



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας  
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών  
ΜΠΣ Βιοϊατρικές μέθοδοι και τεχνολογία στη διάγνωση



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Ανοσολογικές και φαρμακολογικές προσεγγίσεις στην πρόληψη, αντιμετώπιση και θεραπεία του ιού SARS-Cov-COVID-19. Παρούσα κατάσταση και μελέτη νέων συνθετικών και φυσικών βιοδραστικών μορίων.**

POST GRADUATE THESIS

**Immunological and pharmacological approaches to the prevention, treatment and therapy of the SARS-Cov-COVID-19 virus. Current state and study of new synthetic and natural bioactive molecules.**

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ(ΤΩΝ)/NAME OF STUDENTS

**Λορένα Μέρκο**

Lorena Merko

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

**Γεώργιος Αλβέρτος Καρίκας**

George Albert Karikas

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2022



Faculty of Health and Caring Professions  
Department of Biomedical Sciences  
Postgraduate program:  
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS

**Immunological and pharmacological approaches to the prevention, treatment, and therapy of the SARS-Cov-COVID-19 virus. Current state and study of new synthetic and natural bioactive molecules.**

Lorena Merko

DML20016

[Lorenamerko123@outlook.com](mailto:Lorenamerko123@outlook.com)

FIRST SUPERVISOR

George Albert Karikas

SECOND SUPERVISOR

Petros Karkalousos

AIGALEO 2022

## **Επιτροπή εξέτασης**

Ημερομηνία εξέτασης: 08/7/2022

	<b>Ονόματα εξεταστών</b>	<b>Υπογραφή</b>
<b>1<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>	Γεώργιος Αλβέρτος Καρίκας	
<b>2<sup>ος</sup> Εξεταστής</b>	Πέτρος Καρκαλούσος	

## **Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας**

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/η Λορένα Μέρκο του Καρεμάν Μέρκο, με αριθμό μητρώου dml20016 φοιτητής/τρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα

Όνομα(τα) φοιτητή(των)

## **Ευχαριστίες**

Ολοκληρώνοντας τις μεταπτυχιακές μου σπουδές με την συγκεκριμένη διπλωματική εργασία θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές και συναδέλφους μου για την συμβολή τους κατά την διάρκεια των σπουδών μου.

Επιθυμώ να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως τους καθηγητές μου και επιβλέποντες της παρούσας διπλωματικής εργασίας, Γεώργιος Αλβέρτος Καρίκας και Πέτρος Καρκαλούσος για την επιστημονική υποστήριξη και καθοδήγηση σε όλα τα στάδια της διπλωματικής εργασίας.

Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και ιδιαίτερα τον άντρα μου που στάθηκαν δίπλα μου.

## **Αφιερώσεις**

Πόλεμος είναι όταν αλληλοσκοτώνονται άνθρωποι που δεν γνωρίζονται μεταξύ τους, επειδή κάποιοι άλλοι, που γνωρίζονται καλά μεταξύ τους, δεν κατάφεραν να συνεννοηθούν.

Πωλ Βαλερύ, 1871-1945, Γάλλος ποιητής.

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Στις 11 Μαρτίου 2020 Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας κήρυξε τον COVID-19 πανδημία, που προκλήθηκε από τον SARS-CoV-2. Η κύρια επίδραση του SARS-CoV-2 είναι στα κύτταρα του ανθρώπινου αναπνευστικού συστήματος. Επί του παρόντος, υπάρχουν πολλά εμπορικά κιτ ανίχνευσης SARS-CoV-2. Αυτά μπορούν να προσδιορίσουν συγκεκριμένες περιοχές ιογενών γονιδίων μέσω τεχνικών PCR, αντισώματα που παράγονται από το ανοσοποιητικό σύστημα με δοκιμές ανοσοσφαιρίνης και αντιγόνα με δοκιμασίες πλευρικής ροής.

**Σκοπός:** Παρουσίαση των ανοσολογικών και φαρμακολογικών προσεγγίσεων στην πρόληψη, αντιμετώπιση και θεραπεία του ιού SARS-Cov-COVID-19.

**Μέθοδος:** Βιβλιογραφική επισκόπηση.

**Αποτελέσματα:** Υπάρχουν διάφοροι τρόποι για την ανίχνευση της νόσου SARS-Cov-COVID-19, όπως μέθοδοι RT-PCR, ανίχνευσης αντισωμάτων, ανίχνευσης αντιγόνων και άλλες. Επιπλέον, για την αντιμετώπιση του ιού έχουν προταθεί μία σειρά από λύσεις που χωρίζονται σε προληπτικές μεθόδους (όπως τα εγκεκριμένα εμβόλια) αλλά και σε μία σειρά λύσεων όπως αντιφλεγμονώδη (κολχικίνη και άλλα σκευάσματα) καθώς και αντικα (remdesivir, favipiravir) και άλλα γνωστά σκευάσματα, όπως το arbidol, osteltamivir, IFN, ivermectin και άλλα ενώ γίνεται συνεχώς έρευνα νέων συνθετικών φυσικών μορίων, όπως οι δολαστατίνες και η ελλειπτική.

**Συμπεράσματα:** Υπάρχουν τρόποι αντιμετώπισης αλλά και πρόληψης της νόσου SARS-Cov-COVID-19. Στον τομέα της αντιμετώπισης σημαντικό ρόλο παίζουν φαρμακευτικά σκευάσματα που είχαν άλλες εφαρμογές καθώς και η σύνθεση νέων φυσικών/συνθετικών σκευασμάτων.

Λέξεις κλειδιά: COVID-19, SARS, PCR, antibody

## Abstract

**Introduction:** On March 11, 2020 The World Health Organization declared COVID-19 a pandemic, caused by SARS-CoV-2. The main effect of SARS-CoV-2 is on the cells of the human respiratory system. Currently, there are many commercial SARS-CoV-2 detection kits. These can identify specific areas of viral genes through PCR techniques, antibodies produced by the immune system with immunoglobulin tests and antigens with lateral flow tests.

**Purpose:** Presentation of immunological and pharmacological approaches in the prevention, treatment and therapy of the SARS-Cov-COVID-19 virus.

**Method:** Bibliographic overview.

**Results:** There are several ways to detect SARS-Cov-COVID-19 disease, such as PT-PCR, antibody detection, antigen detection and more. There are also various treatments, such as prevention with vaccines but also treatment with anti-inflammatory and antivirals, some of which have been used in the past for other diseases (favipiravir, anti-inflammatory, colchicine) but also new formulations of synthetic natural molecules.

**Conclusions:** There are ways to treat and prevent SARS-Cov-COVID-19 disease. In the field of treatment, an important role is played by medicines that had other applications as well as the synthesis of new natural / synthetic preparations.

**Key words:** COVID-19, SARS, PCR, antibody.



## Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες.....	v
Αφιερώσεις.....	vi
Περίληψη.....	vii
Abstract .....	viii
Συνομογραφίες.....	1
Πρόλογος.....	2
Εισαγωγή.....	4
1. Η νόσος COVID – Επιδημιολογία.....	4
2. Μέθοδοι Διάγνωσης.....	6
2.1 RT-PCR.....	7
2.2 Μέθοδοι ανίχνευσης αντισωμάτων.....	10
2.3 Μέθοδοι ανίχνευσης αντιγόνων.....	12
2.4 Άλλες Μέθοδοι.....	13
3. Μοριακός μηχανισμός εισόδου του ιού σε κυτταρικό επίπεδο.....	14
3.1 Ακίδα και συγγένεια δέσμευσης.....	15
3.2 Ενεργοποίηση πρωτεάσης.....	16
3.3 Προληπτικές μέθοδοι - εγκεκριμένα εμβόλια.....	19
3.4 Μεταλλάξεις.....	21
3.4.1 B.1.1.7.....	22
3.4.2 Παραλλαγή Νότιας Αφρικής (Beta).....	22
3.4.3 Βραζιλιάνικη παραλλαγή.....	22
3.4.4 Παραλλαγή Midwest των ΗΠΑ.....	23
3.4.5 B.1.526 και B.1.525.....	23
3.4.6 Παραλλαγή διπλής μετάλλαξης - B.1.617 (Delta).....	23
3.4.7 Τριπλή παραλλαγή μετάλλαξης.....	23
3.4.8 N440K.....	24
3.4.9 B.1.1.529 (Omicron).....	24
4. Αντιφλεγμονώδη - αντικά σε χρήση και επαναξιολόγηση γνωστών φαρμάκων.....	24
4.1 Αντικά.....	25
4.1.1 Remdesivir (RDV).....	25
4.1.2 Favipiravir (FPV).....	26

4.2 Αντιφλεγμονώδη .....	26
4.2.1 Κολχικίνη .....	28
4.3 Γνωστά σκευάσματα .....	29
5. Φαρμακολογική έρευνα νέων συνθετικών φυσικών μορίων.....	32
6. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	35
Αναφορές.....	37
Figure 1 Covid-19, Πηγή: WHO.....	4
Figure 2 Μαθηματικό μοντέλο για την εξάπλωση της νόσου, Πηγή: Kyrychko et al (2020)	5
Figure 3 RT-PCR Πηγή: IAEA.org .....	8
Figure 4 Remdesvir, Πηγή: Npr.org .....	25
Figure 5 Colchicine, Πηγή:pubchem.ncbi.nih.gov .....	28
Figure 6 Arbidol, Πηγή: Newdrugapprovals.org.....	29
Figure 7 Lopinavir, Πηγή: pubchem.ncbi.nih.gov.....	31

## Συντομογραφίες

Συντομογραφία	Ελληνικά	Αγγλικά
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome	Οξύ Σύνδρομο του Αναπνευστικού
MERS	Middle East Respiratory Syndrome	Αναπνευστικό σύνδρομο της μέσης Ανατολής
WHO	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
PCR	Polymerase chain Reaction	Μοριακή Μέθοδος Ανάλυσης
RNA	Ribonucleic Acid	Ριβονουκλεϊκό Οξύ
FDA	Food Drug Administration	Υπουργείο τροφίμων και φαρμάκων
LFA	Lateral Flow Immunoassay	ανοσοδοκιμασία πλευρικής ροής
ELISA	Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay	Ενζυμική Ανοσοροφητική Δοκιμασία

## Πρόλογος

Στην παρούσα εργασία, θα γίνει μια παρουσίαση των φαρμακολογικών, ανοσολογικών και θεραπευτικών προοπτικών που υπάρχουν σήμερα για την αντιμετώπιση του ιικού φορτίου και των συμπτωμάτων της νόσου που έχει πλήξει ολόκληρο τον πλανήτη, τον Covid – 19. Στόχος της εργασίας είναι να ξεκαθαρίσει το τοπίο σχετικά με τις φυσικές και συνθετικές ενώσεις που μπορούν να λειτουργήσουν ως στόχοι υποδοχέων του εν λόγω ιού.

Από την τελευταία εκτίμηση κινδύνου, η συχνότητα εμφάνισης του COVID-19 έχει αυξηθεί παγκοσμίως, αρχικά λόγω της μετάδοσης της παραλλαγής Δέλτα, ιδίως στην Ευρωπαϊκή Περιφέρεια. Στη συνέχεια, μετά τον εντοπισμό της παραλλαγής Omicron στη Νότια Αφρική, που αναφέρθηκε στον ΠΟΥ στις 24 Νοεμβρίου 2021, σημειώθηκε απότομη αύξηση της συχνότητας εμφάνισης κρουσμάτων στην αφρικανική ήπειρο. Ακολούθησε αύξηση των άλλων περιφερειών της ΠΟΥ κατά τις εβδομάδες 51 και 52 (WHO, 2022). Αντίθετα, έχει παρατηρηθεί παγκόσμια μείωση της θνησιμότητας από covid-19 από την κορύφωση, που παρατηρήθηκε τον Αύγουστο του 2021 (WHO, 2022). Ωστόσο, ένας συνδυασμός της αυξημένης και ταχείας εξάπλωσης της παραλλαγής Omicron, των αυξημένων μετακινήσεων του πληθυσμού και της κοινωνικής ανάμειξης κατά τη διάρκεια και μετά το τέλος του έτους και των συστάσεων για τη συνεχή τήρηση των μέτρων δημόσιας υγείας και κοινωνικής πρόνοιας αναμένεται να οδηγήσει σε αυξημένο αριθμό κρουσμάτων, νοσηλειών και θανάτων τις αμέσως επόμενες εβδομάδες (WHO, 2022).

Επί του παρόντος, υπάρχουν πολλά εμπορικά kit ανίχνευσης SARS-CoV-2, στα οποία χορηγήθηκε άδεια χρήσης έκτακτης ανάγκης, (Broughton et al, 2020).

Αυτά μπορούν να προσδιορίσουν:

α) Συγκεκριμένες περιοχές ιογενών γονιδίων μέσω τεχνικών PCR και ενίσχυση ισοθερμικού νουκλεϊκού οξέος,

β) τα αντισώματα που παράγονται από το ανοσοποιητικό σύστημα για την αντιμετώπιση της ιογενούς λοίμωξης /δοκιμές ανοσοσφαιρίνης G

γ) τα αντιγόνα με δοκιμασίες πλευρικής ροής.

Οι παραπάνω διαδικασίες πρέπει να εκτελούνται σε πιστοποιημένα εργαστήρια από εκπαιδευμένο προσωπικό, υπό καθορισμένες πειραματικές και βιολογικές συνθήκες επιπέδου ασφάλειας.

Οι ορολογικές εξετάσεις δεν διαγιγνώσκουν άμεσα την παρουσία του ιού, αλλά τα μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως το IgM και το IgG, που παράγονται από το σώμα όταν συναντώνται με τον ιό. Οι εξετάσεις IgG/IgM (λεγόμενες και δοκιμασίες rapid-testing, οι οποίες αποτελούν και τη βάση για τα λεγόμενα self-tests), θα μπορούσαν να διαδραματίσουν κεντρικό ρόλο στην καταπολέμηση του COVID-19 ταξινομώντας με ακρίβεια τα άτομα που ανέπτυξαν ανοσολογική απόκριση λόγω της λοίμωξης SARS-CoV-2 (Lai et al, 2020). Αν και τα τεστ αυτά χρησιμοποιούνται για έμμεση διάγνωση, για τεράστια σάρωση ανοσίας της αγέλης και για στατιστικές ποσοστού θνησιμότητας, εν τούτοις τα ποσά αντισωμάτων, που παράγονται τις πρώτες ημέρες της λοίμωξης μπορεί να είναι ανεπαρκή για την ανίχνευση ώστε να οδηγούν σε λανθασμένα συμπεράσματα (Diao et al, 2020). Επιπλέον, η διάρκεια ζωής των παραγόμενων αντισωμάτων, καθώς και η αποτελεσματικότητα, εξακολουθεί να είναι ασαφής, περιορίζοντας τη συμμετοχή των ταχειών τεστ αντισωμάτων στην πανδημία COVID-19 ως ισχυρό εργαλείο διάγνωσης και επιτήρησης. Η μέθοδος RT-PCR παραμένει η πιο αξιόπιστη (Yuce et al, 2021).

## Εισαγωγή

### 1. Η νόσος COVID – Επιδημιολογία

Οι κορωνοϊοί ανήκουν στην οικογένεια Coronaviridae, η οποία προκαλεί διάφορες ασθένειες, όπως το κοινό κρυολόγημα από ιούς SARS και MERS. Ο κορωνοϊός υπάρχει ασυμπτωματικός στα θηλαστικά και πτηνά (Cui et al, 2019). Μέχρι στιγμής, έχουν ανακαλυφθεί έξι είδη κορωνοϊών που προσβάλλουν τον άνθρωπο.

Το σύνδρομο coronavirus αναφέρθηκε για πρώτη φορά τον Δεκέμβριο του 2019 στη Γουχάν, Κίνα (Lai et al, 2020). Τα κοινά συμπτώματα περιλαμβάνουν πυρετό, ξηρό βήχα και κόπωση, αλλά σε οξείες περιπτώσεις, η ασθένεια μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρή δύσπνοια, υποξία και θάνατο. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, έχουν εντοπιστεί τρεις κύριες οδοί μεταφοράς: Υγρά από οδούς επαφής, μετάδοση μέσω κοπράνων και σταγονίδια από του στόματος, (Lai et al, 2020).

Στις 11 Μαρτίου 2020 Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας κήρυξε τον COVID-19 πανδημία, που προκλήθηκε από τον SARS-CoV-2. Η κύρια επίδραση του SARS-CoV-2 είναι στα κύτταρα του ανθρώπινου αναπνευστικού συστήματος. Ωστόσο, νέες μελέτες αποκάλυψαν τις επιπτώσεις του ιού κύτταρα του γαστρεντερικού σωλήνα, του απεκκριτικού συστήματος (νεφροί), του ήπατος, του παγκρέατος, των οφθαλμών και του εγκεφάλου. Ο ιός SARS-CoV-2 είναι κατά 79% και 50%, παρόμοιος με τους ιούς SARS και MERS, αντίστοιχα ως προς το γενετικό υλικό (Lai et al, 2020).

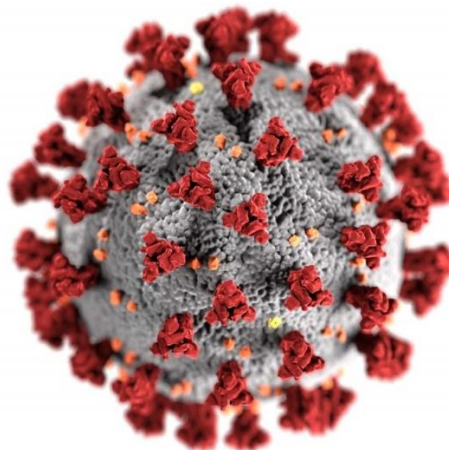


Figure 1 Covid-19, Πηγή: WHO

Όπως προαναφέρθηκε, η μόλυνση από τον SARS-CoV-2 αναφέρθηκε για πρώτη φορά στη Γουχάν τον Δεκέμβριο του 2019 και στη συνέχεια εξαπλώθηκε ραγδαία σε όλο

τον κόσμο, προκαλώντας πάνω από 14 εκατομμύρια ενεργά κρούσματα με τουλάχιστον 582.000 θανάτους ως τον Ιούλιο του 2020 (Sayed et al., 2020).

Συνήθως, στα αρχικά στάδια της λοίμωξης COVID-19, τα πιο συχνά συμπτώματα της μόλυνσης μπορεί να είναι πυρετός, ξηρός βήχας και κόπωση. Λιγότερο συνηθισμένα συμπτώματα είναι ναυτία ή έμετος, μυϊκός πόνος ή πόνος στις αρθρώσεις, πονόλαιμος, απώλεια όσφρησης ή γεύσης ή και τα δύο, ρινική συμφόρηση, επιπεφυκίτιδα, κεφαλαλγία, διάφοροι τύποι δερματικών εξανθημάτων, διάρροια, ρίγος, και ζάλη (Lai et al, 2020). Στα στάδια εξέλιξης της νόσου, ο ασθενής έχει σοβαρή δύσπνοια, μειωμένο οξυγόνο αίματος, καταστροφή των πνευμόνων, και διάφορες δυσλειτουργίες οργάνων. Πιο σοβαρές και σπάνιες νευρολογικές επιπλοκές όπως εγκεφαλικό επεισόδιο, εγκεφαλίτιδα, παραλήρημα και βλάβη των νεύρων είναι άλλες επιπλοκές του COVID-19 που έχουν αναφερθεί.

Σύμφωνα με τα στοιχεία του WHO (ΠΟΥ) για τον Ιανουάριο του 2022, σε παγκόσμιο επίπεδο, ο αριθμός των νέων κρουσμάτων COVID-19 αυξήθηκε, ενώ ο αριθμός των νέων θανάτων παρέμεινε περίπου σταθερός (τα στοιχεία αναφέρονται στο τέλος του Ιανουαρίου, 2022, WHO, 2022). Σε όλες τις (έξι) περιφέρειες του ΠΟΥ, αναφέρθηκαν πάνω από 18 εκατομμύρια νέα κρούσματα στα μέσα του Ιανουαρίου, αύξηση 20%, σε σύγκριση με την αρχή του μήνα. Αναφέρθηκαν επίσης πάνω από 45.000 νέοι θάνατοι. Από τις 16 Ιανουαρίου 2022, πάνω από 323 εκατομμύρια επιβεβαιωμένα κρούσματα και πάνω από 5,5 εκατομμύρια θάνατοι έχουν αναφερθεί παγκοσμίως (WHO, 2022).

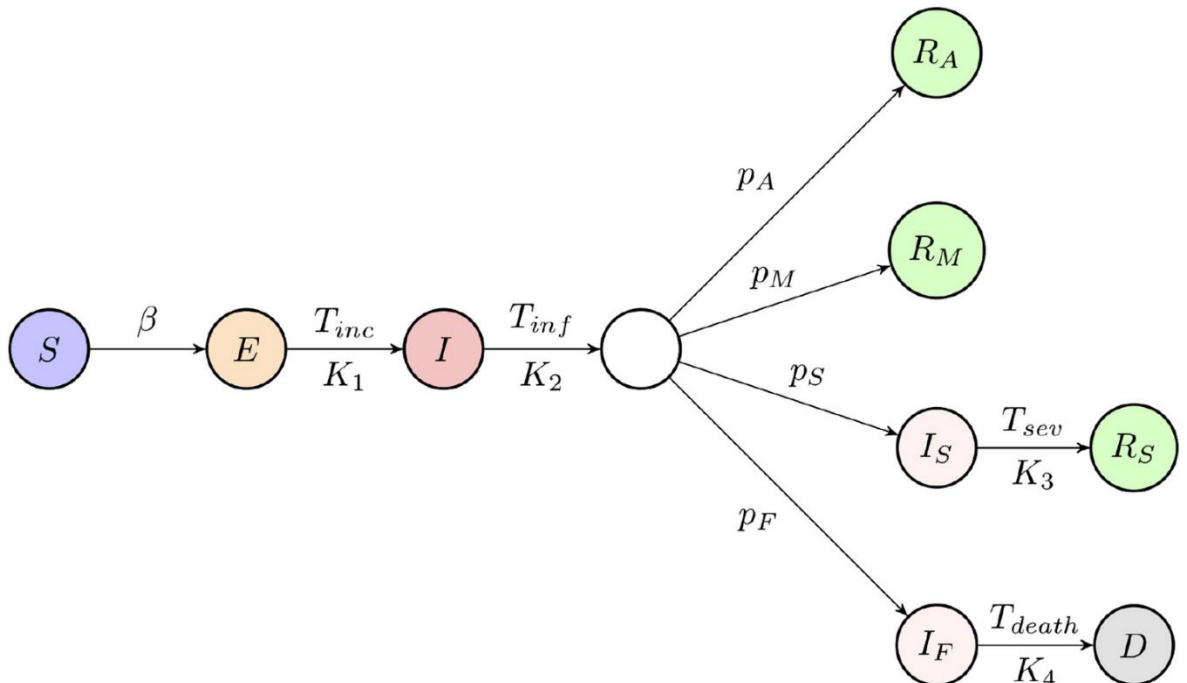


Figure 2 Μαθηματικό μοντέλο για την εξάπλωση της νόσου, Πηγή: Kyrychko et al (2020)

Παρά την επιβράδυνση της αύξησης των κρουσμάτων σε παγκόσμιο επίπεδο, όλες οι περιφέρειες ανέφεραν αύξηση της συχνότητας εμφάνισης εβδομαδιαίων κρουσμάτων, με εξαίρεση την αφρικανική περιφέρεια, η οποία ανέφερε μείωση 27%. Η περιοχή της Νοτιοανατολικής Ασίας ανέφερε τη μεγαλύτερη αύξηση νέων κρουσμάτων την τελευταία εβδομάδα του Ιανουαρίου (WHO, 2022), ακολουθούμενη από την περιοχή της Ανατολικής Μεσογείου, την περιοχή του Δυτικού Ειρηνικού και την Περιφέρεια της Αμερικής. Οι νέοι εβδομαδιαίοι θάνατοι αυξήθηκαν στην περιοχή της Νοτιοανατολικής Ασίας. Σε επίπεδο χώρας, ο υψηλότερος αριθμός νέων κρουσμάτων αναφέρθηκε από τις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, τη Γαλλία, την Ινδία, την Ιταλία και το Ηνωμένο Βασίλειο (WHO, 2022).

Από την τελευταία εκτίμηση κινδύνου, η συχνότητα εμφάνισης του COVID-19 έχει αυξηθεί παγκοσμίως, αρχικά λόγω της μετάδοσης της παραλλαγής Δέλτα, ιδίως στην Ευρωπαϊκή Περιφέρεια. Στη συνέχεια, μετά τον εντοπισμό της παραλλαγής Omicron στη Νότια Αφρική, που αναφέρθηκε στον ΠΟΥ στις 24 Νοεμβρίου 2021, σημειώθηκε απότομη αύξηση της συχνότητας εμφάνισης κρουσμάτων στην αφρικανική ήπειρο. Ακολούθησε αύξηση των άλλων περιφερειών της ΠΟΥ κατά τις εβδομάδες 51 και 52 (WHO, 2022). Αντίθετα, έχει παρατηρηθεί παγκόσμια μείωση της θνησιμότητας από covid-19 από την κορύφωση, που παρατηρήθηκε τον Αύγουστο του 2021 (WHO, 2022). Ωστόσο, ένας συνδυασμός της αυξημένης και ταχείας εξάπλωσης της παραλλαγής Omicron, των αυξημένων μετακινήσεων του πληθυσμού και της κοινωνικής ανάμειξης κατά τη διάρκεια και μετά το τέλος του έτους και των συστάσεων για τη συνεχή τήρηση των μέτρων δημόσιας υγείας και κοινωνικής πρόνοιας αναμένεται να οδηγήσει σε αυξημένο αριθμό κρουσμάτων, νοσηλείων και θανάτων τις αμέσως επόμενες εβδομάδες (WHO, 2022).

## 2. Μέθοδοι Διάγνωσης

Επί του παρόντος, υπάρχουν πολλά εμπορικά κιτ ανίχνευσης SARS-CoV-2, στα οποία χορηγήθηκε άδεια χρήσης έκτακτης ανάγκης, (Broughton et al, 2020).

Αυτά μπορούν να προσδιορίσουν:

- α) Συγκεκριμένες περιοχές ιογενών γονιδίων μέσω τεχνικών PCR και ενίσχυση ισοθερμικού νουκλεϊκού οξέος,
- β) τα αντισώματα που παράγονται από το ανοσοποιητικό σύστημα για την αντιμετώπιση της ιογενούς λοίμωξης /δοκιμές ανοσοσφαιρίνης G,
- γ) τα αντιγόνα με δοκιμασίες πλευρικής ροής,



Οι παραπάνω διαδικασίες πρέπει να εκτελούνται σε πιστοποιημένα εργαστήρια από εκπαιδευμένο προσωπικό, υπό καθορισμένες πειραματικές και βιολογικές συνθήκες επιπέδου ασφάλειας.

Οι ορολογικές εξετάσεις δεν διαγιγνώσκουν άμεσα την παρουσία του ιού, αλλά τα μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως το IgM και το IgG, που παράγονται από το σώμα όταν συναντώνται με τον ιό. Οι εξετάσεις IgG/IgM (λεγόμενες και δοκιμασίες rapid-testing, οι οποίες αποτελούν και τη βάση για τα λεγόμενα self-tests), θα μπορούσαν να διαδραματίσουν κεντρικό ρόλο στην καταπολέμηση του COVID-19 ταξινομώντας με ακρίβεια τα άτομα που ανέπτυξαν ανοσολογική απόκριση λόγω της λοίμωξης SARS-CoV-2 (Lai et al, 2020). Αν και τα τεστ αυτά χρησιμοποιούνται για έμμεση διάγνωση, για τεράστια σάρωση ανοσίας της αγέλης και για στατιστικές ποσοστού θνησιμότητας, εν τούτοις τα ποσά αντισωμάτων, που παράγονται τις πρώτες ημέρες της λοίμωξης μπορεί να είναι ανεπαρκή για την ανίχνευση ώστε να οδηγήσουν σε λανθασμένα συμπεράσματα (Diao et al, 2020). Επιπλέον, η διάρκεια ζωής των παραγόμενων αντισωμάτων, καθώς και η αποτελεσματικότητα, εξακολουθεί να είναι ασαφής, περιορίζοντας τη συμμετοχή των ταχείων τεστ αντισωμάτων στην πανδημία COVID-19 ως ισχυρό εργαλείο διάγνωσης και επιτήρησης. Η μέθοδος RT-PCR παραμένει η πιο αξιόπιστη (Yuce et al, 2021).

## 2.1 PT-PCR

RT-PCR είναι μια μέθοδος PCR έκδοσης που αναπτύσσεται αποκλειστικά για ανίχνευση RNA. Το RT-PCR είναι επαρκώς αξιόπιστο και αποτελεί μια γρήγορη τεχνική, παράγοντας αποτελέσματα σε λίγες ώρες με υψηλό τρόπο εφαρμογής. Η τεχνική RT-PCR βασίζεται σε δύο διαδοχικές αντιδράσεις (Yuce et al, 2021): α) μετατροπή του RNA σε συμπληρωματικό δίκλωνο DNA μέσω ενζύμου αντίστροφης μεταγραφάσης και β) ενίσχυση του δείγματος cDNA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) χρησιμοποιώντας εκκινητές ειδικά για γονίδια και ανιχνευτές υδρόλυσης με φθορίζουσα σήμανση.

Το πρώτο βήμα παράγει πρότυπα DNA που θα χρησιμοποιηθούν στο δεύτερο βήμα, όπου ο αριθμός αντιγράφων του DNA αυξάνεται σε επαναλαμβανόμενους θερμικούς κύκλους (Lv et al, 2021). Οι ειδικοί για γονίδια εκκινητές καθοδηγούν τη δεύτερη αντίδραση για την ενίσχυση μόνο της επιλεγμένης περιοχής στο γονιδίωμα, ενώ οι ανιχνευτές παράγουν φθορίζοντα σήματα σε κάθε επιτυχή ενίσχυση των γονιδιακών περιοχών, επιτρέποντας ένα μετρήσιμο σύστημα αντίδρασης. Η ανακάλυψη της μεθόδου RT-PCR άνοιξε το δρόμο για την ανίχνευση μεταγραφών γονιδίων σε επίπεδα ιχνοστοιχείων και η τεχνική έχει

χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό για δοκιμές μεταδοτικών ασθενειών σε όλο τον κόσμο (Lv et al, 2021).



Figure 3 PT-PCR Πηγή: IAEA.org

Η RT-PCR είναι επί του παρόντος το πρότυπο για την ανίχνευση του SARS-CoV-2 λόγω της ικανότητάς της να μετρά άμεσα τα ιογενή γονιδιωματικά μέρη και όχι τους δευτερεύοντες βιοδείκτες, όπως αντιγόνα ή αντισώματα. Αρκετές άλλες χώρες, όπως η Αγγλία, η Γερμανία, η Νότια Κορέα, η Τουρκία, η Ρωσία, οι ΗΠΑ και η Κίνα, δήλωσαν αργότερα τα κιτ κλινικής ποιότητας RT-PCR για ανίχνευση SARS-CoV-2 (Lv et al, 2021). Μερικά από τα πρώτα διαγνωστικά κιτ SARS-CoV-2 σε πραγματικό χρόνο που παραδόθηκαν από την Κεντρική Υπηρεσία Ασθενειών των ΗΠΑ σε εθνικά εργαστήρια διαπιστώθηκε ότι προκάλεσαν ασαφή αποτελέσματα και, ως εκ τούτου, περιόρισαν τον αριθμό των έγκυρων δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν τον Φεβρουάριο του 2020 στις ΗΠΑ (Lv et al, 2021).

Το RT-PCR Diagnostic Panel σε πραγματικό χρόνο εγκρίθηκε στη συνέχεια από τον FDA στο πλαίσιο ενός προγράμματος εξουσιοδότησης χρήσης έκτακτης ανάγκης στα τέλη Φεβρουαρίου 2020 που θα χρησιμοποιηθεί σε εξειδικευμένα εργαστήρια (Chaimayo et al, 2020). Σύντομα, ο FDA χορήγησε επείγουσα άδεια για το σύστημα Abbott m2000, τη δοκιμασία Σύντηξης SARS-COV-2 από την Hologic, τη δοκιμή COVID-19 RT-PCR από την LabCorp και το TaqPath COVID-19 Combo Kit από την Thermo Fisher Scientific για εξουσιοδοτημένη εργαστηριακή χρήση (Chaimayo et al, 2020). Θα πρέπει να σημειωθεί, ότι ο FDA παρέχει EUAs (Επείγουσες άδειες) για «μη εγκεκριμένα ιατρικά προϊόντα καθώς και τη νέα χρήση των υφιστάμενων, εγκεκριμένων ιατρικών προϊόντων» σύμφωνα με το άρθρο 564 του Ομοσπονδιακού Νόμου για τα Τρόφιμα, τα Φάρμακα και τα Καλλυντικά, μόνο για καταστάσεις έκτακτης ανάγκης όπως απειλές για τη δημόσια υγεία και για πανδημίες όπου δεν υπάρχουν κατάλληλες εναλλακτικές λύσεις (Yuce et al, 2021).

Τα κιτ RT-PCR για ανίχνευση SARS-CoV-2 περιλαμβάνουν κυρίως τα ένζυμα αντίστροφης μεταγραφής και ενίσχυσης, δύο έως τρία σύνολα από ανιχνευτές για την ενίσχυση των συγκεκριμένων περιοχών του ιικού γονιδιώματος και εξουσιοδοτημένα αντιδραστήρια για αρνητικούς, θετικούς και εσωτερικούς ελέγχους (Yuce et al, 2021).

Τα δείγματα ελέγχου υποβάλλονται σε επεξεργασία με τον ίδιο τρόπο όπως τα κλινικά δείγματα ασθενών και περιλαμβάνονται σε κάθε πλάκα σε ρυθμίσεις ανίχνευσης υψηλής ταχύτητας. Για μια έγκυρη ρύθμιση δοκιμής, όλα τα δείγματα ελέγχου πρέπει να παρέχουν τα αναμενόμενα αποτελέσματα όπως καθορίζονται στους οδηγούς χρήσης κάθε κιτ (Yuce et al, 2021). Ο θετικός έλεγχος του κιτ περιέχει μη μολυσματικές, ανασυνδυασμένες αλληλουχίες SARS-CoV-2 RNA που συνδέονται με το αντιδραστήριο ή δίνουν αρνητικό αποτέλεσμα. Το αρνητικό δείγμα θέτει σε λειτουργία ένα ρυθμιστικό διάλυμα για τον έλεγχο των υποπροϊόντων διασταυρούμενης μόλυνσης ή των μη ειδικών υποπροϊόντων (Yuce et al, 2021).

Τέλος, ένας εσωτερικός έλεγχος/έλεγχος εκχύλισης περιλαμβάνεται στην πειραματική εγκατάσταση για την εξέταση αστοχιών στο πρωτόκολλο εξαγωγής. Ωστόσο, η γενικευμένη χρήση αυτού του αυτοματοποιημένου συστήματος υψηλής απόδοσης απαιτεί εκπαιδευμένο προσωπικό (Chaimayo et al, 2020). Τα εμπορικά κιτ, που βασίζονται στη μέθοδο RT-PCR λειτουργούν μόνο σε εργαστηριακές συνθήκες εξοπλισμένες με εξειδικευμένα εργαλεία και όργανα λόγω της εξελιγμένης φύσης των αντιδράσεων RT-PCR καθώς και για λόγους ασφαλείας (Yuce et al, 2021). Ως εκ τούτου, μπορεί να είναι δύσκολο να χρησιμοποιηθούν τα κιτ RT-PCR για ταχεία επιτήρηση ή έλεγχο των εθνών για την τρέχουσα πανδημία. Το κιτ δοκιμών COVID-19 RT-PCR από την Laboratory Corporation of America έλαβε έγκριση από FDA και EUA στα μέσα Μαρτίου 2020 για την ποιοτική ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος από τον SARS-CoV-2 σε δείγματα ανώτερου και κατώτερου αναπνευστικού (Yuce et al, 2021).

Αν και το RT-PCR παραμένει η πιο αξιόπιστη μέθοδος για την ανίχνευση του SARS-CoV-2 μέχρι στιγμής, μόνο ένας περιορισμένος αριθμός δοκιμών θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί καθημερινά, γεγονός που εμποδίζει τις αρχές να λαμβάνουν αξιόπιστα δεδομένα σχετικά με τον επιπολασμό του ιού σε ολόκληρο τον παγκόσμιο πληθυσμό. Η ευαισθησία αυτής της μεθόδου εξαρτάται συνήθως από την ποσότητα RNA σε κάθε δείγμα. Οι ασθενείς μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως θετικοί στον SARS-CoV-2 ή αρνητικοί στον SARS-CoV-2 με βάση την έκβαση των αποτελεσμάτων RT-PCR. Ωστόσο, αυτή η τεχνική δεν παρέχει πληροφορίες για τους ασθενείς που έχουν ήδη αναρρώσει από τον SARS-CoV-2, καθώς το ιικό φορτίο απομακρύνεται από το σώμα μετά την ανάρρωση (Yuce et al, 2021).

Ομοίως, οι ασθενείς που βρίσκονται στις πρώτες ημέρες της ιογενούς λοίμωξης μπορεί να μην ανταποκριθούν «θετικά» με αυτό το τεστ λόγω της ανεπαρκούς ποσότητας του ιού στα επιχρίσματα (Yuce et al, 2021). Ως εκ τούτου, ενδέχεται να απαιτούνται δείγματα επιχρίσματος από διάφορα μέρη του σώματος για μια δοκιμή επιβεβαίωσης. Η ανάπτυξη ταχύτερων κιτ ανίχνευσης, που δεν βασίζονται σε εκπαιδευμένο προσωπικό, προηγμένες αντιδράσεις ή εξοπλισμένα εργαστήρια είναι μεγάλης σημασίας (Yuce et al, 2021).

Οι εξετάσεις αντισωμάτων είναι εξίσου σημαντικές για να δούμε πόσοι άνθρωποι είχαν ήδη τον ιό και ανέπτυξαν προστατευτικά αντισώματα, τα οποία μπορούν αργότερα να χρησιμοποιηθούν ως τράπεζα δεδομένων για την έρευνα πιθανών δοτών πλάσματος για τη θεραπεία της νόσου (Yuce et al, 2021).

## 2.2 Μέθοδοι ανίχνευσης αντισωμάτων

Ένα αντίσωμα είναι μια πρωτεΐνη, που παράγεται από το ανοσοποιητικό σύστημα ως απάντηση σε ένα αντιγόνο. Κάθε αντίσωμα έχει σημεία που μπορούν να δεσμεύσουν μόνο έναν συγκεκριμένο τύπο αντιγόνου για να το απενεργοποιήσουν. Αυτή η ιδιαιτερότητα καθορίζεται από συμπληρωματικές περιοχές προσδιορισμού, που εντοπίζονται στο N-terminus (αρχικό αμινικό άκρο) του αντισώματος (Lv et al, 2021). Τα αντισώματα ονομάζονται επίσης ανοσοσφαιρίνες. Υπάρχουν πέντε κατηγορίες αντισωμάτων. IgM, IgD, IgG, IgA και IgE, τα οποία διακρίνονται από τις περιοχές C-terminus. Το IgM είναι το πρώτο αντίσωμα που παράγεται κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης, ενώ το IgG είναι το πιο κοινό και άφθονο στον ορό. Τα αντισώματα εκκρίνονται σε λέμφο και αίμα και εξουδετερώνουν τα παθογόνα μικρόβια συνδεόμενα και αδρανοποιώντας τα αντιγόνα τους. Ως εκ τούτου, η εξουδετέρωση των αντιγόνων εμποδίζει τον ιό να μολύνει τα κύτταρα (Lv et al, 2021). Μια δοκιμή (τεστ) αντισωμάτων μπορεί να μετρήσει την παρουσία και τη συγκέντρωση των επιπέδων IgG και IgM στα δείγματα αίματος / ορού / πλάσματος για να καθορίσει εάν το σώμα έχει μολυνθεί από έναν παθογόνο παράγοντα, για παράδειγμα, έναν μεταδοτικό ιό (Lv et al, 2021). Ένα ανασυνδυασμένο αντιγόνο που μιμείται τον ιό μπορεί να παραχθεί στο εργαστήριο. Τότε, αντισώματα με ειδική συγγένεια δέσμευσης στόχου μπορούν να παραχθούν από τον οργανισμό με τη χρήση αυτών των τεχνητών παθογόνων παραγόντων. Οι πιο συχνές δοκιμές αντισωμάτων βασίζονται σε δοκιμασίες τύπου πλευρικής ροής και δοκιμασίες τύπου ανοσοσορβικού τύπου, που συνδέονται με ένζυμα (Lv et al, 2021).

Σε ένα LFA, η παρουσία του μορίου ενδιαφέροντος καθορίζεται από αντισώματα ακινητοποιημένα σε μεμβράνη. Η συσκευή αποτελείται από πλακέτα, η οποία περικλείει μια λωρίδα της πολυμερούς μεμβράνης, και η οποία συνήθως περιέχει δύο γραμμές: Μια γραμμή ελέγχου και μια γραμμή δοκιμής. Σε μια δοκιμή LFA αντισωμάτων, τα μόρια ενδιαφέροντος είναι τα ειδικά αντισώματα που υπάρχουν στο δείγμα αίματος του ασθενούς (Chaimayo et al, 2020). Το δείγμα εναποτίθεται στον υποδοχέα δείγματος μέσω μιας θύρας και κινείται μέσα από τη λωρίδα με τριχοειδή δράση. Όταν συναντά την πρώτη γραμμή, τα αντισώματα που επισημαίνονται με νανοσωματίδια χρυσού συνδέονται με το μόριο-στόχο στο δείγμα. Στη συνέχεια, καθώς το δείγμα συνεχίζει να κινείται, τα αντισώματα με χρυσή ιχνηθέτηση δεσμεύονται από τα αντισώματα σύλληψης στις γραμμές (Chaimayo et al, 2020).

Τα αντισώματα με χρυσή ετικέτα που είναι σε περίσσεια, στη συνέχεια κινούνται περαιτέρω κατά μήκος της λωρίδας και συλλαμβάνονται στη γραμμή ελέγχου. Ακόμη και ελλείψει του μορίου-στόχου στο διάλυμα δείγματος, τα αντισώματα με χρυσή ετικέτα πρέπει να συλλαμβάνονται στη γραμμή ελέγχου, καθιστώντας τη γραμμή ελέγχου ως κριτήριο για την εγκυρότητα της δοκιμής (Chaimayo et al, 2020). Ανάλογα με το αν η δοκιμή προορίζεται για αντισώματα ομάδας IgG ή IgM ή και τα δύο, το παράθυρο εμφάνισης θα πρέπει να εμφανίζει μία, δύο ή τρεις λωρίδες. Εάν η δοκιμή προορίζεται μόνο για μία κατηγορία αντισωμάτων και είναι αρνητική, θα πρέπει να εμφανίζει μία λωρίδα, μόνο στη γραμμή ελέγχου. Εάν η δοκιμή είναι θετική, θα πρέπει να εμφανίζει δύο λωρίδες, τόσο στη γραμμή ελέγχου όσο και στη γραμμή δοκιμής. Εάν η δοκιμή είναι τόσο για αντισώματα όσο και για αρνητικά, θα πρέπει και πάλι να εμφανίζει μία λωρίδα στη γραμμή ελέγχου. Εάν είναι θετικό και για τα δύο, θα εμφανιστούν τρεις λωρίδες: Μία στη γραμμή ελέγχου, μία στη γραμμή δοκιμής IgG και μία στη γραμμή δοκιμής IgM (Chaimayo et al, 2020).

Επιπλέον, σε μια δοκιμή IgG/ IgM, μπορεί να υπάρχει μόνο ένα αντίσωμα, το οποίο θα μπορούσε να είναι έμμεσος δείκτης της πορείας της λοίμωξης ή της άμεσης ανοσολογικής απόκρισης (Lv et al, 2021).

Στις δοκιμές ELISA, το ανασυνδυασμένο ιικό αντιγόνο είναι επιστρωμένο στις επιφάνειες των πλαστικών πλακετών καθώς και στα μόρια-στόχους. Μόλις προετοιμαστούν τα σωληνάκια, προστίθεται το δείγμα, δηλαδή ο ορός του ασθενούς, (Lv et al, 2021). Εάν στο δείγμα υπάρχουν αντισώματα έναντι του αντιγόνου-στόχου, εμφανίζεται ένα σημάδι δέσμευσης. Το δείγμα ξεπλένεται αρκετές φορές για να εξασφαλιστεί ότι αφαιρείται όλο το μη δεσμευμένο υπόστρωμα. Στη συνέχεια, προστίθεται ένα δεύτερο διάλυμα που περιέχει επισημασμένα, δευτερογενή ανθρώπινα αντισώματα και ακολουθεί η δέσμευση. Εάν το

αντίσωμα ενδιαφέροντος απουσιάζει από το δείγμα, δεν πραγματοποιείται δέσμευση. Η περίσσεια αφαιρείται και πάλι με πλύσιμο και η δέσμευση των αντισωμάτων-στόχων επιβεβαιώνεται από μια ενζυμική αντίδραση αλλαγής χρώματος. Ένα φασματόμετρο διαβάζει την αλλαγή χρώματος και μπορεί να προσδιοριστεί η συγκέντρωση του αντισώματος ενδιαφέροντος (Lv et al, 2021). Σε ανοσολογικές εξετάσεις χημειοφωταύγειας, η δέσμευση του δευτερεύοντος αντισώματος επιβεβαιώνεται από ξεχωριστό χημειοφωταυγειώδες υπόστρωμα (Yuce et al, 2021).

### 2.3 Μέθοδοι ανίχνευσης αντιγόνων

Ένα αντιγόνο είναι ένα σωματίδιο / θραύσμα / μόριο, που μπορεί να ενεργοποιήσει το ανοσοποιητικό σύστημα και να προκαλέσει παραγωγή αντισωμάτων για να σκοτώσει τα παθογόνα μικρόβια, προστατεύοντας έτσι το σώμα. Οι δοκιμές αντιγόνου, σε αντίθεση με τις μεθόδους που βασίζονται σε PCR, ανιχνεύουν ιογενή συστατικά ή τον ιό απευθείας χωρίς βήματα θερμικής ενίσχυσης (Yuce et al, 2021).

Όπως και οι μέθοδοι που βασίζονται σε PCR, οι δοκιμές αντιγόνου αποκαλύπτουν μόνο την ενεργό ιογενή λοίμωξη, όχι την κατάσταση αποκατάστασης. Επειδή τα αντιγόνα προηγούνται των αντισωμάτων και είναι ειδικά για το στόχο, θα μπορούσαν να είναι πιο αξιόπιστα από τα τεστ αντισωμάτων (Yuce et al, 2021). Οι δοκιμές αντιγόνου μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ταινίες LFA για σκοπούς ταχείας ανίχνευσης ή σε μορφή ELISA για καλύτερη ευαισθησία και χρήσεις υψηλής απόδοσης. Η Diao et al. ανέπτυξε μια φθορίζουσα ανοσοχρωματογραφική δοκιμασία LFA για την ανίχνευση της νουκλεοσιδίνης πρωτεΐνης του SARS-CoV-2 (Yuce et al, 2021). Η δοκιμασία χρησιμοποιεί αντισώματα ποντικού anti-N και αντισώματα IgG κατά του κουνελιού και της κασίικας για να δημιουργήσει τις γραμμές δοκιμής και ελέγχου, αντίστοιχα. Χρησιμοποιεί αντι-N από κουνέλι IgG που επισημαίνεται με καρβοξυλικό τροποποιημένο πολυστυρένιο Europium χηλικά μικροσωματίδια ως σωματίδια σήματος, σε αντίθεση με τα συμβατικά νανοσωματίδια χρυσού (Yuce et al, 2021).

Ως δείγματα χρησιμοποιήθηκαν ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα και ούρα. Σε σύγκριση με τη δοκιμή νουκλεϊκού οξέος, η δοκιμασία αποδείχθηκε ότι έχει ευαισθησία 68% και ειδικότητα 100%. Ωστόσο, τέτοιες μελέτες είναι σε πρώιμη ερευνητική κατάσταση, και εκτιμάται, ότι θα χρειαστούν χρόνια για να διατεθούν στην αγορά, ακόμη και αν παρουσιάζουν εξαιρετική ευαισθησία και επιλεκτικότητα (Chaimayo et al, 2020).

Παρόλο που οι τεχνικές ELISA και LFA είναι καλά εδραιωμένες και οι δοκιμές αντιγόνου είναι επείγουσες και εξαιρετικά απαραίτητες, υπάρχει μόνο μία δοκιμή αντιγόνου που έχει εκδοθεί από την EUA στην αγορά μέχρι στιγμής για ανίχνευση SARS-CoV-2 που αναπτύχθηκε από την QUIDEL (Chaimayo et al, 2020). Το κιτ ταχείας δοκιμής αντιγόνου Sofia 2 βασίζεται σε μια τεχνολογία ταινίας ανοσοφθορισμού τύπου σάντουιτς που χρησιμοποιείται με ένα όργανο για την ανίχνευση πρωτεΐνης N τόσο του SARS-CoV όσο και του SARS-CoV-2, πράγμα που σημαίνει ότι το κιτ δεν μπορεί να διακρίνει μεταξύ αυτών των δύο στενά συνδεδεμένων ειδών του ιού. Επιπλέον, το κιτ χρησιμοποιεί ρινικά και ρινοφαρυγγικά δείγματα επιχρίσματος και προορίζεται μόνο για χρήση από επαγγελματίες υγείας (Chaimayo et al, 2020).

Η κλινική ευαισθησία του κιτ βρέθηκε στο 80%, ενώ η ειδικότητα ήταν 100% από τα 47 θετικά και 96 αρνητικά κλινικά δείγματα. Μετά τις αποτυχίες αρκετών κιτ αντισωμάτων, ο ΠΟΥ και ο FDA προειδοποίησαν τις επιστημονικές και ιατρικές κοινότητες σχετικά με τη χρήση των ταχείων εμπορικών δοκιμών για την ανίχνευση του SARS-CoV-2. Το αρχικό απόσπασμα από τον ΠΟΥ είχε ως εξής: «Με τα περιορισμένα δεδομένα που είναι τώρα διαθέσιμα, ο ΠΟΥ δεν συνιστά επί του παρόντος τη χρήση ταχείων διαγνωστικών εξετάσεων ανίχνευσης αντιγόνων για τη φροντίδα των ασθενών, αν και η έρευνα σχετικά με την απόδοσή τους και την πιθανή διαγνωστική χρησιμότητα ενθαρρύνεται ιδιαίτερα» (Chaimayo et al, 2020).

## 2.4 Άλλες Μέθοδοι

Ο άμεσος έλεγχος του SARS-CoV-2 αποτελεί αντικείμενο έκτακτης ανάγκης καθώς ο ιός συνεχίζει να εξαπλώνεται (Yuce et al, 2021). Θα ήταν τεράστια βοήθεια για την καταπολέμηση του ιού εάν αναπτυχθεί μια ακριβής και ταχεία δοκιμή, καθώς οι μέθοδοι που βασίζονται σε ταχείες δοκιμές αντισωμάτων και αντιγόνων εξακολουθούν να τίθενται υπό αμφισβήτηση όσον αφορά την ακρίβεια και την επιλεκτικότητά τους σε όλο τον κόσμο.

Οι ερευνητές σε όλο τον κόσμο προσπαθούν να αναπτύξουν μια δοκιμή που θα μπορούσε να προσφέρει γρήγορα και ακριβή αποτελέσματα, χωρίς να θέτει σε κίνδυνο την ευαισθησία και την επιλεκτικότητα. Για παράδειγμα, η αρχή SPR βασίζεται στη συλλογική ταλάντωση των ηλεκτρονίων σε μια δεδομένη μεταλλική επιφάνεια, από ευγενή μέταλλα, και χρησιμοποιείται συνήθως για την παρακολούθηση μοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεΐνης - πρωτεΐνης, πρωτεΐνης - DNA, πρωτεΐνης - RNA, αντιγόνου - αντισώματος,

δειγμάτων ενζύμων - υποστρωμάτων σε πραγματικό χρόνο, με υψηλή ευαισθησία (Yuce et al, 2021).

Η μέθοδος SPR που προτάθηκε από την Djaileb et al., βασίστηκε στα χρυσά τσιπ που τροποποιήθηκαν από τις ιογενείς νουκλεοσιδοειδείς πρωτεΐνες και ανίχνευσε τα αντισώματα σε αραιωμένα δείγματα ανθρώπινου ορού σε 15 λεπτά με νανομοριακή ευαισθησία, αλλά δεν διενεργήθηκε κλινική δοκιμή. Το σύστημα χρησιμοποιήθηκε επίσης για να ελέγξει ταχέως ορισμένα αντισώματα, που έδειξαν την καλύτερη δεσμευτική συγγένεια με τις ακινητοποιημένες νουκλεοσιδικές πρωτεΐνες (Yuce et al, 2021).

Μια άλλη μελέτη SPR, δημοσιεύθηκε από το Qui et al., στην οποία τα νανοσωματίδια χρυσού διακοσμήθηκαν με ολιγονουκλεοτίδια, που ήταν συμπληρωματικά προς τις επιλεγμένες περιοχές γονιδίων του ιού. Το σύστημα διπλής λειτουργίας ανίχνευσε με επιτυχία τις περιοχές γονιδίων RdRp, E gene, ORF1a με picomolar ευαισθησία (Diao et al, 2020). Τα συστήματα SPR είναι πλέον ευρέως διαθέσιμα στα εργαστήρια, και ειδικά αυτά με αυτοματοποιημένα συστήματα χειρισμού μπορούν να αναλύσουν διάφορα δείγματα χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση. Το σύστημα λειτουργεί σε πραγματικό χρόνο και δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα σε λεπτά στις επιφάνειες που έχουν τροποποιηθεί με αντιγόνα ή αντισώματα μέσα σε λίγα λεπτά (Diao et al, 2020). Ως εκ τούτου, το SPR μπορεί να θεωρηθεί εναλλακτικός σταθμός δοκιμών σε εργαστηριακά κιτ αντιγόνου και αντισωμάτων για ταχύτερη διάγνωση των κλινικών δειγμάτων.

### **3. Μοριακός μηχανισμός εισόδου του ιού σε κυτταρικό επίπεδο**

Ο μηχανισμός εισόδου του SARS-CoV σε κύτταρα έχει μελετηθεί εκτενώς. Η είσοδος του κορωνοϊού στα κύτταρα - ξενιστές είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας της ιικής μολυσματικότητας και παθογένεσης. Αποτελεί επίσης σημαντικό στόχο για την επιτήρηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή και τις στρατηγικές ανθρώπινης παρέμβασης (Shang et al, 2020). Για να εισέλθουν στα κύτταρα - ξενιστές, οι κορωνοϊοί δεσμεύονται πρώτα σε έναν υποδοχέα κυτταρικής επιφάνειας για ιική προσκόλληση, στη συνέχεια εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα και τελικά συντήκονται ικές και λυσοσωμικές μεμβράνες. Μια πρωτεΐνη - ακίδα αγκιστρωμένη στην επιφάνεια του ιού μεσολαβεί στην είσοδο του κορωνοϊού (Shang et al, 2020).



### 3.1 Ακίδα και συγγένεια δέσμευσης

Σε ώριμους ιούς, η πρωτεΐνη - ακίδα είναι τριμερής, με τρεις κεφαλές S1, που δεσμεύουν τον υποδοχέα να βρίσκονται στην κορυφή ενός μίσχου S2 και οδηγούν στην σύντηξη της τριμερούς μεμβράνης. Η S1 του SARS-CoV περιέχει μια περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα που αναγνωρίζει συγκεκριμένα το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης-2 ως υποδοχέα του (Sanche et al, 2020). Το RBD αλλάζει συνεχώς μεταξύ μιας κατακόρυφης θέσης για δέσμευση του υποδοχέα και μιας οριζόντιας θέσης για ανοσολογική διαφυγή. Επιπλέον, για τη σύντηξη των μεμβρανών, η ακίδα SARS-CoV πρέπει να ενεργοποιηθεί πρωτεολυτικά στο όριο S1/S2, έτσι ώστε η S1 να διασπαστεί και η S2 να υποστεί μια δραματική δομική αλλαγή (Sanche et al, 2020). Αυτές οι πρωτεάσες που ενεργοποιούν την είσοδο του SARS-CoV περιλαμβάνουν πρωτεάση TMPRSS2 της κυτταρικής επιφάνειας και καθεψίνες λυσοσωμικών πρωτεασών. Αυτά τα χαρακτηριστικά της εισόδου του SARS-CoV συμβάλλουν στην ταχεία εξάπλωση στα σοβαρά συμπτώματα και στα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας των μολυσμένων ασθενών (Woelfel et al, 2020).

Τους τελευταίους μήνες παρατηρήθηκε μια έκρηξη μελετών σχετικά με τους μηχανισμούς εισόδου στα κύτταρα του SARS-CoV-2, μερικές φορές με αντικρουόμενα ευρήματα. Ο SARS-CoV-2 αναγνωρίζει επίσης το ανθρώπινο ACE2 ως υποδοχέα του όπως ο SARS-CoV. Προσφάτως προσδιορίστηκε η κρυσταλλική δομή του SARS-CoV-2 RBD σε σύμπλεγμα με hACE2, το οποίο αποκάλυψε λεπτές αλλά λειτουργικά σημαντικές διαφορές μεταξύ SARS-CoV-2 και SARS-CoV στην αναγνώριση υποδοχέα. Αυτές οι διαφορές επιτρέπουν στον SARS-CoV-2 RBD να έχει σημαντικά υψηλότερη συγγένεια δέσμευσης hACE2 από τον SARS-CoV RBD (Zhou et al, 2020). Ωστόσο, η δομή της ακίδας του SARS-CoV-2 αποκάλυψε ότι το RBD του βρίσκεται κυρίως σε οριζόντια θέση, μια κατάσταση που σχετίζεται με αναποτελεσματική δέσμευση υποδοχέα. Επιπλέον, έχουν υπάρξει αντικρουόμενες αναφορές σχετικά με τις συγγένειες δέσμευσης hACE2 των αιχμών SARS-CoV-2 και SARS-CoV (Wolfer et al, 2020).

Εκτός από τη δέσμευση με υποδοχείς, έχουν εξεταστεί ενεργοποιητές πρωτεάσης για την είσοδο του SARS-CoV-2. Έχει αποδειχθεί ότι το TMPRSS2 και οι λυσοσωμικές πρωτεάσες είναι και οι δύο σημαντικές για την είσοδο του SARS-CoV-2. Στους ιούς της γρίπης των πτηνών, το μοτίβο της προπρωτεϊνικής κονβερτάσης στην επιφανειακή γλυκοπρωτεΐνη είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα υψηλής παθογένεσης (Wolfe et al, 2020). Ωστόσο, αν και η ακίδα SARS-CoV-2 περιέχει ένα μοτίβο PPC στο όριο S1/S2, αναφέρθηκε

ότι η διάσπαση της πρωτεΐνης - ακίδας από την PPC δεν ενίσχυσε την είσοδο του SARS-CoV-2 στα κύτταρα (Shang et al, 2020). Αυτό έθεσε ερωτήματα σχετικά με τον ρόλο του μοτίβου της PPC στην είσοδο του SARS-CoV-2. Το SARS-CoV-2 RBD, λοιπόν, έχει υψηλότερη συγγένεια δέσμευσης hACE2 από το SARS-CoV RBD (Sayed et al., 2020).

Δεύτερον, παρά την ισχύ της δέσμευσης του RBD στο hACE2, ολόκληρη η ακίδα SARS-CoV-2 δεν συνδέεται με τον hACE2 πιο ισχυρά από ό,τι η ακίδα του SARS-CoV (Zhou et al, 2020). Μία μελέτη δείχνει χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία pull-down πρωτεΐνης, ότι η ακίδα SARS-CoV-2 συνδέεται με το hACE2 λιγότερο ισχυρά από την ακίδα SARS-CoV. Η RBD στους κορονοϊούς μπορεί να είναι είτε σε κατακόρυφη θέση, η οποία επιτρέπει τη δέσμευση του υποδοχέα, είτε σε οριζόντια θέση, η οποία δεν συνδέεται με τους υποδοχείς του ξενιστή (Shang et al, 2020).

### 3.2 Ενεργοποίηση πρωτεάσης

Μελέτες Cryo-EM (Li et al, 2020, Huang et al, 2020) έχουν δείξει, ότι στην ακίδα SARS-CoV, η RBD βρίσκεται κυρίως σε κατάσταση κατακόρυφης λειτουργίας. Ωστόσο, στην ακίδα SARS-CoV-2, η RBD είναι κυρίως σε οριζόντια θέση. Επομένως, σε σύγκριση με το SARS-CoV, αν και το SARS-CoV-2 RBD έχει υψηλότερη συγγένεια δέσμευσης hACE2, είναι λιγότερο προσβάσιμο, με αποτέλεσμα συγκρίσιμη ή χαμηλότερη συγγένεια δέσμευσης hACE2 για την ακίδα SARS-CoV-2. Για να διατηρήσει την υψηλή μολυσματικότητά του ενώ διατηρεί το RBD του λιγότερο προσβάσιμο, το SARS-CoV-2 βασίζεται σε μια δεύτερη στρατηγική, την ενεργοποίηση πρωτεάσης του ξενιστή (Shang et al, 2020).

Η ενεργοποίηση πρωτεάσης του ξενιστή είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας της μόλυνσης από τον κορωνοϊό και της παθογένεσης, και σημαντικός στόχος για την ανοσολογική επιτήρηση του ξενιστή και τις στρατηγικές ανθρώπινης παρέμβασης. Χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό μεταλλαξογένεσης, αναστολέων πρωτεάσης και προσεγγίσεων siRNA, αποδείχθηκε ότι η προενεργοποίηση της φουρίνης ενισχύει την είσοδο ψευδοϊού SARS-CoV-2 σε διαφορετικούς τύπους κυτταρικών ιστών, που εκφράζουν το hACE2, συμπεριλαμβανομένων των κυτταρικών στιβάδων επιθηλίου πνεύμονα και ινοβλαστών του πνεύμονα. Αποδείχθηκε από έρευνες, επίσης, ότι η πρωτεάση TMPRSS2 της κυτταρικής επιφάνειας και οι λυσοσωμικές καθεψίνες ενεργοποιούν την είσοδο ψευδοϊού SARS-CoV-2, και ότι τόσο το TMPRSS2 όσο και οι

καθεψίνες έχουν σωρευτικά αποτελέσματα με τη φουρίνη στην είσοδο του SARS-CoV-2 (Li et al, 2020, Huang et al, 2020).

Συγκριτικά, η είσοδος ψευδοϊού SARS-CoV ενεργοποιείται από το TMPRSS2 και τις καθεψίνες, αλλά όχι από τη φουρίνη. Η προενεργοποίηση της φουρίνης επιτρέπει στον SARS-CoV-2 να εξαρτάται λιγότερο από τα κύτταρα-στόχους, ενισχύοντας την είσοδό του σε ορισμένα κύτταρα-στόχους, ιδιαίτερα σε κύτταρα με σχετικά χαμηλές εκφράσεις TMPRSS2 ή/και λυσοσωμικών καθεψινών (Shang et al, 2020). Αυτό έχει επίσης παρατηρηθεί με προενεργοποιημένους με φουρίνη ιούς γρίπης των πτηνών (Wu et al, 2020).

Ωστόσο, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε, ότι η προενεργοποίηση της φουρίνης ενισχύει την είσοδο ψευδοϊού SARS-CoV-2 στα κύτταρα BHK, αλλά μειώνει την είσοδο ψευδοϊού SARS-CoV-2 στα κύτταρα Vero. Αυτά τα φαινομενικά αντικρουόμενα αποτελέσματα μπορούν να εξηγηθούν από το πώς η είσοδος του κορωνοϊού ρυθμίζεται από τις πρωτεάσες. Η ενεργοποίηση πρωτεάσης των αιχμών του κορωνοϊού δυνητικά οδηγεί στην τελική δομική αλλαγή του κορωνοϊού S2 που απαιτείται για τη σύντηξη μεμβράνης. Αυτή η διαδικασία είναι μη αναστρέψιμη, και πρέπει να ρυθμιστεί αυστηρά (Shang et al, 2020).

Πράγματι, έχει αποδειχθεί, ότι στα σωματίδια του ιού SARS-CoV-2, πολλά μόρια ακίδας έχουν ήδη υποστεί την τελική δομική αλλαγή. Ως εκ τούτου, κατ' αρχήν, τα σωματίδια του ιού που προενεργοποιούνται από τη φουρίνη μπορεί να έχουν αμετάβλητη ή μειωμένη αποτελεσματικότητα εισόδου σε ορισμένους τύπους κυττάρων με υψηλές εκφράσεις TMPRSS2 και/ή λυσοσωμικών πρωτεασών. Αυτό μπορεί να ισχύει ιδιαίτερα *in vitro* για σωματίδια ιού που δεν είναι νέα, καθώς η τελική αλλαγή διαμόρφωσης των μορίων ακίδας μπορεί να συμβεί αργά και αυθόρμητα ή να διευκολυνθεί από περιβαλλοντικούς παράγοντες (Wan et al, 2020). Συνολικά, η προενεργοποίηση της φουρίνης μπορεί να διευκολύνει τον SARS-CoV-2 να εισέλθει σε ορισμένους τύπους κυττάρων (Li et al, 2020, Huang et al, 2020).

Οι μηχανισμοί εισόδου κυττάρων του SARS-CoV-2 έχουν επιπτώσεις στην κατανόηση των κλινικών χαρακτηριστικών της νόσου. Το κρυφό RBD μπορεί να αποφύγει την ανοσολογική ανίχνευση, οδηγώντας ενδεχομένως σε ανεπαρκείς ανοσολογικές αποκρίσεις και παρατεταμένο χρόνο ανάρρωσης. Ομολογουμένως, υπάρχουν και άλλες στρατηγικές ανοσοδιαφυγής για τους κορωνοϊούς (Sayed et al., 2020). Για παράδειγμα,

ορισμένες μη δομικές πρωτεΐνες του κορωνοϊού μπορούν να βοηθήσουν στην αποφυγή των γενετικών ανοσοαποκρίσεων του ξενιστή. Είναι σημαντικό να συνοψιστεί, λοιπόν, ότι οι ιοί συνήθως κρύβουν το RBD τους ή άλλα κρίσιμα μέρη των πρωτεϊνών τους από τις προσαρμοστικές ανοσολογικές αποκρίσεις του ξενιστή χρησιμοποιώντας δύο κύριες στρατηγικές. Η πρώτη είναι η διαμορφωτική κάλυψη, όπου οι ιοί κρύβουν τα RBD τους σε τοποθεσίες όπως σε εσοχές. Η δεύτερη είναι η θωράκιση της γλυκάνης, όπου οι ιοί κρύβουν κρίσιμα μέρη των πρωτεϊνικών ακίδων τους πίσω από συστάδες γλυκάνης (Shang et al, 2020).

Η κατανόηση, του μηχανισμού εισόδου σε κύτταρα του SARS-CoV-2 μπορεί να εξηγήσει τις στρατηγικές παρέμβασης. Η RBD είναι η πιο ανοσογονική περιοχή ολόκληρης της ακίδας. Ως εκ τούτου, το κρυφό RBD του SARS-CoV-2 αποτελεί σημαντική πρόκληση τόσο για τον εμβολιασμό όσο και για τη φαρμακευτική θεραπεία με αντισώματα λόγω της περιορισμένης πρόσβασης των εξουδετερωτικών αντισωμάτων στον στόχο. Αντίστοιχα, υπάρχουν αρκετές προσεγγίσεις για στρατηγικές παρέμβασης, με ορισμένες επιφυλάξεις (Letko et al, 2020). Πρώτον, μπορούν να αναπτυχθούν φάρμακα αντισωμάτων για να δεσμεύονται στο RBD πολύ στενά, κατά προτίμηση με υψηλό ρυθμό  $k_{on}$  και χαμηλό ρυθμό  $k_{off}$ , έτσι ώστε, κατά τη διάρκεια της περιορισμένης έκθεσης του RBD, τα φάρμακα να μπορούν να κολλήσουν στο RBD γρήγορα, και να διατηρήσουν ισχυρή επαφή. Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι το ανασυνδυασμένο ACE2 μπορεί να αναστείλει τη μόλυνση από SARS-CoV-2 σε τεχνητούς ανθρώπινους ιστούς, υποδηλώνοντας ότι ο αποκλεισμός του RBD είναι εφικτός (Letko et al, 2020). Έτσι, ένα σκεύασμα αντισωμάτων με σημαντικά υψηλότερη συγγένεια δέσμευσης RBD από το ACE2 μπορεί να κυριαρχεί πάνω από το ACE2 της κυτταρικής επιφάνειας, καθώς αγκιστρώνεται πάνω στο RBD, εμποδίζοντας την προσκόλληση του ιού.

Δεύτερον, μπορούν να αναπτυχθούν εμβόλια RBD (Hoffman et al, 2020). Επειδή τα εξουδετερωτικά αντισώματα που προκαλούνται από τα εμβόλια RBD μπορεί να έχουν περιορισμένη πρόσβαση στο RBD, θα χρειαστεί μηχανική παρέμβαση, καθοδηγούμενη από τη δομή, για να ενισχυθεί σημαντικά η αποτελεσματικότητα των εμβολίων RBD (Hoffman et al, 2020). Τρίτον, μπορούν να αναπτυχθούν εμβόλια και φάρμακα για να στοχεύσουν την υπομονάδα S2 σύντηξης μεμβράνης.

Τέλος, η διαδικασία εισόδου των κυττάρων του SARS-CoV-2 μπορεί να αποκλειστεί χρησιμοποιώντας αναστολείς, που στοχεύουν τους ενεργοποιητές πρωτεάσης. Οι

εξελιγμένοι μηχανισμοί εισόδου κυττάρων του SARS-CoV-2 θέτουν σημαντικές προκλήσεις, αλλά επίσης ανοίγουν το δρόμο σε πολλαπλές στρατηγικές παρέμβασης που στοχεύουν την είσοδο του ιού στα κύτταρα (Shang et al, 2020).

### 3.3 Προληπτικές μέθοδοι - εγκεκριμένα εμβόλια

Τα εμβόλια COVID-19 κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με την τεχνική κατασκευής τους: Εμβόλια mRNA, εμβόλια φορέα αδενοϊού και εμβόλια απενεργοποιημένου ιού.

Τα εμβόλια mRNA, τα οποία αναπτύχθηκαν από την Pfizer-Biontech, και Moderna, είναι εμβόλια με βάση το RNA τροποποιημένα σε νουκλεοσίδια, ενθυλακωμένα σε νανοσωματίδια λιπιδίων που κωδικοποιούν τον τομέα δέσμευσης του υποδοχέα της πρωτεΐνης ακίδας SARS-CoV-2 (Shikamabukuro et al, 2021). Αυτό το σύστημα μεταφοράς νανοσωματιδίων-λιπιδίων αποτρέπει την ταχεία ενζυματική αποικοδόμηση του mRNA και διευκολύνει την παροχή *in vivo*. Επειδή τα νανοσωματίδια λιπιδίων είναι ευαίσθητα στη θερμοκρασία, αυτός ο τύπος εμβολίου θα πρέπει να μεταφέρεται και να αποθηκεύεται σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες (Voysset et al, 2021).

Το ChAdOx1 nCoV-19, το οποίο αναπτύχθηκε από την AstraZeneca, είναι ένα εμβόλιο φορέα αδενοϊού χιμπατζή με ελαττωματική αναπαραγωγή. Αυτό το εμβόλιο περιέχει το γονίδιο αντιγόνου της δομικής επιφανειακής γλυκοπρωτεΐνης SARS-CoV-2. Οι ανασυνδυασμένοι αδενοϊοί αναπτύχθηκαν αρχικά ως φορείς για γονιδιακή θεραπεία. Ωστόσο, επί του παρόντος χρησιμοποιούνται ως φορείς εμβολίων λόγω των κατάλληλων χαρακτηριστικών τους (Voysset et al, 2021). Το γονιδίωμα του αδενοϊού μπορεί να καταστεί ελαττωματικό ως προς την αντιγραφή, αν αποκόψουμε ορισμένες περιοχές, και μπορεί να προκαλέσει ειδικές διαγονιδιακές ανοσοαποκρίσεις. Επιπλέον, λόγω της σχετικής θερμοσταθερότητάς του, είναι ευκολότερο να αποθηκεύονται και να μεταφέρονται τα εμβόλια ChAdOx1 nCoV-19 από τα εμβόλια mRNA (Cirillo, 2021). Ωστόσο, η προϋπάρχουσα ανοσία λόγω φυσικών λοιμώξεων από αδενοϊό μπορεί να μειώσει την ανοσογονικότητα των εμβολίων φορέων. Ως εκ τούτου, χρησιμοποιούνται οι αδενοϊοί που απομονώνονται από χιμπατζήδες, και όχι ανθρώπινοι αδενοϊοί, ως φορείς εμβολίων. Παλαιότερα, φορείς αδενοϊού χιμπατζήδων με ελαττωματική αναπαραγωγή είχαν χρησιμοποιηθεί ως νέας γενιάς εμβόλια, όπως τα εμβόλια για τον ιό Ebola. Το εμβόλιο Ad26.COVS.2 και το Gam-COVID-Vac είναι επίσης ανασυνδυασμένα, ελαττωματικά ως

προς την αναπαραγωγή εμβόλια φορέα αδενοϊού που περιέχουν την πρωτεΐνη ακίδας SARS-CoV-2 (Voyset et al, 2021).

Τα εμβόλια CoronaVac και Sinopharm COVID-19 έχουν την αδρανοποιημένη μορφή του SARS-CoV-2. Τα εμβόλια απενεργοποιημένου ιού έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για την ανάπτυξη εμβολίων, συμπεριλαμβανομένων των εμβολίων πολιομυελίτιδας, ηπατίτιδας Α και της γρίπης (Ahn et al, 2021). Σε ένα εμβόλιο αδρανοποιημένου ιού, ο φορέας-ιός εξουδετερώνεται ή τροποποιείται έτσι ώστε να μην μπορεί να προκαλέσει την ασθένεια. Το CoronaVac είναι ένα εμβόλιο που αδρανοποιεί τον SARS-CoV-2 με ένεση βήτα-προπιολακτόνης μετά τη συλλογή του ιού χρησιμοποιώντας κύτταρα νεφρών αφρικανικών πράσινων πιθήκων. Η αδρανοποιημένη μορφή του SARS-CoV-2 δεν μπορεί πλέον να αναπαραχθεί, αλλά η πρωτεϊνική ακίδα παραμένει άθικτη και μπορεί να προκαλέσει ανοσογονικότητα (Voyset et al, 2021).

Ο εμβολιασμός με το ChAdOx1 nCoV-19 έδειξε αποκρίσεις πρωτεϊνικών αντισωμάτων κατά της ακίδας και επαγωγή αντιγονοειδικών Τ-λεμφοκυττάρων έναντι της πρωτεϊνικής ακίδας SARS-CoV-2 (Ahn et al, 2021). Σύμφωνα με τους Voysey et al., η συνολική αποτελεσματικότητα του ChAdOx1 nCoV-19 ήταν 70,4%. Είναι ενδιαφέρον, ότι η αποτελεσματικότητα ήταν υψηλότερη στους συμμετέχοντες που έλαβαν χαμηλή δόση ακολουθούμενη από μια τυπική δόση από ό,τι σε εκείνους που έλαβαν δύο τυπικές δόσεις (Cirillo et al, 2021).

Έχουν αναφερθεί αρκετές ανεπιθύμητες ενέργειες λόγω εμβολιασμού, συμπεριλαμβανομένων των αποκρίσεων υπερευαισθησίας και της υπερβολικής απελευθέρωσης κυτοκίνης. Η υπερευαισθησία ταξινομείται σε τέσσερις τύπους ανάλογα με τον μηχανισμό που ενεργοποιείται από τα εμβόλια. Τόσο το δραστικό συστατικό, όσο και τα άλλα συστατικά του εμβολίου μπορεί να προκαλέσουν υπερευαισθησία, με συχνότερη την αναφυλαξία και την έκκριση κυτοκίνης. Αυτές οι κυτοκίνες μπορούν να προκαλέσουν πόνο στο τοπικό σημείο προκαλώντας φλεγμονή. Επιπλέον, μπορεί να προκαλέσουν συστηματικά συμπτώματα όπως πονοκέφαλο, κόπωση, κακουχία, ναυτία και πυρετό (Thakur et al, 2020). Δυστυχώς, αυτά τα συστηματικά συμπτώματα είναι παρόμοια με τα συμπτώματα μολυσματικών ασθενειών συμπεριλαμβανομένου του COVID-19, κάτι που κάνει δύσκολο να δημιουργηθεί σχέση αιτίου - αιτιατού (Ahn et al, 2021).

### 3.4 Μεταλλάξεις

Οι ιοί εξελίσσονται γρήγορα, και οι νεοεμφανιζόμενοι ιοί έχουν αποτελέσει σημαντική αιτία ανησυχίας για τη δημόσια υγεία πολλές φορές στην ιστορία της ανθρωπότητας.

Οι μελέτες γενετικής αλληλουχίας έχουν αποκαλύψει πολυάριθμες μεταλλάξεις, και στον συγκεκριμένο ιό, κυρίως πολυμορφισμούς μεμονωμένων νουκλεοτιδίων και προσθήκες ή ελλείψεις νουκλεοτιδίων, που είναι ως επί το πλείστον ουδέτερες ή ήπια επιβλαβείς. Ωστόσο, ένα μικρό ποσοστό μεταλλάξεων μπορεί να αλλάξει τη δομή του ιού και να βοηθήσει τον ιό να προσαρμοστεί. Κυρίως αντικαταστάσεις ή ελλείψεις μπορούν να αλλάξουν την πολικότητα του πεπτιδίου, επηρεάζοντας τη δομή και τη λειτουργικότητα των πρωτεϊνών του ιού που εμπλέκονται στην παθογένεια, τη μολυσματικότητα, τη μεταδοτικότητα και την αντιγονικότητα (Liu et al, 2020b).

Ο ΠΟΥ, (2022) σε συνεννόηση με την Ομάδα Εργασίας για την Εξέλιξη του Ιού του ΠΟΥ SARS-CoV-2 έχει κατηγοριοποιήσει τον SARS-CoV-2 σε παραλλαγές που ενδέχεται να ενέχουν αυξημένο κίνδυνο για τη δημόσια υγεία στις ακόλουθες τρεις ομάδες:

- Παραλλαγές ανησυχίας: Το VOC (Variants of Concern) ορίζεται από την αύξηση της μεταδοτικότητας και της λοιμογόνου δράσης ή μείωση της αποτελεσματικότητας των ασκούμενων μέτρων δημόσιας υγείας, των κοινωνικών μέτρων και των διαθέσιμων θεραπειών.
- Παραλλαγές ενδιαφέροντος: Το VOI (Variants of Interest) ορίζεται από παραλλαγές που παρατηρείται, ότι προκαλούν την εξάπλωση στην κοινότητα, εμφανίζονται σε πολλαπλές περιπτώσεις ή ομάδες, ή έχουν εντοπιστεί σε διάφορες χώρες.
- Παραλλαγές υπό παρακολούθηση: Το VUM (Variants under Monitoring) ορίζεται ως μια παραλλαγή με γενετικές αλλαγές, για τις οποίες υπάρχει υποψία ότι επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά του ιού με κάποια ένδειξη, ότι μπορεί να θέσει σε κίνδυνο τη δημόσια υγεία και ασφάλεια στο μέλλον. Απαιτείται ενισχυμένη παρακολούθηση και συνεχής αξιολόγηση για τη συλλογή στοιχείων για το φαινοτυπικό αποτέλεσμα αυτών των παραλλαγών και τις επιδημιολογικές επιπτώσεις.

Παρακάτω αναφέρονται ενδεικτικά κάποιες από τις βασικότερες μεταλλάξεις όπως εμφανίζονται στην συστηματική βιβλιογραφική έρευνα των Takur et al (2022):

#### 3.4.1 B.1.1.7

Το B.1.1.7, γνωστό και ως VOC202012/01 εντοπίστηκε τον Σεπτέμβριο του 2020 στο Ηνωμένο Βασίλειο. Έχει 23 μεταλλάξεις σε σύγκριση με το αρχικό στέλεχος που βρέθηκε στο Wuhan (Γιουχάν) της Κίνας. Οκτώ από αυτές τις μεταλλάξεις βρέθηκαν να είναι στην πρωτεΐνη S. Οι αξιοσημείωτες μεταλλάξεις του είναι το N501Y, η έλλειψη 69/70 και η P681H. Η μετάλλαξη N501Y φαίνεται να επιτρέπει στην πρωτεΐνη S να συνδέεται πιο στενά με τον υποδοχέα ACE2. Ως μετάλλαξη είναι 40-80% πιο μεταδοτική. Σύμφωνα με την έκθεση των Davies et al, σχεδόν 5.000 από τους 17.452 θανάτους COVID-19 κατά τους μήνες Σεπτέμβριο έως Φεβρουάριο οφείλονταν σε αυτήν την παραλλαγή. Εκτίμησαν επίσης ότι η θνησιμότητα ήταν περίπου 55% υψηλότερη σε σύγκριση με άλλες παραλλαγές.

#### 3.4.2 Παραλλαγή Νότιας Αφρικής (Beta)

Η παραλλαγή B.1.351, γνωστή και ως 501Y.V2, αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά τον Οκτώβριο του 2020 στον κόλπο Nelson Mandela στη Νότια Αφρική. Μέχρι τον Δεκέμβριο του 2020 εντοπίστηκε και στη Ζάμπια. Υπάρχουν 23 μεταλλάξεις με 17 αλλαγές αμινοξέων, αλλά οι αξιοσημείωτες μεταλλάξεις σε αυτήν την παραλλαγή είναι οι K417N, E484K και N501Y στην πρωτεΐνη S. Προτείνεται ότι έχει αυξημένη μεταδοτικότητα και εμφανίζεται συχνότερα σε νέους χωρίς υποκείμενα νοσήματα. Η μετάλλαξη E484K σε αυτή την παραλλαγή μεσολαβεί στη διαφυγή αντισωμάτων και είναι ο κύριος λόγος για τη μειωμένη ευαισθησία στα εμβόλια.

#### 3.4.3 Βραζιλιάνικη παραλλαγή

Η παραλλαγή P.1 γνωστή και ως B.1.1.28.1 εντοπίστηκε για πρώτη φορά στη Βόρεια Βραζιλία στην πόλη Manaus στην πολιτεία Amazonas τον Δεκέμβριο του 2020. Μέχρι τον Ιανουάριο του 2021, εντοπίστηκε λίγο έξω από το Τόκιο στο αεροδρόμιο Haneda μεταξύ τεσσάρων ταξιδιωτών από τη Βραζιλία κατά τη διάρκεια συνήθους ελέγχου των επιβατών σε δείγματα που αναλύθηκαν στο Εθνικό Ινστιτούτο Λοιμωδών Νοσημάτων στην Ιαπωνία. Από την 1η Απριλίου 2021, υπήρχαν 224 αναφερόμενες περιπτώσεις σε 22 περιοχές δικαιοδοσίας των ΗΠΑ. Έχει 35 μεταλλάξεις με 17 αλλαγές αμινοξέων. Οι αξιοσημείωτες μεταλλάξεις του είναι οι K417T, E484K και N501Y. Σε μια μελέτη από τους Naveca et al (2021), διαπιστώθηκε ότι αυτή η παραλλαγή είναι 2,2 φορές περισσότερο μεταδοτική,



γεγονός που οδήγησε σε μερικές περιπτώσεις επαναμόλυνσης που ανάρρωσαν από τον COVID-19 και σχεδόν έχει παρόμοιο ποσοστό μόλυνσης στους νεότερους και στους μεγαλύτερους ασθενείς.

#### 3.4.4 Παραλλαγή Midwest των ΗΠΑ

Ανιχνεύτηκε στο Οχάιο και ακολουθήθηκε από περιπτώσεις σε άλλες μεσοδυτικές πολιτείες τον Δεκέμβριο του 2020 και τον Ιανουάριο του 2021. Αυτή η παραλλαγή έχει μεταλλάξεις στην πρωτεΐνη S, στην πρωτεΐνη M και σε την πρωτεΐνη N. Μια άλλη παραλλαγή έχει ταυτοποιηθεί με τη μετάλλαξη S N501Y, δείκτη του B.1.1.7, χωρίς άλλες σχετικές μεταλλάξεις με αυτό το στέλεχος. Επί του παρόντος, δεν υπάρχουν ενδείξεις αυξημένης μεταδοτικότητας ή λοιμογόνου δράσης για αυτήν την παραλλαγή.

#### 3.4.5 B.1.526 και B.1.525

Αυτές οι παραλλαγές εντοπίστηκαν για πρώτη φορά στη Νέα Υόρκη, στις ΗΠΑ. Οι αξιοσημείωτες μεταλλάξεις είναι οι E484K και S477N. Ενώ η E484K μειώνει την απόκριση αντισωμάτων, η S477N αυξάνει τη διαδικασία προσκόλλησης.

#### 3.4.6 Παραλλαγή διπλής μετάλλαξης - B.1.617 (Delta)

Αυτή η παραλλαγή εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Ινδία. Καθώς παρατηρούνται δύο μεταλλάξεις στον ίδιο ιό, αυτή η παραλλαγή ονομάζεται παραλλαγή «διπλής μετάλλαξης». Σημαντική αύξηση σημειώθηκε στα κρούσματα COVID-19 στην Ινδία. Το πρώτο κρούσμα στις ΗΠΑ εντοπίστηκε στο Σαν Φρανσίσκο στις 5 Απριλίου 2021. Οι αξιοσημείωτες μεταλλάξεις είναι οι E484Q και L452R. Αυτές οι παραλλαγές διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο μετάδοσης και επίσης είναι ανθεκτικές στον εμβολιασμό. Σύμφωνα με το Εργαστήριο Ιολογίας του Ινδικού Συμβουλίου Ιατρικής Έρευνας, το εμβόλιο COVAXIN της Bharat Biotech έχει βρεθεί ότι εξουδετερώνει αποτελεσματικά τη μόλυνση και είναι 78% αποτελεσματικό έναντι της παραλλαγής διπλής μετάλλαξης.

#### 3.4.7 Τριπλή παραλλαγή μετάλλαξης

Εκτός από τα E484Q και L425R σε παραλλαγές διπλής μετάλλαξης, η νέα τριπλή παραλλαγή που ανακαλύφθηκε στις 20 Απριλίου 2021, χαρακτηρίζεται από τη διαγραφή δύο αμινοξέων, των H146del και Y145del στην πρωτεΐνη S. Από τις 21 Απριλίου 2021,

συνολικά 1.189 δείγματα βρέθηκαν θετικά στη Μαχαράστρα, στο Δελχί, στη Δυτική Βεγγάλη και στο Τσατισγκάρ της Ινδίας. Παρόμοια με άλλες παραλλαγές, οι παραλλαγές τριπλής μετάλλαξης έχουν υψηλότερη μεταδοτικότητα.

#### 3.4.8 N440K

Σύμφωνα με την τελευταία αναφορά, εμφανίστηκε μια άλλη νέα παραλλαγή N440K με τη μετάλλαξη στην πρωτεΐνη S, η οποία είχε ως αποτέλεσμα την ξαφνική αύξηση των κρουσμάτων στο Andhra Pradesh της Ινδίας. Το Κέντρο Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας διαπίστωσε ότι αυτή η παραλλαγή έχει ενισχυμένη σύνδεση με υποδοχείς ACE2, ενώ είναι 10 έως 1.000 φορές πιο μεταδοτική και ανθεκτική στα μονοκλωνικά αντισώματα κατηγορίας 3 C135 και REGN10987.

#### 3.4.9 B.1.1.529 (Omicron)

Η παραλλαγή B.1.1.529 αναφέρθηκε για πρώτη φορά στον ΠΟΥ από τη Νότια Αφρική στις 24 Νοεμβρίου 2021. Η επιδημιολογική κατάσταση στη Νότια Αφρική έχει χαρακτηριστεί από τρεις διακριτές κορυφές σε αναφερόμενες περιπτώσεις, η τελευταία από τις οποίες ήταν κυρίως η παραλλαγή Delta.

Αυτή η παραλλαγή έχει μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων, μερικές από τις οποίες είναι ανησυχητικές. Τα προκαταρκτικά στοιχεία υποδηλώνουν αυξημένο κίνδυνο επαναμόλυνσης με αυτήν την παραλλαγή, σε σύγκριση με άλλες. Τα τρέχοντα διαγνωστικά SARS-CoV-2 PCR συνεχίζουν να ανιχνεύουν αυτήν την παραλλαγή. Πολλά εργαστήρια έχουν υποδείξει ότι για μια ευρέως χρησιμοποιούμενη δοκιμή PCR, ένα από τα τρία γονίδια-στόχους δεν ανιχνεύεται, και επομένως αυτή η δοκιμή μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για αυτήν την παραλλαγή, εν αναμονή της επιβεβαίωσης της αλληλουχίας. Χρησιμοποιώντας αυτήν την προσέγγιση, αυτή η παραλλαγή έχει ανιχνευθεί με ταχύτερους ρυθμούς από προηγούμενες εκρήξεις μόλυνσης, υποδηλώνοντας ότι αυτή η παραλλαγή μπορεί να έχει πλεονέκτημα ανάπτυξης.

## 4. Αντιφλεγμονώδη - αντικά σε χρήση και επαναξιολόγηση γνωστών φαρμάκων

## 4.1 Αντικα

Αρκετά εγκεκριμένα διαθέσιμα αντιικά φάρμακα, μόνα ή σε συνδυασμό με άλλη αγωγή, έχουν χρησιμοποιηθεί και ελέγχονται κλινικά για την εκτεταμένη χρήση τους από την πρώιμη φάση της τρέχουσας πανδημίας έως τώρα. Πολλές κλινικές δοκιμές αυτών των αντιικών φαρμάκων είναι ακόμη σε εξέλιξη (Abokleesh et al, 2022).

Αν και πολλές προκαταρκτικές μελέτες έδειξαν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα, αρκετές εκτεταμένες κλινικές έρευνες ανέφεραν αντιφατικά ευρήματα με σημαντικές δυσμενείς επιπτώσεις αυτών των παρατεταμένων εφαρμογών αντιικών φαρμάκων. Ωστόσο, πολυάριθμες κλινικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν με μεγαλύτερα δείγματα/ασθενείς έχουν πρόσφατα αποκαλύψει πολλά μικτά αποτελέσματα, τα οποία χρήζουν προσεκτικής μελέτης (Abokleesh et al, 2022).

### 4.1.1 Remdesivir (RDV)

Η ρεμδεσιβίρη, ένα ανάλογο μονοφωσφορικού νουκλεοσιδίου, έχει εμφανιστεί ως ένα από τα πιο πολλά υποσχόμενα κλινικά διερευνημένα φάρμακα για τη θεραπεία της λοίμωξης SARS-CoV-2 από τη φάση έναρξης της επιδημίας COVID-19. Η RDV αναπτύχθηκε προκαταρκτικά για θεραπεία οξείας νόσου του ιού ebola. Η RDV δρα ως αντιικό ευρέος φάσματος αναστέλλοντας την δράση του ενζύμου RNA πολυμεράση, που εξαρτάται από το RNA για την αντιγραφή του ιού, και έχει ήδη δείξει την αποτελεσματικότητά του έναντι του SARS-CoV-1 και του MERS-CoV μέσω της βελτίωσης της πνευμονικής λοίμωξης (Batiha et al, 2020).



Figure 4 Remdesivir, Πηγή: Npr.org

#### 4.1.2 Favipiravir (FPV)

Το Favipiravir, είναι ένα ανάλογο αντικό πυραζίνης, είναι ένας άλλος ευρέος φάσματος εξαρτώμενος από RNA αναστολέας ενζύμου RNA πολυμεράσης που έχει χρησιμοποιηθεί σε εκτεταμένη κλίμακα για τη θεραπεία ασθενών με COVID-19 σε διάφορες χώρες σε όλο τον κόσμο (Zhao et al, 2020).

Οι Zhao et al., (2020) διεξήγαγαν μια μεγάλης κλίμακας τυχαιοποιημένη δοκιμή σε 55 ασθενείς που βρέθηκαν δεύτερη φορά θετικοί στον SARS-CoV-2. Αυτή η έρευνα αποκάλυψε ότι το FPV μείωσε τη διάρκεια της αποβολής του ιού και μείωσε σημαντικά τα επίπεδα C-αντιδρώσας πρωτεΐνης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

#### 4.2 Αντιφλεγμονώδη

Η εξέλιξη του COVID-19 μπορεί να χωριστεί σε τρεις διακριτές φάσεις που περιλαμβάνουν:

Πρώιμη φάση μόλυνσης, όπου ο ιός διεισδύει στα κύτταρα - ξενιστές στο πνευμονικό παρέγχυμα.

Πνευμονική φάση, στην οποία ο πολλαπλασιασμός του ιού προκαλεί τραυματισμό πνευμονικού ιστού καθώς ενεργοποιείται η ανοσολογική απόκριση του ξενιστή και

Η απόκριση «καταρράκτης» της φλεγμονής, που πυροδοτείται από μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με παθογένεια και μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβη που εκτίθενται κατά τη διάρκεια της ενεργού ιικής αναπαραγωγής και απελευθέρωσης (Aziz et al, 2018). Αυτή η τρίτη φάση του φλεγμονώδους καταρράκτη μπορεί να συμβεί ακόμη και όταν οι συγκεντρώσεις του ιού πέφτουν και αποτελείται από συστατικά που στοχεύει η κολχικίνη (Reyes et al, 2021).

Τα σήματα του SARS-CoV-2 δρουν σε μακροφάγα και άλλα λευκά κύτταρα για να οδηγήσουν τη συναρμολόγηση ενός συμπλέγματος προφλεγμονώδους πρωτεΐνης, του φλεγμονώδους υποδοχέα πρωτεΐνης που αποτελείται από NLRP3, προσαρμογέα πρωτεΐνης τύπου κηλίδας που σχετίζεται με την απόπτωση και την πρωτεάση (Reyes et al, 2021).

Οι συνδέσεις μεταξύ της φλεγμονής, της θρόμβωσης και της κακής έκβασης του COVID-19 είναι καλά τεκμηριωμένες. Οι εκδηλώσεις βαθιάς φλεγμονής στη σοβαρά εξελισσόμενη COVID-19 περιλαμβάνουν σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας και κατανεμητικό σοκ, μυοκαρδιακή βλάβη λόγω οξέος στεφανιαίου συνδρόμου ή/και

αναντιστοιχία προσφοράς-ζήτησης στο πλαίσιο της έντονης φλεγμονώδους απόκρισης και των αιμοδυναμικών αλλαγών τύπου 2. Είναι επίσης σημαντικά μεγαλύτερη σε άτομα με σοβαρό COVID-19 (Perricone et al, 2021).

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα παρέχουν αποτελεσματική καταπραϋντική δράση και είναι σημαντικά για τη θεραπεία φλεγμονωδών ασθενειών. Αποτελούν μέρος της κλίμακας του πόνου του ΠΟΥ και έχουν ιδιότητες που συντηρούν τα οπιοειδή, που υποστηρίζονται από δεδομένα από τυχαιοποιημένες δοκιμές (Abokleesh et al, 2022). Τον Μάρτιο του 2020, το γαλλικό υπουργείο υγείας και τα μέσα ενημέρωσης συζήτησαν αδημοσίευτα δεδομένα που δείχνουν ότι η χρήση ΜΣΑΦ θα μπορούσε να αυξήσει τη σοβαρότητα του COVID-19. Ακολούθησε συζήτηση, με ορισμένους να υποστηρίζουν ότι τα ΜΣΑΦ θα πρέπει να αποφεύγονται ως αποτέλεσμα αυτών των ευρημάτων. Αυτή η συζήτηση οδήγησε σε αρκετές ρυθμιστικές αρχές που ζήτησαν επείγουσα διερεύνηση των ΜΣΑΦ και της σοβαρότητας του COVID-19 (Al-Karmalawy & Elshal, 2021).

Πιο πρόσφατες μελέτες (Abokleesh et al, 2022) δεν βρήκαν συσχετίσεις μεταξύ της χρήσης ΜΣΑΦ, της εισαγωγής στο νοσοκομείο και των χειρότερων εκβάσεων για ασθενείς με COVID-19. Υπάρχουν, βέβαια, αναγνωρισμένες ανησυχίες για την ασφάλεια με τη χρήση ΜΣΑΦ, συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης επίπτωσης εγκεφαλικού επεισοδίου, γαστρεντερικής αιμορραγίας, εμφράγματος του μυοκαρδίου, οξείας νεφρικής βλάβης και αιμορραγίας, που είναι πιο συχνές σε ηλικιωμένους. Αντίθετα, μια τυχαιοποιημένη δοκιμή στο Ηνωμένο Βασίλειο διαπίστωσε ότι η ιβουπροφαίνη (ibuprofen) μείωσε τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων της οξείας λοίμωξης του αναπνευστικού σε ασθενείς στην κοινότητα. Σε προκλινικά μοντέλα, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα ΜΣΑΦ μειώνουν το πνευμονικό οίδημα, μειώνουν τη διαρροή του ενδοθηλίου και μειώνουν τη σοβαρότητα του συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, που οδηγεί στην πρόταση ότι μπορεί να είναι χρήσιμα στη θεραπεία του COVID-19, με τουλάχιστον μία κλινική δοκιμή σε εξέλιξη (Arevalo-Rodriguez et al, 2021).

Συμπερασματικά, η χρήση ΜΣΑΦ σε ασθενείς με COVID-19 δεν φαίνεται να συνεπάγεται αυξημένο κίνδυνο χειρότερων εκβάσεων. Αυτή η ιδέα υποστηρίζεται από ένα αυξανόμενο σύνολο στοιχείων, των οποίων η πλειονότητα καταλήγει στο ίδιο συμπέρασμα.

#### 4.2.1 Κολχικίνη

Η κολχικίνη έχει προταθεί ως αντιφλεγμονώδες σκεύασμα για την αντιμετώπιση των παραπάνω. Οι μικροσωληνίσκοι της είναι μακρές πρωτεΐνες που σχηματίζονται μέσω πολυμερισμού διμερών  $\alpha/\beta$  τουμπουλίνης. Η κολχικίνη παρεμβάλλεται μη αναστρέψιμα σε ελεύθερα  $\alpha/\beta$  διμερή που ενσωματώνονται και αποκλείουν την επέκταση των μικροσωληνίσκων (Perricone et al, 2021). Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, οι μικροσωληνίσκοι διευκολύνουν την κίνηση των μορίων προσκόλλησης στις κυτταρικές επιφάνειες. Οι συγκεντρώσεις κολχικίνης είναι πολύ υψηλότερες στα ουδετερόφιλα από άλλα λευκοκύτταρα λόγω της μειωμένης δραστηριότητας της μεμβράνης P-γλυκοπρωτεΐνης που χρησιμεύει ως ενεργειακά εξαρτώμενος μεταφορέας εκροής κολχικίνης. Έτσι, τα ουδετερόφιλα φαίνεται να είναι πιο ευαίσθητα από άλλα κύτταρα σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις ορού κολχικίνης (Reyes et al, 2021).

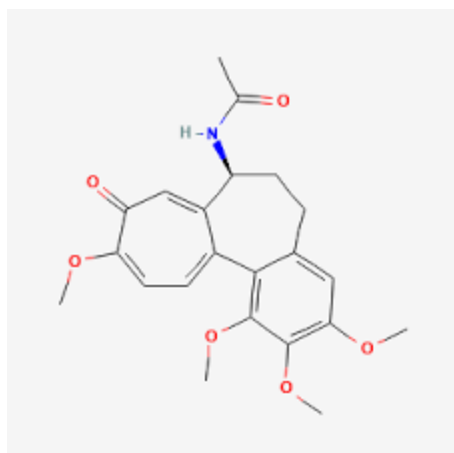


Figure 5 Colchicine, Πηγή:pubchem.ncbi.nih.gov

Οι Cronstein et al (2021) έδειξαν ότι η κολχικίνη προκαλεί ποσοτική μείωση στην έκφραση της λευκοκυτταρικής σελεκτίνης και μειώνει την έκφραση της ενδοθηλιακής σελεκτίνης, δύο πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην κύλιση και την προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο ενδοθήλιο.

Πρόσθετες μελέτες (Al-Karmalawy et al, 2021) δείχνουν ότι η κολχικίνη αναστέλλει άμεσα την ενδοκυτταρική σηματοδότηση ουδετερόφιλων και την απελευθέρωση λυσοσωμικών ενζύμων κατά τη διάρκεια της φαγοκυττάρωσης. Η μεσολαβούμενη από την κολχικίνη αναστολή της απελευθέρωσης χημειοδραστικών παραγόντων καταστέλλει την

προσκόλληση των ουδετερόφιλων στο φλεγμαίνον ενδοθήλιο. Η κολχικίνη αναστέλλει επίσης την εισροή ασβεστίου, η οποία αυξάνει την ενδοκυττάρια κυκλική απόκριση της μονοφωσφορικής αδενοσίνης. Παρατηρήθηκε ότι η κολχικίνη μπορεί να μειώσει τον διεγερμένο μεταβολισμό των ουδετερόφιλων όπως μετράται με εξωκυτταρική οξίνιση

Πιο πρόσφατα, η κολχικίνη έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την παραγωγή κυτοκίνης αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του φλεγμονώδους NLRP3. Ο μηχανισμός της δράσης της κολχικίνης στο φλεγμονώδες σώμα παραμένει μια περιοχή συνεχιζόμενης έρευνας.

### 4.3 Γνωστά σκευάσματα

Το Arbidol, γνωστό και ως umifenovir, είναι εγκεκριμένο στη Ρωσία και την Κίνα για τη θεραπεία λοιμώξεων από τον ιό της γρίπης και είναι κατοχυρωμένο με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας για θεραπεία SARS. Ο αντιικός μηχανισμός arbidol κατά της γρίπης A και B περιλαμβάνει την αναστολή της σύντηξης του ιού με την μεμβράνη-στόχο, η οποία εμποδίζει την είσοδο του ιού στο κύτταρο (Muralidharan, 2020).



Figure 6 Arbidol, Πηγή: [Newdrugapprovals.org](http://Newdrugapprovals.org)

Το Oseltamivir είναι ένα άλλο φάρμακο που έχει εγκριθεί για τη θεραπεία της γρίπης A και B και αναστέλλει την ιική νευραμινιδάση και, κατά συνέπεια, εμποδίζει την απελευθέρωση ιικών σωματιδίων από τα κύτταρα ξενιστές, μειώνοντας την εξάπλωση στην αναπνευστική οδό. Επιπλέον, η χρήση του oseltamivir αναφέρθηκε ήδη κατά τη διάρκεια της επιδημίας COVID-19 στην Κίνα, είτε με είτε χωρίς αντιβιοτικά και κορτικοστεροειδή (Abokleesh et al, 2022). Το Oseltamivir χρησιμοποιούμενο επίσης σε μια

κλινική δοκιμή με πολλαπλούς συνδυασμούς με χλωροκίνη και φαβιπιραβίρη, ένα νουκλεοσιδικό ανάλογο που είναι ευρέως γνωστό ως αντικό φάρμακο ευρέος φάσματος, έδειξε EC<sub>50</sub> 61,88 μΜ έναντι του SARS-CoV-2 και χαμηλή τοξικότητα (Vincent et al, 2020).

Ο συνδυασμός λοπιναβίρης-ριτοναβίρης έχει εγκριθεί για τη θεραπεία του AIDS σε πολλές χώρες. Και τα δύο φάρμακα είναι αναστολείς της πρωτεάσης του HIV, αλλά η ριτοναβίρη είναι επίσης αναστολέας του κυτοχρώματος P450 και της GP, γεγονός που υποστηρίζει τις φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές δραστηριότητες του lopinavir κατά του HIV. Ένας τέτοιος συνδυασμός, με ιντερφερόνη β-1b, βρίσκεται στη φάση 2 για τη θεραπεία MERS. Αρκετές δοκιμές περιλαμβάνουν θεραπεία με λοπιναβίρη-ριτοναβίρη σε σύγκριση με τη χρήση άλλων φαρμάκων για τον COVID-19: αρβιδόλη, καριμυκίνη, TCM, χιγανρίν, δανοπρεβίρη-ριτοναβίρη και εισπνοή ιντερφερόνης (Vincent et al, 2020). Ωστόσο, προηγούμενο άρθρο υποστήριξε ότι σε μια κλινική δοκιμή με 199 ασθενείς με εργαστηριακά επιβεβαιωμένη λοίμωξη SARS-CoV-2, ο συνδυασμός λοπιναβίρης-ριτοναβίρης δεν συσχετίστηκε με κλινική βελτίωση σε σύγκριση με τις τυπικές διαδικασίες θεραπείας (Abokleesh et al, 2022).

Οι IFN – ιντερφερόνες είναι φυσικά απαντώμενες ομάδες κυτοκινών που εξυπηρετούν ως φυσικά εμπόδια έναντι ξένων ιών, βακτηρίων, μιτογόνων παραγόντων και μολύνσεων από κύτταρα όγκου. Όταν συνδέονται με τους υποδοχείς στόχους, ενεργοποιούνται μια ποικιλία γονιδίων, τα οποία ευθύνεται για αντικές και αντιπολλαπλασιαστικές και ανοσοτροποποιητικές δραστηριότητες (Liu et al, 2020).

Ο FDA των ΗΠΑ ενέκρινε την IFN για τη θεραπεία της σκλήρυνσης κατά πλάκας και των λοιμώξεων από ηπατίτιδα Β και C. Μια ανεπάρκεια ιντερφερόνης μπορεί να προκαλέσει τη λοίμωξη SARS-CoV-2 και αρκετές κλινικές δοκιμές έχουν ξεκινήσει από την αρχική φάση της πανδημίας για την αξιολόγηση της ασφάλειας και την αποτελεσματικότητα των IFN κατά του COVID-19 (Ju et al, 2020).

Το Lopinavir συνήθως συνταγογραφείται για την πρόληψη της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας καθώς και λοιμώξεις SARS-CoV και MERS-CoV, σε συνδυασμό με χαμηλότερη δόση ενός ενισχυτή ριτοναβίρης (Abokleesh et al, 2022). Μηχανιστικά, το LPV λειτουργεί ως απεπτιδομιμητικός αναστολέας του ενζύμου πρωτεάσης HIV-1, ενώ το RTV παίζει βασικό ρόλο ως φαρμακοκινητικός προαγωγέας του LPV επιβραδύνοντας τον ηπατικό μεταβολισμό του ένζυμου CYP3A4, αυξάνοντας έτσι τη συγκέντρωση στο πλάσμα και τον χρόνο ημιζωής του LPV. Λόγω της πιθανής επίδρασής του στην ικκή φόρτιση στο



κυτταρικό στάδιο, αρχικά η θεραπεία με LPV/RTV στον COVID-19 έδειξε μείωση στη χρήση στεροειδών και νοσοκομειακή λοίμωξη (Abokleesh et al, 2022).

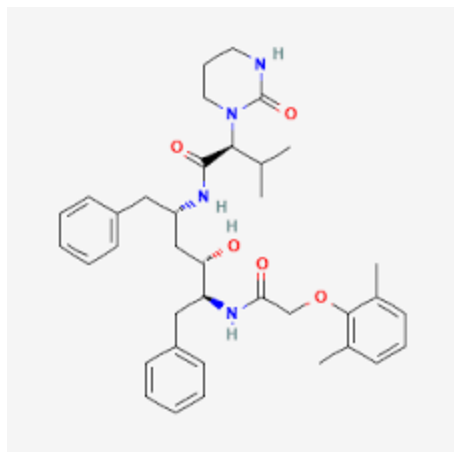


Figure 7 Lopinavir, Πηγή: [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Ένα φυσικό παράγωγο προϊόντος, η ιβερμεκτίνη, (ivermectin) η οποία είναι ένα μείγμα δύο κύριων ομολόγων, της ιβερμεκτίνης B1a και της ιβερμεκτίνης B1b, είναι ένα αντιπαρασιτικό φυσικό προϊόν που απομονώθηκε από έναν μικροοργανισμό που βρέθηκε στο ιαπωνικό έδαφος (Okumus, 2021). Χρησιμοποιείται για τη θεραπεία παρασιτικών λοιμώξεων όπως οι ψείρες της κεφαλής, η ψώρα, η τύφλωση του ποταμού (Onchocerciasis, or river blindness), η ισχυροειδίαση, η τριχουρίαση, η ασκαρίαση και η λεμφική φιλαρίαση. Η ιβερμεκτίνη έχει δείξει ισχυρή in vitro δράση κατά του SARS-CoV-2. Μείωσε την αντιγραφή του ιού κατά 99,98% εντός 48 ωρών μετά τη θεραπεία με εφάπαξ δόση 5  $\mu$ M. Η ανασταλτική συγκέντρωση 50% προσδιορίστηκε ότι είναι  $\sim$ 2  $\mu$ M. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για τον προσδιορισμό του θεραπευτικού δυναμικού κατά του COVID-19 (Okumus, 2021).

Τέλος, η βιταμίνη C, (ascorbic acid), η pirfenidone, το bevacizumab, η fingolimod, και η bromhexine hydrochloride πρόκειται να δοκιμαστούν στον COVID-19. Η βιταμίνη C έχει αντιοξειδωτική δράση και μπορεί να μειώσει το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή, επιδράσεις που βελτιώνουν τη σύνθεση των αγγειοκατασταλτικών, ενισχύουν τη λειτουργία των ανοσοκυττάρων, βελτιώνουν την ενδαγγειακή λειτουργία και παρέχουν επιγενετικές ανοσολογικές τροποποιήσεις (Rawat, 2021). Οι κλινικές δοκιμές έχουν δείξει πολλά υποσχόμενα δεδομένα για τη βελτίωση της θνησιμότητας, αλλά απαιτούνται πιο

εκτεταμένες μελέτες για την επικύρωση αυτών των συμπερασμάτων. Η πιρφενιδόνη έχει χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία ασθενειών ιδιοπαθούς πνευμονικής ίνωσης λόγω των αντιφλεγμονωδών και αντιοξειδωτικών επιδράσεων, συγκεκριμένα με την αναστολή της IL-1β και της IL-4 (Rawat, 2021). Η δοκιμή NCT04282902 ισχυρίστηκε ότι τα αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα μπορεί να είναι χρήσιμα στη μόλυνση από SARS-CoV-2.

Το bevacizumab είναι ένα εξανθρωπισμένο μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα και μπορεί να μειώσει τα επίπεδα του VEGF που προκαλούνται από υποξία, σοβαρή φλεγμονή και ανοδική ρύθμιση του μολυσμένου επιθηλίου της αναπνευστικής οδού, τα οποία όλα μπορεί να καταστέλλουν το οίδημα σε ασθενείς με COVID-19 (Pang, 2021). Το Fingolimod είναι ένας ρυθμιστής του υποδοχέα της σφιγγοσίνης-1-φωσφορικής με έναν αποτελεσματικό ρυθμιστή του ανοσοποιητικού, που είναι χρήσιμος στη σκλήρυνση κατά πλάκας (Pang, 2021). Σύμφωνα με ορισμένα παθολογικά ευρήματα πνευμονικού οιδήματος και σχηματισμού υαλώδους μεμβράνης, η χρήση ανοσορρυθμιστών, μαζί με υποστήριξη αναπνευστήρα, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε ασθενείς με σοβαρή μορφή για την πρόληψη της ανάπτυξης συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (Perloth, 2021). Η μελέτη NCT04280588 στοχεύει στον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητας της φινγκολιμόδης για τον COVID-19. Η βρωμεξίνη είναι ένας διαμεμβρανικός αναστολέας πρωτεάσης της σερίνης. Μια τέτοια πρωτεάση είναι υπεύθυνη για την ενεργοποίηση της S-γλυκοπρωτεΐνης του SARS-CoV και του MERS-CoV για την είσοδο του ιού μέσω της πλασματικής μεμβράνης. Μία μελέτη θα αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα της βρωμεξίνης σε συνδυασμό με την τυπική θεραπεία/την τυπική θεραπεία σε ασθενείς με COVID-19 (Perloth, 2021).

## **5. Φαρμακολογική έρευνα νέων συνθετικών φυσικών μορίων**

Μία μελέτη docking in silico επικεντρώθηκε στις κύριες πρωτεάσες 3CLpro PDB ID, ως πιθανές πρωτεΐνες-στόχους για τον SARS - COVID-19. Διερευνήθηκαν το δυναμικό αναστολής και η αποτελεσματικότητα των ενώσεων από το Kabasura kudineer έναντι του νέου κορονοϊού 3CLpro σε μελέτες μοριακής σύνδεσης με χρήση του Igemdock. Το ένζυμο πρωτεολυτικής ωρίμανσης Mpro στον CoV έχει αναγνωριστεί ως η πιθανή πρωτεΐνη-στόχος για την πρόληψη της εξάπλωσης της μόλυνσης μέσω της αναστολής της διάσπασης της ιικής πολυπρωτεΐνης (Al-Karmalawy & Eshal, 2021). Η ανακάλυψη της δομής

πρωτεάσης Mpro έχει διευκολύνει τον εντοπισμό πιθανών υποψηφίων φαρμάκων για θεραπεία (Sayed et al., 2020).

Οι πρωτεϊνικές αλληλουχίες των δύο στελεχών του Coronavirus SARS-CoV Mpro και του 2019-nCoV Mpro είναι κατά 96% πανομοιότυπες και οι ενεργές θέσεις και στις δύο πρωτεΐνες παραμένουν απαλλαγμένες από μεταλλάξεις. Σε πολλούς ιούς, οι πρωτεάσες παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην ιική αντιγραφή (Al-Karmalawy et al, 2021). Ως εκ τούτου, οι πρωτεάσες χρησιμοποιούνται συχνά ως πιθανοί στόχοι κατά την ανάπτυξη αντιικών θεραπειών. Ωστόσο, η διακοπή της δραστηριότητας πρωτεάσης στα κύτταρα ξενιστές μπορεί να οδηγήσει σε διάφορες ασθένειες. Ως εκ τούτου, οι πρωτεάσες-ξενιστές μπορούν γενικά να χρησιμοποιηθούν ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι. Αρκετές ενώσεις από φαρμακευτικά φυτά έχουν αναφερθεί ότι παρουσιάζουν αντιικές ιδιότητες.

Όπως φαίνεται και σε πολλές θανατηφόρες ασθένειες, πιο αποτελεσματικά φάρμακα μπορούν συχνά να σχεδιαστούν με βάση τη δομή των φυσικών ενώσεων που εμφανίζουν την επιθυμητή δράση. Πράγματι, τα μισά από όλα τα φάρμακα που εγκρίθηκαν μεταξύ 1981 και 2014 προέρχονταν από (ή μιμήθηκαν μια) φυσική ένωση. Υπάρχει μια πληθώρα φυσικών χημικών ουσιών που έχουν πιθανά βιολογικά οφέλη λόγω των χημικών τους ιδιοτήτων (Bharti et al, 2021). Παρουσιάζουν αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη, αντικαρκινική, αντιβακτηριακή, αντιμυκητιακή και αντιική δράση. Για παράδειγμα, η κουρκουμίνη, ένα συστατικό του κουρκουμά, αποδείχθηκε ότι έχει ισχυρή αντιική δράση ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα ιών. Τα φυτοχημικά μπορούν επομένως να αναδειχθούν ως πλούσια πηγή αποτελεσματικών και ασφαλέστερων παραγόντων κατά του SARS-CoV-2. Έχοντας αυτό υπόψη, πολλά φυσικά μόρια με φαρμακευτική δράση εξετάστηκαν για να διαπιστωθεί εάν έχουν πιθανή αντιική δράση κατά του SARS-CoV-2 (Bharti et al, 2021).

Τα μόρια αυτά συχνά είναι γνωστό ότι χρησιμοποιούνται ως θεραπεία και για άλλες ασθένειες. Για παράδειγμα, η ελλειπτική είναι μια οργανική ετεροτετρακυκλική ένωση και ένας φυτικός μεταβολίτης που δρα ως αντινεοπλασματικός παράγοντας. Η εκτεΐνασκιδίνη είναι ένα αλκαλοειδές θαλάσσιας τετραϋδροϊσοκινολίνης. Είναι ένα φυσικό προϊόν που προέρχεται από την Καραϊβική Θάλασσα, διαθέτει αντικαρκινική δράση και χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του σαρκώματος των μαλακών μορίων. Άλλα φυσικά μόρια είναι η ομοχαρινγκτονίνη, μια ημισυνθετική σύνθεση του κυτταροτοξικού

φυτικού αλκαλοειδούς. Απομονώθηκε από το *Cephalotaxus* και αναφέρθηκε ότι έχει πιθανή αντικρκική και αντινεοπλασματική δράση (Mahmoud, 2021).

Οι δολαστατίνες 10 και 15 είναι μικρά πεπτίδια που απομονώθηκαν από τον θαλάσσιο λαγό *Dolabella Auricularia* με την ικανότητα να αλληλεπιδρούν με την τουμπουλίνη (Vincidomini et al, 2021). Οι ανασταλτικές της ανάπτυξης ιδιότητές τους είχαν διερευνηθεί προηγουμένως μέσω της συμμετοχής ανθρώπινων κυτταρικών γραμμών καρκινώματος ωοθηκών και παχέος εντέρου. Το Halichondrin είναι μια συνθετική μακροκυκλική κετόνη με ρόλο στη θεραπεία μιας ποικιλίας συμπαγών όγκων (Roviello & Roviello, 2021). Η πλικαμυκίνη είναι ένα αντιβιοτικό που απομονώνεται από το βακτήριο *Streptomyces rificatus*. Παλαιότερα γνωστή ως Μιθραμυκίνη, αυτή η ένωση χρησιμοποιείται ως αντικαρκινικός παράγοντας στη θεραπεία των καρκίνων των όρχεων και των γεννητικών κυττάρων (Mahmoud, 2021).

Τα ευρήματά των παραπάνω ερευνών, όπως και των Bharti et al, (2021) μέσω της εφαρμοσμένης προσέγγισης δομικής βιοπληροφορικής υποδηλώνουν ότι όλες αυτές οι ενώσεις μπορεί να έχουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν κατά του SARS-CoV-2 και θα πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω ως προληπτικά θεραπευτικά για τον COVID-19.

Τα αλκαλοειδή είναι φυσικά φυτοχημικά γνωστά για τις βιολογικές τους δραστηριότητες, πολλά από τα οποία έχουν μελετηθεί εντατικά για το ευρύ φάσμα των αντικρκικών τους δράσεων έναντι διαφορετικών ιών DNA και RNA. Συνολικά, η επίδραση των αλκαλοειδών σε μοριακό επίπεδο υποδηλώνει υψηλό βαθμό ειδικότητας, που σημαίνει ότι θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως ισχυροί και ασφαλείς αντικρκικοί παράγοντες που περιμένουν την αξιολόγηση και την εκμετάλλευση (Abookleesh et al, 2022).

Όπως και με τους SARS-CoV, MERS-CoV και άλλους μη αναπνευστικούς ιούς, τα φλαβονοειδή παρουσιάζονται και αυτά ως μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική παρέμβαση δεδομένης της επιτυχίας τους σε *silico*, *in vitro*, *in vivo* και πιο πρόσφατα, σε κλινικές μελέτες. Τα πιο αποτελεσματικά μέχρι στιγμής ήταν η κερσετίνη και τα παράγωγα μυρικετίνης, η βαϊκελαΐνη, η βαϊκαλίνη, το EGCG και το ταννικό οξύ. Αυτή τη στιγμή υπάρχουν συνεχιζόμενες κλινικές μελέτες που αφορούν στη θεραπευτική δυνατότητα εκχυλισμάτων πλούσιων σε φλαβονοειδή σε συνδυασμό με συνθετικά φάρμακα ή άλλες πολυφαινόλες (Bharti et al, 2022). Φαίνεται ότι υπάρχουν προοπτικές για το μέλλον των φλαβονοειδών κατά του SARS-CoV-2.

## 6. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Οι ιογενείς επιδημίες και οι πανδημικές ασθένειες έχουν απειλήσει την ανθρωπότητα ιστορικά και είχαν σημαντικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη κοινωνία. Οι ιοί, ακολουθούμενοι από ορισμένα βακτήρια και πρωτόζωα, έχουν ταξινομηθεί ως τα βασικά παθογόνα που προκαλούν ανθρώπινες ασθένειες από το 1973. Οι ιοί είναι γνωστοί για σοβαρές μολυσματικές ασθένειες που προκαλούν, συμπεριλαμβανομένου του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, της ηπατίτιδας Β και C, των κορονοϊών συμπεριλαμβανομένου του αναπνευστικού συνδρόμου της Μέσης Ανατολής και του ακραίου οξέος αναπνευστικού συνδρόμου, της γρίπης, της ευλογιάς και άλλων. Νέα είδη ανθρώπινου ιού εξακολουθούν να ανιχνεύονται, με ρυθμό τριών ή τεσσάρων ετησίως, και πάνω από τα δύο τρίτα όλων των νέων ανθρώπινων παθογόνων είναι ιοί.

Μια νεοανιχνευθείσα ασθένεια που προκαλείται από τον κορονοϊό κηρύχθηκε πανδημία το 2020 και έχει επηρεάσει σοβαρά τον παγκόσμιο πληθυσμό, με αποτέλεσμα πάνω από 216.074.000 μολυσμένα κρούσματα και 4.496.998 θανάτους έως τις 27 Αυγούστου 2021, με αξιοσημείωτη ανοδική τάση. Οι ιοί, ιδιαίτερα οι ταχέως μεταλασσόμενοι, αποτελούν μεγάλη πανδημική απειλή για την ανθρώπινη υγεία, ιδίως λόγω του περιορισμένου αριθμού εμβολίων και αντιικών φαρμάκων. Ωστόσο, πολλά αντιικά φάρμακα έχουν αναπτυχθεί από τη δεκαετία του 1960 και έχουν βοηθήσει τον κόσμο να συνυπάρξει με διάφορες ιογενείς λοιμώξεις.

Οι αναδυόμενες παραλλαγές όχι μόνο έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένη μεταδοτικότητα, νοσηρότητα και θνησιμότητα, αλλά έχουν επίσης τη δυνατότητα να αποφύγουν την ανίχνευση από υπάρχουσες ή επί του παρόντος διαθέσιμες διαγνωστικές εξετάσεις, οι οποίες ενδέχεται να καθυστερήσουν τη διάγνωση και τη θεραπεία, να εμφανίσουν μειωμένη ευαισθησία στη θεραπεία, συμπεριλαμβανομένων αντιικών, μονοκλωνικών αντισωμάτων και πλάσμα, έχουν την ικανότητα να προκαλούν επαναμόλυνση σε άτομα που έχουν μολυνθεί προηγουμένως και έχουν αναρρώσει, καθώς και πρωτοφανείς περιπτώσεις εμβολίου σε πλήρως εμβολιασμένα άτομα. Ως εκ τούτου, η συνέχιση των προληπτικών μέτρων, η γονιδιωματική επιτήρηση και ο εμβολιασμός διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της εξάπλωσης, στον έγκαιρο εντοπισμό παραλλαγών, στην πρόληψη μεταλλάξεων και στην αντιγραφή του ιού, αντίστοιχα.

Η ανίχνευση του ιού αυτού μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους, τρεις από τους οποίους είναι οι βασικοί: το μοριακό τεστ ανίχνευσης, η μέθοδος ανίχνευσης αντισωμάτων και η μέθοδος ανίχνευσης αντιγόνων, ενώ υπάρχει και η μέθοδος SPR.

Επιπλέον, για την αντιμετώπιση του ιού έχουν προταθεί μία σειρά από λύσεις που χωρίζονται σε προληπτικές μεθόδους (όπως τα εγκεκριμένα εμβόλια) αλλά και σε μία σειρά λύσεων όπως αντιφλεγμονώδη (κολχικίνη και άλλα σκευάσματα) καθώς και αντικά (remdesivir, favipiravir) και άλλα γνωστά σκευάσματα, όπως το arbidol, osteltamivir, IFN, ivermectin).

Τα τελευταία 30 χρόνια, περίπου το 50% των εγκεκριμένων φαρμάκων έχουν παραχθεί από φυσικά προϊόντα, είτε άμεσα είτε έμμεσα. Αυτό πηγάζει από μια μακρά παράδοση θεραπείας διάφορων ασθενειών χρησιμοποιώντας συγκεκριμένους τύπους φυτών ως ιατρικά θεραπευτικά μέσα. Η ανάπτυξη επιτυχημένων αντιικών θεραπειών και εμβολίων παραμένει, ωστόσο, μια τρομακτική πρόκληση. Η ανακάλυψη νέων αντιικών παραγόντων είναι κρίσιμης σημασίας για τη δημόσια υγεία και γίνονται εξαιρετικές προσπάθειες παγκοσμίως για τον εντοπισμό ασφαλών και αποτελεσματικών θεραπειών για διάφορες ιογενείς ασθένειες. Έτσι, γίνεται συνεχώς έρευνα νέων συνθετικών φυσικών μορίων που θα μπορούσαν να αντιμετωπίσουν τον ιό, όπως οι δολαστατίνες και η ελλειπτική.

## Αναφορές

- Abookleesh, F. L., Al-Anzi, B. S., & Ullah, A. (2022). Potential Antiviral Action of Alkaloids. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 3, p. 903). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules27030903>
- Ahn, T. K., Kang, S., Paik, J. H., & Seo, Y. H. (2021). Adverse events and preventive measures related to COVID-19 vaccines. *Clinical and experimental emergency medicine*, 8(3), 153–159. <https://doi.org/10.15441/ceem.21.067>
- Ahn, T. K., Kang, S., Paik, J. H., & Seo, Y. H. (2021). Adverse events and preventive measures related to COVID-19 vaccines. In *Clinical and Experimental Emergency Medicine* (Vol. 8, Issue 3, pp. 153–159). The Korean Society of Emergency Medicine. <https://doi.org/10.15441/ceem.21.067>
- Al-Karmalawy, A. A., Farid, M. M., Mostafa, A., Ragheb, A. Y., H. Mahmoud, S., Shehata, M., Shama, N. M. A., GabAllah, M., Mostafa-Hedeab, G., & Marzouk, M. M. (2021). Naturally Available Flavonoid Aglycones as Potential Antiviral Drug Candidates against SARS-CoV-2. In *Molecules* (Vol. 26, Issue 21, p. 6559). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules26216559>
- Al-Karmalawy, A.A.; Elshal, M.F.(2021) Concanavalin-A shows synergistic cytotoxicity with tamoxifen via inducing apoptosis in estrogen receptor-positive breast cancer: *In vitro* and molecular docking studies. *Pharm. Sci.*
- Arevalo-Rodriguez I, Seron P, Buitrago-García D, (2021). Recommendations for SARS-CoV-2/COVID-19 testing: a scoping review of current guidance. *BMJ Open* 2021;11:e043004. doi:10.1136/bmjopen-2020-043004.
- Aziz, N., Kim, M. Y., and Cho, J. Y. (2018). Anti-inflammatory effects of luteolin: a review of *in vitro*, *in vivo*, and *in silico* studies. *J. Ethnopharmacol.* 225, 342–358. doi: 10.1016/j.jep.2018.05.019
- Batiha, G. E. S., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., and Rashwan, E. K. (2020). *Syzygium aromaticum* L. (*Myrtaceae*): traditional uses, bioactive

chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules* 10:202. doi: 10.3390/biom10020202

Bharti, R., & Shukla, S. K. (2021). Molecules against Covid-19: An in silico approach for drug development. In *Journal of Electronic Science and Technology* (Vol. 19, Issue 1, p. 100095). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.jnlest.2021.100095>

Broughton J.P., Deng X., Yu G., Fasching C.L., Singh J., Streithorst J.A., Granados A., Sotomayor-Gonzalez A., Zorn K., Gopez A., Hsu E., Gu W., Miller S., Pan C., Guevara H., Wadford D.A., Chen J.S., Chiu C.Y., Servellita V., Singh J., Miao X., Streithorst J.A., Granados A., Sotomayor-Gonzalez A., Zorn K., Gopez A., Hsu E., Gu W., Miller S., Pan C., Guevara H., Wadford D.A., Chen J.S., Chiu C.Y. (2020). Rapid Detection of 2019 Novel Coronavirus SARS-CoV-2 using a CRISPR-based DETECTR Lateral Flow Assay. *medRxiv* DOI:3.6.20032334.

Chaimayo, C., Kaewnaphan, B., Tanlieng, N., Athipanyasilp, N., Sirijatuphat, R., Chayakulkeeree, M., Angkasekwina, N., Sutthent, R., Puangpunngam, N., Tharmviboonsri, T., Pongraweevan, O., Chuthapisith, S., Sirivatanauksorn, Y., Kantakamalakul, W., & Horthongkham, N. (2020). Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand. *Virology journal*, 17(1), 177. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01452-5>

Cirillo N. (2021) Reported orofacial adverse effects of COVID-19 vaccines: the knowns and the unknowns. *J Oral Pathol Med*; 50:424-7

Cui J., Li F., Shi Z.-L (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.*;17:181–192. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.]

Diao B., Wen K., Chen Jian, Liu Y., Yuan Z., Han C., Chen Jiahui, Pan Y., Chen L., Dan Y., Wang J., Chen Y., Deng G., Zhou H., Wu Y. (2020). Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein. *medRxiv* DOI:.7.20032524.

Elfiky, A. A. (2020). Anti-HCV, nucleotide inhibitor, repurposed against COVID-19. *Life Sci.* 248:117477. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117477



- Gautret, P., Lagier, J. C., Parola, P., Meddeb, L., Mailhe, M., Doudier, B., et al. (2020). Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int. J. Anti-Micro. Agents* 56:105949. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949
- Hanson KE, Caliendo AM, Arias CA.(2020) Infectious diseases Society of America guidelines on the diagnosis of COVID-19. Arlington, VA: Infectious Diseases Society of America
- Hirotsu Y, Maejima M, Shibusawa M, Nagakubo Y, Hosaka K, Amemiya K, et al. (2020) Comparison of automated SARS-CoV-2 antigen test for COVID19 infection with quantitative RT-PCR using 313 nasopharyngeal swabs, including from seven serially followed patients. *Int J Infect Dis.* 99:397–402.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395, 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
- Jo, S., Kim, S., Shin, D. H., and Kim, M. S. (2020). Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 35, 145–151. doi: 10.1080/14756366.2019.1690480
- Kahn, M., Schuierer, L., Bartenschlager, C. (2021) Performance of antigen testing for diagnosis of COVID-19: a direct comparison of a lateral flow device to nucleic acid amplification based tests. *BMC Infect Dis* 21, 798. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06524-7>
- Kwon KT, Ko JH, Shin H,(2020). Drive-through screening center for COVID-19: a safe and efficient screening system against massive community outbreak. *J Korean Med Sci* 35 (2)
- Lai, C.-C.; Shih, T.-P.; Ko, W.-C.; Tang, H.-J.; Hsueh, P.-R.(2020) Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and corona virus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents* DOI: 55, 105924.

- Liu, X., and Wang, X. J. (2020). Potential inhibitors against 2019-nCoV coronavirus M protease from clinically approved medicines. *J. Genet. Genom.* 47, 119–121. doi: 10.1016/j.jgg.2020.02.001
- Liu, Z., Xiao, X., Wei, X., Li, J., Yang, J., Tan, H., et al. (2020b). Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J. Med. Virol.* 92, 595–601. doi: 10.1002/jmv.25726
- Lv, Y., Ma, Y., Si, Y., Zhu, X., Zhang, L., Feng, H., Tian, D., Liao, Y., Liu, T., Lu, H., & Ling, Y. (2021). Rapid SARS-CoV-2 antigen detection potentiates early diagnosis of COVID-19 disease. *Bioscience trends*, 15(2), 93–99. <https://doi.org/10.5582/bst.2021.01090>
- Mahmoud, D.B (2021) Delineating a potent antiviral activity of *Cuphea ignea* extract loaded nano-formulation against SARS-CoV-2: In silico and *in vitro* studies. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2, 66, 102845.
- Mina MJ, Parker R, Larremore DB (2020) Rethinking Covid-19 test sensitivity—a strategy for containment. *N Engl J Med.* ;383(22):e120
- Muralidharan, N., Sakthivel, R., Velmurugan, D., and Gromiha, M. M. (2020). Computational studies of drug repurposing and synergism of lopinavir, oseltamivir and ritonavir binding with SARS-CoV-2 Protease against COVID-19. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1, 1–7. doi: 10.1080/07391102.2020.1752802
- Okumuş, N., Demirtürk, N., Çetinkaya, R.A. *et al.* Evaluation of the effectiveness and safety of adding ivermectin to treatment in severe COVID-19 patients. *BMC Infect Dis* 21, 411 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06104-9>
- Pang, J., Xu, F., Aondio, G. (2021).. Efficacy and tolerability of bevacizumab in patients with severe Covid-19. *Nat Commun* 12, 814 <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21085-8>
- Paul G, Plecko T, Sethi S, Schilling T, Wienand O, Jürgensen JS, (2020) Klinische Performance eines neuen SARS-CoV-2-Antigen-Tests in der Notaufnahme eines Maximalversorgers; 3:13-8
- Perricone, C., Bartoloni, E., Cafaro, G., Caporali, R., & Gerli, R. (2021). Correspondence on ‘Anti-inflammatory therapy for COVID-19 infection: the case for colchicine.’ In *Annals*

of the Rheumatic Diseases (p. annrheumdis-2021-219872). BMJ.  
<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2021-219872>

Q. Li (2020). Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 382, 1199–1207

Rawat, D., Roy, A., Maitra, S., Gulati, A., Khanna, P., & Baidya, D. K. (2021). Vitamin C and COVID-19 treatment: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes & metabolic syndrome*, 15(6), 102324.  
<https://doi.org/10.1016/j.dsx.2021.102324>

Reyes AZ, Hu KA, Teperman J, (2021) Anti-inflammatory therapy for COVID-19 infection: the case for colchicine *Annals of the Rheumatic Diseases* ;**80**:550-557.

Roviello, V.; Roviello, G.N (2021). Less COVID-19 deaths in southern and insular Italy explained by forest bathing, Mediterranean environment, and antiviral plant volatile organic compounds. *Environ. Chem. Lett.* 1–1

S. Sanche et al. (2020) High contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* 26

Sayed, A. M., Khattab, A. R., AboulMagd, A. M., Hassan, H. M., Rateb, M. E., Zaid, H., & Abdelmohsen, U. R. (2020). Nature as a treasure trove of potential anti-SARS-CoV drug leads: a structural/mechanistic rationale. *RSC advances*, 10(34), 19790-19802.

Shang, J., Wan, Y., Luo, C., Ye, G., Geng, Q., Auerbach, A., & Li, F. (2020). Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. In *Proceedings of the National Academy of Sciences* (Vol. 117, Issue 21, pp. 11727–11734). *Proceedings of the National Academy of Sciences*.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2003138117>

Shimabukuro TT, Cole M, Su JR. (2021) Reports of anaphylaxis after receipt of mRNA COVID-19 vaccines in the US: December 14, 2020-January 18, 2021. *JAMA* 2021;325:1101-2

Vicidomini, C.; Roviello, V.; Roviello, (2021) G.N. In Silico Investigation on the Interaction of Chiral Phytochemicals from *Opuntia ficus-indica* with SARS-CoV-2 *Mpro. Symmetry* **2021**, 13, 1041

Vincent, S., Arokiyaraj, S., Saravanan, M., & Dhanraj, M. (2020). Molecular Docking Studies on the Anti-viral Effects of Compounds From Kabasura Kudineer on SARS-CoV-2

3CLpro. In *Frontiers in Molecular Biosciences* (Vol. 7). Frontiers Media SA.  
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.613401>

Voysey M, Costa Clemens SA, Madhi SA, et al. Single-dose administration and the influence of the timing of the booster dose on immunogenicity and efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine: a pooled analysis of four randomised trials. *Lancet* 2021;397:881-91.

WHO (2022) Covid-19 Weekly Epidemiological Update. *WHO, Edition 75*

Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, (2020) Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465–9. 15.

Xia S, Duan K, Zhang Y (2021) Effect of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 on safety and immunogenicity outcomes: interim analysis of 2 randomized clinical trials. *JAMA* ; 324:951-60

Yüce, M., Filiztekin, E., & Özkaya, K. G. (2021). COVID-19 diagnosis -A review of current methods. *Biosensors & bioelectronics*, 172, 112752.  
[tps://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112752](https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112752)