejsce cięcia dla furyny [3]. Oznacza to, że możliwość wykorzystania furyny przez wirusa może zadecydować o drastycznych patogennych skutkach infekcji wirusowej. Terapeutyczne ograniczenie ilości lub aktywności furyny jest możliwe, niemniej długoterminowa inhibicja furyny i innych proteaz może być niekorzystna z uwagi na wymaganą aktywację proteolityczną setek białek komórkowych.

## ■ Płuczny układ reniny-angiotensyny RAS

Hormonalno-enzymatyczny układ RAS (*renin-angiotensin system*) kontroluje homeostazę tkanek i narządów: reguluje m.in. objętość krwi, stężenie elektrolitów, odpowiedź immunologiczną ustroju. Zaburzenie funkcjonowania układu RAS może prowadzić do nadciśnienia, chorób sercowo-naczyniowych/zawału, cukrzycy, zapalnych chorób płuc [4]. W naczyniach krwionośnych płuc, pod wpływem enzymu konwertazy (proteazy) ACE1 powstaje białko efektorowe angiotensyna II, regulator ciśnienia krwi.

W 2000 r. został wyizolowany i sklonowany enzym karboksypeptydaza ACE2 (*angiotensin convertase 2*), negatywny regulator układu RAS. Jest to kodowane w 10. chromoso-

mie transbłonowe białko złożone z 805 aminokwasów, jedynie w 41,8% podobne do odkrytego w 1956 r. enzymu ACE1 (kodowanego w 17. chromosomie), znanego wówczas jako „enzym konwertujący hipertensynę” [5]. Ogólnie ACE2 reguluje negatywnie układ RAS, działa jako peptydaza, odcinając jeden aminokwas i degradując angiotensynę II do heptapeptydu (Ang 1-7), kolejnego kluczowego składnika układu RAS. W tkance płuc ACE2 jest zakotwiczona w sfingolipidowo-cholesterolowych mikrodomenach błon komórkowych, częściowo jest też uwalniana. Hamowanie katalitycznej aktywności ACE2 zaburza funkcjonowanie układu RAS, co prowadzi do zwiększonej przepuszczalności naczyń i stanu zapalnego w płucach [4].

## ■ Receptor ACE2

W 2003 r. w czasie epidemii koronawirusa wywołującego zespół ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej SARS (*severe acute respiratory syndrome*) okazało się, że receptorem służącym do wnikania wirusa do komórek jest wspomniane transbłonowe białko konwertazy angiotensyny ACE2, niezależnie od jej funkcji katalitycznej jako enzymu peptydazy [5]. Po dokowaniu kolca wirusowego (*spike*) z błonową konwertazą ACE2 dochodzi do internalizacji/fuzji koronawirusa z błoną komórkową i wnikięcia kompleksu wirus-ACE2 do komórki. Proces ten, zwany endocytozą, prowadzi do wytworzenia pęcherzyków – endosomów zawierających w swym wnętrzu kompletne cząstki wirusowe. Terapeutyczne działanie chlorochiny (Arechin®) u osób zakażonych wirusem COVID-10 polega na podwyższeniu pH w endosomach, co przypuszczalnie interferuje z fuzją wirus/komórka, a także zakłóca glikozylację receptorów wirusa [6].

Komórki płuczne są wyposażone w receptor ACE2 i stanowią główny cel wirusa COVID-19, niemniej niektórzy pacjenci w Chinach wyka-

zywiali objawy niezwiązane z oddychaniem, jak np. niewydolność nerek, co sugeruje możliwość zaatakowania innych narządów. Receptor ACE2 występuje w takich tkankach, jak płuca, serce, przełyk, nerki, pęcherz i jelito cienkie. Zlokalizowano określone typy komórek posiadających receptor ACE2, tj. płucne komórki pęcherzykowe typu II (AT2), komórki mięśnia sercowego, proksymalne komórki kanałików nerkowych, jelita cienkiego, nabłonka przełyku i komórki urotelialne pęcherza [7]. Warto w tym miejscu nadmienić, że inny koronawirus, wykryty w 2012 r. azjatycki środkowo-wschodni wirus zespołu niewydolności oddechowej MERS (*Middle East respiratory syndrome*), wykorzystuje do dokowania i wnikania do wnętrza komórek inny receptor, tzn. dipeptydylopeptydazę 4 DPP4 (*dipeptidyl peptidase 4*) [8].

### ■ Potencjalne interwencje farmakologiczne w blokowaniu infekcji wirusa COVID-19

Nowy wirus COVID-19, jakkolwiek zmodyfikowany w miejscu molekularnego rozpoznawania receptora komórkowego ACE2 i w miejscu proteolitycznego cięcia nukleokapsydu, posiada genom w 79% kompatybilny z genomem wirusa SARS i nie wydaje się, aby modyfikacje te istotnie wpłynęły na jego replikację, składanie i wysyp z komórek gospodarza [2] (ryc. 2, s. 33). Szczegółowo znany jest mechanizm infekcji i namnażania koronawirusów SARS i MERS w komórkach gospodarza [9], który można podzielić na poszczególne etapy:

I. Powinowactwo kolców wirusowych do komórkowych białek transbłonowych ACE2 (SARS) lub DPP4 (MERS) pozwala na molekularne dokowanie kolca wirusowego, fuzję i wniknięcie wirusa do wnętrza komórek gospodarza. Hamowanie tego etapu wymaga podania monoklonalnego przeciwciała przeciw białku kolca wirusowego (CR3022) [10] lub

przeciw receptorowi komórek gospodarza, tzn. anty-ACE2 [11]. Należy dodać, że miejsce dokowania kolca wirusowego różni się od miejsca aktywności enzymatycznej ACE2 [5]. Rozważane jest również podawanie inhibitorów układu reniny-angiotensyny RAS, w tym inhibitorów ACE1 [12].

II. Możliwe jest blokowanie wirusa na etapie fuzji i wytworzenia endosomów, gdzie dochodzi do proteolitycznego uwolnienia RNA wirusowego przy udziale wspomnianej proteazy serynowej furyny (ryc. 2). Alkilacja miejsca aktywnego furyny nieodwracalnie blokuje aktywność enzymatyczną tej proteazy [3]. Makrocycliczne inhibitory furyny są na etapie badań przedklinicznych [13]. W modelu zwierzęcym nadmiar żelaza powodował 70% obniżenie poziomu mRNA furyny [14]. Zaproponowano hamowanie zakwaszania endosomów chlorochiną (Arechin®), znanym lekiem przeciwmalarycznym [6]. Wykazano też wrażliwość wirusa MERS na słabą zasadę NH<sub>4</sub>Cl, przypuszczalnie obniżającą aktywność endosomalnych katepsyn [1]. Zaproponowano również podawanie hydroksychlorochiny (*hydroxychloroquine*; Plaquenil®). Plaquenil należy do grupy leków przeciwwzapalnych i immunosupresyjnych z grupy 4-aminochinolin [15].

III. Uwolnienie RNA wirusowego do cytoplazmy komórki rozpoczyna translację najpierw 2/3 genomu (ORF1, ORF2) kodującego wirusowe białka niestrukturalne, w tym proteazy wirusowe [9]. Lopinawir/rytonawir – Kaletra®, AbbVie® (preparat zarejestrowany w Polsce: Lopinavir+Ritonavir Accord®) jest inhibitorem proteaz koronawirusa, z kolei rytonawir hamuje zależny od cytochromu CYP3A enzym degradujący lopinawir i tym samym utrzymuje terapeutyczne stężenie lopinawiru w surowicy krwi [16].

IV. Kopie ujemnego RNA wirusowego służą do namnażenia genomu RNA<sup>+</sup>, czyli do replikacji genomów wirusowych [9]. Remdesivir, analog nukleotydu adenozyne, działa hamująco na wi-

rusy SARS i MERS na etapie po wnikięciu do komórek, wbudowując się i powodując przedwczesne zakończenie syntezy RNA wirusowego. Remdesivir został zaproponowany jako terapeutyk w leczeniu infekcji koronawirusowej COVID-19 [17].

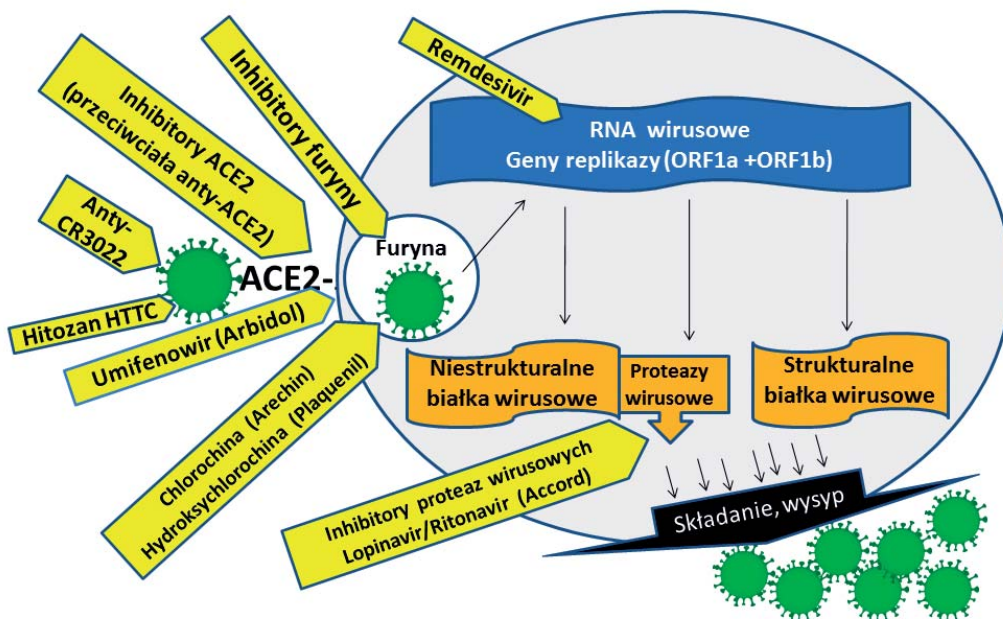
V. Rozprzestrzenianie się wirusa może zostać zahamowane przede wszystkim dzięki naturalnej odporności (*innate immunity*) przeciwwirusowej oraz specyficznej odpowiedzi immunologicznej ustroju. Koronawirusy rozwinęły różne mechanizmy ucieczki przed odpowiedzią immunologiczną ustroju, a przeciwdziałanie tym mechanizmom nie zawsze jest skuteczne [18]. Jest to bardzo obszerny temat, wymagający osobnego omówienia.

## Podsumowanie

Zakażenie koronawirusem COVID-19 osób z grupy ryzyka (osoby starsze, cierpiące

na cukrzycę, inne choroby współtowarzyszące) może wywołać zespół ostrej niewydolności oddechowej ARDS (*acute respiratory distress syndrome*), który jest najcięższą postacią ostrego uszkodzenia płuc ALI (*acute lung injury*), ogólnie z śmiertelnością 35–45% pacjentów przebywających na OIOM-ie [12]. Aktualnie nie ma szczepionki przeciw wirusowi COVID-19. Potwierdzeniem wyjątkowej zmienności koronawirusów mogą być najnowsze wyniki analizy 160 genomów tych wariantów, które aktualnie rozprzestrzeniły się po całym świecie [19]. Typy A i C drzewa genealogicznego SARS-CoV-2 dominują w Europie i Ameryce Północnej, natomiast typ B pochodzi z Wuchan (Chiny). Dwa subwarianty A są najbardziej zbliżone do genomu koronawirusa nietoperzy (96,2% podobieństwa sekwencji genetycznej). Typ B dominuje w Azji Wschodniej i jak się wydaje nie rozprzestrzenił się poza Azję. Wariant C różni się od B jedną mutacją (G26144T: za-

## Możliwe interwencje farmakologiczne w etapach infekcji i replikacji COVID-19



**Rycina 2.** Uproszczony schemat infekcji i namnażania koronawirusa COVID-19, ze wskazaniem możliwych interwencji terapeutycznych

miana aminokwasu glicyny na walinę), dominuje we Francji, Włoszech, Szwecji, Anglii, w Kalifornii (USA) i w Brazylii, jest znajdowany w Singapurze, Hong Kongu oraz Korei Południowej.

Nie sposób jednak pominąć milczeniem odrębne zdanie profesora **Luca Montagnera**, francuskiego noblisty, odkrywcy wirusa HIV, który dopuszcza możliwość ucieczki laboratoryjnego wirusa. Jest możliwe, że chińscy naukowcy pracując nad szczepionką przeciw wirusowi HIV, próbowali wykorzystać koronawirusa SARS jako matrycę. Świadczyłaby o tym zbieżność kilku aminokwasowych fragmentów kolca wirusowego COVID-19 z wirusem HIV.

© P

prof. dr hab. Krzysztof L. Krzystyniak  
ball@medyk.com.pl  
Nadesłano: 12-03-2020

### Piśmiennictwo:

1. Millet JK, Whittaker GR. (2015). Host cell proteases: Critical determinants of Coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Res.* 202, 120-134. doi:10.1016/j.virusres.2014.11.021.
2. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, i in. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Med.* doi: 10.1038/s41591-020-0820-9.
3. Braun E, Sauter D. (2019). Furin<sub>2</sub>-mediated protein processing in infectious diseases and cancer. *Clin Translat Immunol.* 8(8). doi:10.1002/cti2.1073.
4. Jia, H. (2016). Pulmonary angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and inflammatory lung disease. *SHOCK*, 46(3), 239–248. doi:10.1097/shk.0000000000000633.
5. Kuba K, Imai Y, Ohto-Nakanishi T, Penninger JM. (2010). Trilogy of ACE2: A peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters. *Pharmacol Therapeut.* 128(1), 119–128. doi:10.1016/j.pharmthera.2010.06.003.
6. Gao, J., Tian, Z., & Yang, X. (2020). Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 asso-

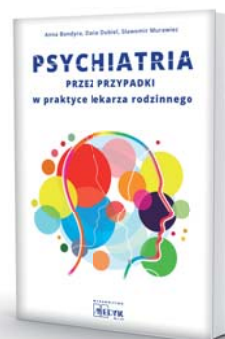
- ciated pneumonia in clinical studies. *BioScience Trends.* doi:10.5582/bst.2020.01047.
7. Zou X, Chen K, Zou J, i in. (2020). Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *FrontMed.* doi: 10.1007/s11684-020-0754-0.
8. Rabaan AA, Alahmed SH, Bazzi AM Hatem M. Alhani HM. (2017). A review of candidate therapies for Middle East respiratory syndrome from a molecular perspective. *J Med Microbiol.* 66: 1261- 1274. doi: 10.1099/jmm.0.000565.
9. Kindler E, Thiel V, Weber F. (2016). Interaction of SARS and MERS Coronaviruses with the antiviral interferon response. *Adv Virus Res.* 219–243. doi:10.1016/bs.avir.2016.08.006.
10. Tian X, Li C, Huang A, i in. (2020). Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microb Infect.* 9(1), 382 385. doi:10.1080/22221751.2020.1729069.
11. Shanmugaraj B, Siriwhattananon K, Wangkanont K, Phoolcharoen W. (2020). Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac J Allergy Immunol.* 38:10-18 DOI 10.12932/AP-200220-0773.
12. Tan WSD, Liao W, Zhou S, i in. (2018). Targeting the renin-angiotensin system as novel therapeutic strategy for pulmonary diseases. *Curr Opin Pharmacol.* 40, 9–17. doi:10.1016/j.coph.2017.12.002.
13. Van LT, Ivanova, T, Hardses K., i in. (2019). Design, synthesis and characterization of new macrocyclic inhibitors of the proprotein convertase furin. *ChemMedChem.* doi:10.1002/cmdc.201800807.
14. Wichaiyo S, Yatmark P, Vargas RE, i in. (2015). Effect of iron overload on furin expression in wild-type and beta-thalassemic mice. *Toxicol Rep.* 2: 415-422.
15. Yao, X., Ye, F, Zhang, M., i in. (2020). In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis.* doi:10.1093/cid/ciaa237.
16. Yao TT, Qian JD, Zhu WY, i in. (2018). A systematic review of lopinavir therapy for SARS Coronavirus and MERS Coronavirus-a possible reference for Coronavirus disease-19 treatment option. *J Med Virol.* doi:10.1002/jmv.25729.
17. Wang M, Cao R, Zhang L, i in. (2020) Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* 30: 269-271. doi:10.1038/s4122-20-282-0.
18. Neilemans T, Kikkert M. (2019). Viral innate immune evasion and the pathogenesis of emerging RNA virus infections. *Viruses*, 11(10), 961. doi:10.3390/v11100961.
19. Forster P, Forster L, Renfrew C, Forster M. (2020). Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes . *PNAS* doi: 10.1073/pnas.2004999117.

## POLECAMY

### Psychiatria przez przypadki w praktyce lekarza rodzinnego

Anna Bondyra, Sławomir Murawiec, Daria Dubiel

Książka zawiera opisy przypadków pacjentów z zaburzeniami hipochondrycznymi, nastroju, nerwicowymi i bezsennością, z chorobami współistniejącymi oraz diagnozy złożone (np. mieszane zaburzenia lękowe), w rzeczywistości występujące o wiele częściej niż „czyste” case'y, które znajdziemy w wytycznych. Cena detaliczna 59 zł



WYDAWNICTWO  
**MEDYK**  
Sp. z o.o.

# RABAT - 50%

www.sklep.medyk.com.pl | Użyj kodu: COVID19