

# LEKI STOSOWANE W COVID-19: WCZORAJ, DZIŚ, JUTRO

COVID-19 Drugs: past, present, future

Jolanta B. Zawilska, Katarzyna Kuczyńska (Łódź)

## Streszczenie

W grudniu 2019 roku, w chińskim mieście Wuhan, pojawiły się pierwsze doniesienia o przypadkach ciężkiego zapalenia płuc o nieznannej etiologii. Po miesiącu intensywnych badań udało się zidentyfikować czynnik odpowiedzialny za zakażenie. Jest to SARS-CoV-2, nowy przedstawiciel rodziny koronawirusów, a chorobę, którą wywołuje, określono mianem COVID-19. W większości przypadków COVID-19 ma łagodny przebieg, a stadium ciężkie lub krytyczne wymagające hospitalizacji stwierdza się u około 20% pacjentów. W artykule opisano podstawowe leki stosowane w terapii COVID-19, zarówno te, które były wykorzystywane na początku pandemii, ale zostały wycofane z powodu niskiej skuteczności, jak również nową generację związków i przeciwciał monoklonalnych dopuszczonych do leczenia przez odpowiednie agencje (np. FDA, EMA) i rekomendowanych przez WHO. Ponadto podano przykłady związków zarejestrowanych do leczenia innych jednostek chorobowych, które są obecnie badane pod kątem możliwości ich wykorzystania w terapii COVID-19.

## Abstract

The first cases of severe pneumonia caused by an unknown agent emerged in December 2019 in Wuhan city, China. After a month of intensive research, the causing agent was identified as a new coronavirus – SARS-CoV-2 and the disease was named COVID-19. In majority of cases COVID-19 evokes mild symptoms, however, severe or critical condition that requires hospitalization develops approximately in 20% of patients. This review covers common drugs in pharmacotherapy of COVID-19: these used at the beginning of pandemic, however withdrawn due to low efficacy, and the new generation of drugs, including monoclonal antibodies, which are approved by relevant authorities (e.g., FDA, EMA) and recommended by WHO. Moreover, it gives examples of drugs registered in treatment of other diseases that are currently examined to be repurposed for COVID-19 therapy.

## Wstęp

W grudniu 2019 roku, w chińskim mieście Wuhan, pojawiły się pierwsze doniesienia o przypadkach ciężkiego zapalenia płuc o nieznannej etiologii. Po miesiącu intensywnych badań udało się zidentyfikować czynnik odpowiedzialny za zakażenia. Jest to SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), nowy przedstawiciel rodziny koronawirusów, a chorobę, którą wywołuje, określono mianem COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). W Polsce pierwsze potwierdzone zakażenie SARS-CoV-2

zarejestrowano 4 marca 2020 roku w województwie lubuskim. Zaledwie kilka dni później, bo 11 marca 2020 roku, Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w związku z rozpowszechnieniem COVID-19 w 114 państwach ogłosiła stan pandemii. Do dnia 18 lipca 2022 roku na świecie zanotowano łącznie 563,63 mln potwierdzonych przypadków zakażenia SARS-CoV-2, w tym 6,37 mln (1,13%) śmiertelnych. W Polsce liczba zakażeń od początku pandemii wyniosła 6,03 mln, w tym 116,4 tys. (1,93%) zgonów z powodu COVID-19.

## Koronawirusy

Koronawirusy (CoVs) to bardzo zróżnicowana grupa wirusów otoczkowych o budowie kulistej lub owalnej, które na obrazie spod mikroskopu elektronowego przypominają koronę słoneczną. Materiał genetyczny koronawirusów tworzy dodatnio spolaryzowana pojedyncza nić RNA (+ssRNA). Międzynarodowy Komitet ds. Taksonomii Wirusów wyodrębnił cztery główne rodzaje koronawirusów: Alfa (Alpha-CoV), Beta (BetaCoV), Gamma (GammaCoV) i Delta (DeltaCoV). AlphaCoV i BetaCoV zakażają wyłącznie ssaki, natomiast GammaCoV i DeltaCoV są specyficzne dla ptaków, ale sporadycznie mogą także zakażać ssaki. Dotychczas zidentyfikowano siedem ludzkich koronawirusów (HCoV): HCoV-HKU1, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-229E, SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 jest trzecim, po SARS-CoV i MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*), wysoce patogenym wirusem, który stwarza zagrożenie epidemiologiczne. HCoV-229E i HCoV-NL63 należą do rodzaju AlphaCoV, natomiast HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2 do rodzaju BetaCoV. Szeroko rozpowszechnione wirusy HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 i HCoV-HKU odpowiadają za około jedną trzecią sezonowych i zwykle łagodnych infekcji górnych dróg oddechowych, powszechnie określanych mianem przeziębienia. Jednakże u dorosłych i dzieci z obniżoną odpornością mogą spowodować zapalenie oskrzeli i zagrażające życiu zapalenie płuc [11]. Lawinowo rosnąca liczba ofiar SARS-CoV-2 była bezprecedensowym wyzwaniem nie tylko dla systemów ochrony zdrowia, ale także dla naukowców z ośrodków badawczych na świecie. Jak zminimalizować ryzyko zakażenia i objawy COVID-19? Jakie leki okażą się skuteczne w terapii COVID-19? Rozpoczął się swoisty wyścig z czasem. Niewątpliwie krokami milowymi, które stworzyły podstawy profilaktyki i farmakoterapii COVID-19, było poznanie genomu i budowy SARS-CoV-2 oraz cyklu życiowego wirusa [4].

## Budowa i cykl życiowy SARS-CoV-2

Genom SARS-CoV-2 tworzy jednoniciowy RNA, który ze względu na dodatnią polarność jest RNA informacyjnym. Wkrótce po wnikięciu RNA do komórki bezpośrednio z niego zachodzi proces translacji i przy udziale rybosomów gospodarza powstają białka wirionu. W styczniu 2020 roku opublikowano sekwencję genomową SARS-CoV-2 (NCBI Reference Sequence: NC\_045512). Genom RNA SARS-

-CoV-2 składa się z 29 811 nukleotydów, a w jego skład wchodzi 14 ramek odczytu (ang. *open reading frames*; ORFs). Dwie trzecie wirusowego RNA od strony 5' zajmuje gen 1, w którym wyróżniamy ORF1a i ORF1ab. W pierwszym etapie translacji (+)ssRNA dochodzi do syntezy dwóch dużych polipeptydów: pp1a i pp1ab, z których w wyniku autoproteolizy powstaje 16 białek niestrukturalnych (ang. *non-structural proteins*; Nsp1–Nsp16), tworzących kompleks replikacyjno-transkrypcyjny. W skład tego kompleksu wchodzi wiele enzymów, w tym proteaza papaino-podobna (PL2pro; Nsp3), proteaza podobna do chemotrypsyny 3, nazywana także główną proteazą (3CLpro/Mpro; Nsp5), zależna od RNA polimeraza RNA (RdRp; Nsp2), helikaza-trifosfataza (Nsp13), egzorybonukleaza (Nsp14), endonukleaza (Nsp15), N7-metylotransferaza (Nsp10) i 2'O-metylotransferaza (Nsp16). W skład pozostałej części genomu wchodzi (+ss)RNA kodujący 4 białka strukturalne: nukleokapsydu (N), błonowe (M), osłonkowe (E) i kolca (S), a także białka pomocnicze kodowane przez ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9 i ORF10. Białka pomocnicze, dotychczas najslabiej poznana grupa białek SARS-CoV-2, nie są potrzebne wirusowi do namnażania się, natomiast według ostatnich hipotez mogą odgrywać istotną rolę w hamowaniu odpowiedzi wrodzonego układu odpornościowego gospodarza na zakażenie [3, 22].

Białka SARS-CoV-2 są przedmiotem badań, które mają na celu zrozumienie cyklu życiowego wirusa, sposobu w jaki wchodzi on do komórek gospodarza, jak stymuluje układ odpornościowy i w konsekwencji, które z nich mogą być tarczą dla działania nowych leków w terapii COVID-19 lub wykorzystane w technologii produkcji nowych szczepionek.

Translacja RNA kodującego białko N przebiega w cytoplazmie, natomiast dojrzałe formy białek M, E i S powstają w siateczce śródplazmatycznej szorstkiej (ang. *endoplasmic reticulum*; ER). Białko N otacza nowosyntetyzowany (+)ssRNA; powstaje nukleokapsyd wirusa. W kolejnym etapie nukleokapsyd i dojrzałe białka strukturalne M, E i S wirionu są transportowane do dodatkowego kompartmentu – tzw. ERGIC (ang. *endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment*; jest to przedział zlokalizowany pomiędzy siateczką śródplazmatyczną a cysternami *cis* aparatu Golgiego). Po uformowaniu dojrzałe cząstki wirusa są przenoszone w pęcherzykach Golgiego w pobliże błony komórkowej i uwalniane na zewnątrz w procesie egzocytozy; towarzyszy temu rozpad zakażonej komórki [3, 11].

Podobnie jak w przypadku innych wirusów RNA, genom SARS-CoV-2 łatwo ulega przypadkowym

mutacjom, zarówno w obrębie genów kodujących białka strukturalne, jak i tych odpowiedzialnych za powstanie innych białek. W wyniku mutacji prowadzących do różnorodności genetycznej na świecie pojawiły się tzw. niepokojące warianty SARS-CoV-2 (ang. *variants of concern*; VOCs), które stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia publicznego. Od początku pandemii zarejestrowano pięć niepokojących wariantów wirusa, które rozprzestrzeniły się na całym świecie. WHO nazwała kolejne warianty Alfa, Beta, Delta, Gamma i Omikron [24].

W artykule przedstawimy podstawowe leki stosowane w terapii COVID-19, zarówno te, które były wykorzystywane na początku pandemii, ale zostały wycofane z powodu niskiej skuteczności, jak i nową generację związków oraz przeciwciał monoklonalnych, dopuszczonych do leczenia przez odpowiednie agencje (np. FDA, EMA) i rekomendowanych przez WHO. Podamy także kilka przykładów leków zarejestrowanych do leczenia innych jednostek chorobowych, które są obecnie badane pod kątem możliwości ich wykorzystania w terapii COVID-19.

### Historia badań nad lekami o potencjalnym działaniu terapeutycznym w przebiegu COVID-19

W pracach badawczych nad potencjalnymi lekami w terapii COVID-19 wykorzystuje się trzy główne strategie. Pierwsza z nich polega na testowaniu leków przeciwwirusowych, które były wcześniej stosowane lub testowane pod kątem innych infekcji wywołanych przez wirusy RNA, np. SARS-CoV, MERS-CoV, Ebola, HIV, HBV czy grypy. Znajomość właściwości farmakologicznych, parametrów farmakokinetycznych, działań niepożądanych i dawkowania związków znacznie skraca czas badań klinicznych. Druga strategia obejmuje badania przesiewowe *in silico* bibliotek chemicznych zawierających dużą liczbę związków. Należy jednak pamiętać o tym, że wyselekcjonowane związki o wysokiej aktywności przeciwwirusowej często wykazują dużą toksyczność. Trzecie podejście polega na projektowaniu i syntezie *de novo* związków i peptydów przeciwwirusowych w oparciu o znajomość budowy genomu i proteomu SARS-CoV-2 oraz cyklu replikacyjnego wirusa. Zastosowanie tej strategii pozwoliło otrzymać neutralizujące przeciwciała monoklonalne ukierunkowane na podjednostkę białka S odpowiedzialną za przyłączenie się wirusa do zewnątrzkomórkowego fragmentu enzymu konwertującego angiotensynę 2 (ACE2), który pełni rolę receptora dla SARS-CoV-2, a także nowe związki wybiórczo hamujące namnażanie się wirusa (inhibitory polimerazy RdRp, inhibitory

proteazy papaino-podobnej, inhibitory głównej proteazy). W związku z gwałtownie rozprzestrzeniającą się pandemią COVID-19, w odniesieniu do większości z tych leków zastosowano procedury przyspieszonego wejścia w III fazę badań klinicznych [6, 24]

W zaawansowanym stadium COVID-19, gdy spada miano wirusa, dochodzi do patologicznej nadreaktywności układu immunologicznego z maszyną produkcją cytokin prozapalnych. Uważa się, że stan ten (określany mianem burzy cytokinowej) w znacznym stopniu odpowiada za uszkodzenia wielonarządowe wywołane przez chorobę. Aby wyciszyć burzę cytokinową stosuje się leki immunomodulujące [17], które omówimy w dalszej części artykułu.

### Osocze ozdowieńców

Osocze ozdowieńców jest wykorzystywane w profilaktyce i leczeniu wielu chorób zakaźnych od początku XX wieku. Osocze uzyskuje się za pomocą aferezy, zabiegu polegającego na oddzieleniu od reszty krwi osocza pozyskanego od osób po ustąpieniu COVID-19, u których rozwinęły się neutralizujące przeciwciała (NAb) klasy IgG przeciwko SARS-CoV-2. Wykazano, że skuteczność tej terapii jest związana ze stężeniem NAb skierowanych na domenę, która wiąże się z ACE2 oraz na domeny N-końcowe podjednostki S1 białka kolca. NAb hamują wnikanie SARS-CoV-2 do komórki gospodarza i ograniczają jego namnażanie. Wyniki dotychczasowych badań klinicznych wskazują na to, że osocze ozdowieńców o wysokim mianie przeciwciał neutralizujących podane w ciągu 72 godzin od wystąpienia objawów dorosłym pacjentom z grup wysokiego ryzyka (wiek  $\geq 65$  lat, otyłość, współistniejące choroby takie jak cukrzyca, nadciśnienie, przewlekła obturacyjna choroba płuc, choroba sercowo-naczyniowa, przewlekła niewydolność nerek), u których występowała łagodna postać COVID-19, może zmniejszać ryzyko progresji choroby [6, 16]. Z kolei u pacjentów w ciężkim/krytycznym stadium COVID-19 osocze ozdowieńców nie poprawiało stanu klinicznego oraz nie zmniejszało ryzyka zgonu [23].

### Przegranicy gracze

Na początku pandemii, głównie w oparciu o wyniki badań *in vitro*, sądzono, że szereg leków przeciwwirusowych, niektóre antybiotyki i leki przeciwalaryczne będą skutecznie zwalczać zakażenie SARS-CoV-2 i znosić objawy COVID-19. Jednakże dalsze wielośrodkowe badania kliniczne wykazały ograniczoną przydatność terapeutyczną lub jej brak

dla większości pierwotnie zaproponowanych leków. W pracy przedstawimy leki, które wzbudziły największe zainteresowanie i nadzieję lekarzy, osób z grup podwyższonego ryzyka oraz pacjentów.

### Chlorochina i hydroksychlorochina

Od ponad 70 lat chlorochinę stosuje się w leczeniu malarii wywołanej przez zarodźca ruchliwego (*Plasmodium vivax*). Ponadto lek ten wykazuje działania przeciwwirusowe i immunomodulujące. U podłoża przeciwwirusowego działania chlorochiny leżą dwa mechanizmy. Wnikanie i uwalnianie z endosomów wirusowego RNA wymaga kwaśnego środowiska. Chlorochina w stanie nieprotonowanym jest transportowana do lizosomów, endosomów i aparatu Golgiego, gdzie ulega jonizacji i podnosi pH; może zatem skutecznie hamować proces wnikania i replikacji wirusa. Chlorochina pośrednio ingeruje w interakcję pomiędzy białkiem kolców wirusa SARS-CoV-2 a ACE2, zmniejszając wnikanie wirusa do komórki. Lek ten zakłóca również proteolityczną obróbkę błonowego białka M oraz modyfikuje tworzenie i pączkowanie wirionów. Chlorochina dzięki swoim właściwościom immunomodulacyjnym jest także wykorzystywana w leczeniu chorób autoimmunologicznych, takich jak toczeń rumieniowaty i reumatoidalne zapalenie stawów. Pojawienie się szczepów *Plasmodium* odpornych na chlorochinę przyczyniło się do syntezy analogów tego związku, w tym hydroksychlorochiny. Na początku pandemii chlorochina i hydroksychlorochina były stosowane w celu zapobiegania zakażeniom SARS-CoV-2. Początkowy entuzjazm dotyczący wykorzystania tych leków w terapii COVID-19 ostudziły wyniki badań klinicznych, w których wykazano, że nie zmniejszały one wskaźnika potwierdzonych infekcji po ekspozycji na SARS-CoV-2. Badano również skuteczność działania hydroksychlorochiny z azytromycyną, antybiotykiem o działaniu immunomodulującym i przeciwzapalnym. Uzyskane wyniki wykazały, że żaden z badanych schematów leczenia nie zapobiegł zgonom ani nie uchronił pacjentów przed koniecznością wentylacji mechanicznej. Zastosowanie hydroksychlorochiny wiązało się natomiast z trzykrotnie większym ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych w porównaniu do placebo, a podanie hydroksychlorochiny z azytromycyną prowadziło do wydłużenia odcinka QT w zapisie EKG. Należy podkreślić, że obydwa leki wywołują również inne poważne działania uboczne: zaburzenia rytmu serca, hipoglikemię, szybko postępującą niewydolność wątroby, nekrolizę naskórka, ostre zapalenie trzustki, uszkodzenie siat-

kówki, zespół Stevensa-Johnsona, neutropenię, anafilaksję i powikłania neurologiczne [9]. W oparciu o wyniki badań klinicznych WHO jest przeciwna stosowaniu chlorochiny i hydroksychlorochiny w profilaktyce poekspozycyjnej i w leczeniu COVID-19 [21].

### Leki stosowane w zakażeniach wirusami RNA

Wczesne wysiłki mające na celu znalezienie skutecznego leku przeciwwirusowego na COVID-19 koncentrowały się głównie na badaniach przesiewowych leków stosowanych w zakażeniach wirusami RNA, w tym fawipirawiru, lopinawiru, rytonawiru i rybawiryny. Początkowo były to badania *in vitro* na hodowlach komórkowych zakażanych SARS-CoV-2, a następnie badania kliniczne.

#### *Inhibitory zależnej od RNA polimerazy RNA (RdRp): fawipirawir, rybawiryna*

Fawipirawir hamuje replikację wielu wirusów RNA, w tym alfawirusów, które wywołują zapalenie mózgu, norowirusów będących bardzo częstą przyczyną zakażeń pokarmowych objawiających się m.in. wymiotami i biegunką, wirusa grypy A, żółtej febry, Ebola, Marburg i Lassa. Lek ten działa jako fałszywy substrat RdRp; konkurując z naturalnie występującym nukleotydem zakłóca proces replikacji wirusa. Wyniki badań klinicznych nie dały jednakże jednoznacznej odpowiedzi odnośnie skuteczności fawipirawiru w terapii COVID-19. Stosowany w monoterapii nie wpływał znacząco na czas pobytu w szpitalu, poprawę stanu klinicznego pacjenta i śmiertelność [19]. Do działań niepożądanych leku należą nudności, wymioty, biegunka, podwyższone stężenie kwasu moczowego we krwi (hiperurykemia), zwiększona aktywność aminotransferaz i zmniejszona liczba granulocytów obojętnochłonnych (neutropenia).

Rybawiryna jest stosowana w zakażeniach wywołanych przez wirusy RNA, m.in. pokswirusy (w przeszłości najpoważniejszą infekcją wirusową u ludzi była ospa prawdziwa; obecnie rzadko występujące zakażenia wywołane przez pokswirusy to: krowianka, małpia ospa i mięczak zakaźny), buniawirusy, wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV), a także syncytialnego wirusa oddechowego (RSV). Mechanizm przeciwwirusowego działania rybawiryny polega na zahamowaniu replikacji RNA wirusa poprzez inhibicję dehydrogenazy monofosforanu inozyny. Ponadto lek ten hamuje polimerazę RdRp. Rybawiryna stosowana w terapii skojarzonej z innymi lekami przeciwwirusowymi hamuje replikację wirusa MERS-CoV. Jednak mimo posiadanych właściwości przeciwwirusowych brak jest dowodów na skuteczność tego leku w zakażeniach SARS-CoV-2 [9, 19].

### ***Inhibitory głównej proteazy SARS-CoV-2 (Mpro): lopinawir/rytonawir***

Lopinawir i rytonawir były pierwszymi lekami przeciwwirusowymi stosowanymi w badaniach klinicznych w leczeniu COVID-19. Choć lopinawir/rytonawir wykazywały działanie hamujące wobec SARS-CoV-2 w komórkach Vero E6, w randomizowanych badaniach z grupą kontrolną leczenie lopinawirem/rytonawirem hospitalizowanych pacjentów z COVID-19 nie przyniosło żadnych korzyści w odniesieniu do śmiertelności, konieczności zastosowania inwazyjnej wentylacji mechanicznej lub odsetka wypisów ze szpitala w ciągu 28 dni. Aktualne wytyczne są przeciwnie stosowaniu połączenia lopinawiru z rytonawirem u hospitalizowanych pacjentów z COVID-19 [9, 21].

### ***Amantadyna***

Amantadynę pierwotnie stosowano w leczeniu grypy. Początkowo była ona skuteczna w łagodzeniu objawów choroby wywołanej przez wirusa grypy typu A. W związku z narastającą opornością szczepów wirusa AH3N2 i AH1N1 przeciwgrypowy potencjał terapeutyczny amantadyny jest obecnie marginalny. Ponieważ amantadyna nasila transmisję dopaminergiczną w układzie istota czarna-prążkowie, jest stosowana w łagodzeniu objawów choroby Parkinsona.

W badaniach *in vitro* wykazano, że lek ten hamował replikację SARS-CoV-2 w hodowli komórek Vero E6. W oparciu o wyniki molekularnego dokowania przypuszcza się, że amantadyna może blokować dwa z czterech kanałów kationowych wirusa: białko E i ORF10. W dobie pandemii pojedyncze doniesienia kliniczne sugerowały skuteczność amantadyny w terapii COVID-19, w tym u pacjentów z chorobą Parkinsona [1, 20]. Jednakże wyniki dotychczasowych badań oceniających skuteczność amantadyny są niejednoznaczne. Należy także podkreślić, że amantadyna wywiera szereg istotnych działań niepożądanych, w tym zaburzenia snu, zawroty głowy, zaburzenia pracy nerek, suchość w jamie ustnej, nadmierną potliwość, zaburzenia widzenia i kołatanie serca. Rzadziej pojawiają się napady padaczkowe i migotanie komór, które najczęściej są wynikiem stosowania zbyt wysokich dawek leku. Obecnie stosowanie amantadyny u pacjentów z COVID-19 ogranicza się do badań klinicznych [6].

### **Leki obecnie zalecane w terapii COVID-19**

Obecnie w leczeniu COVID-19 stosuje się następujące grupy leków [21]:

1. Neutralizujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białku S wirusa.
2. Leki hamujące namnażanie wirusa – leki przeciwwirusowe.
3. Leki immunomodulujące.

W przebiegu COVID-19 często dochodzi do nadmiernego krzepnięcia krwi; obserwowano wzrost przypadków żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, w tym zakrzepicy żył głębokich i zatorowości płucnej. Szacuje się, że żylna choroba zakrzepowo-zatorowa występuje u 8–54% pacjentów. Opisywano także przypadki rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, w tym płucnego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego czy mikroangiopatii zakrzepowych. Zakrzepica tętnicza może doprowadzić do niedokrwienia dystalnych części ciała, udaru niedokrwienego mózgu i zawału serca. W celu zapobieżenia wystąpieniu koagulopatiom zaleca się profilaktyczne stosowanie preparatów heparyny drobnocząsteczkowej, w szczególności u pacjentów hospitalizowanych [18].

Rycina 1 przedstawia punkty uchwytu (tarcze molekularne) dla leków wykorzystywanych w terapii COVID-19, natomiast Rycina 2 ich zastosowanie w zależności od stopnia ciężkości choroby.

### **Neutralizujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białku S wirusa**

W złożonym procesie wnikania wirionu SARS-CoV-2 do komórki gospodarza uczestniczy białko kolca (S) wirusa. Jest ono zbudowane z dwóch podjednostek: S1 i S2. Podjednostka S1 odpowiada za połączenie się z receptorem na powierzchni komórki gospodarza – ACE2, natomiast zadaniem S2 jest fuzja osłonki wirusa z błoną komórkową. W podjednostce S1 występuje domena, która wiąże się z ACE2 (ang. *receptor binding domain*; RBD). Neutralizujące przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko białku S wirusa przyłączając się do RBD, uniemożliwiają jej połączenie z ACE2. Są wskazane do leczenia chorych powyżej 12 roku życia z łagodną lub umiarkowaną postacią COVID-19, którzy nie wymagają wspomagającej tlenoterapii oraz u których istnieje ryzyko progresji choroby. Powinny być zastosowane możliwie jak najszybciej po potwierdzeniu zakażenia SARS-CoV-2, maksymalnie w ciągu 7 dni od wystąpienia objawów choroby. Należy podkreślić, że neutralizujących przeciwciał monoklonalnych nie można stosować jako substytutu szczepienia przeciwko COVID-19.

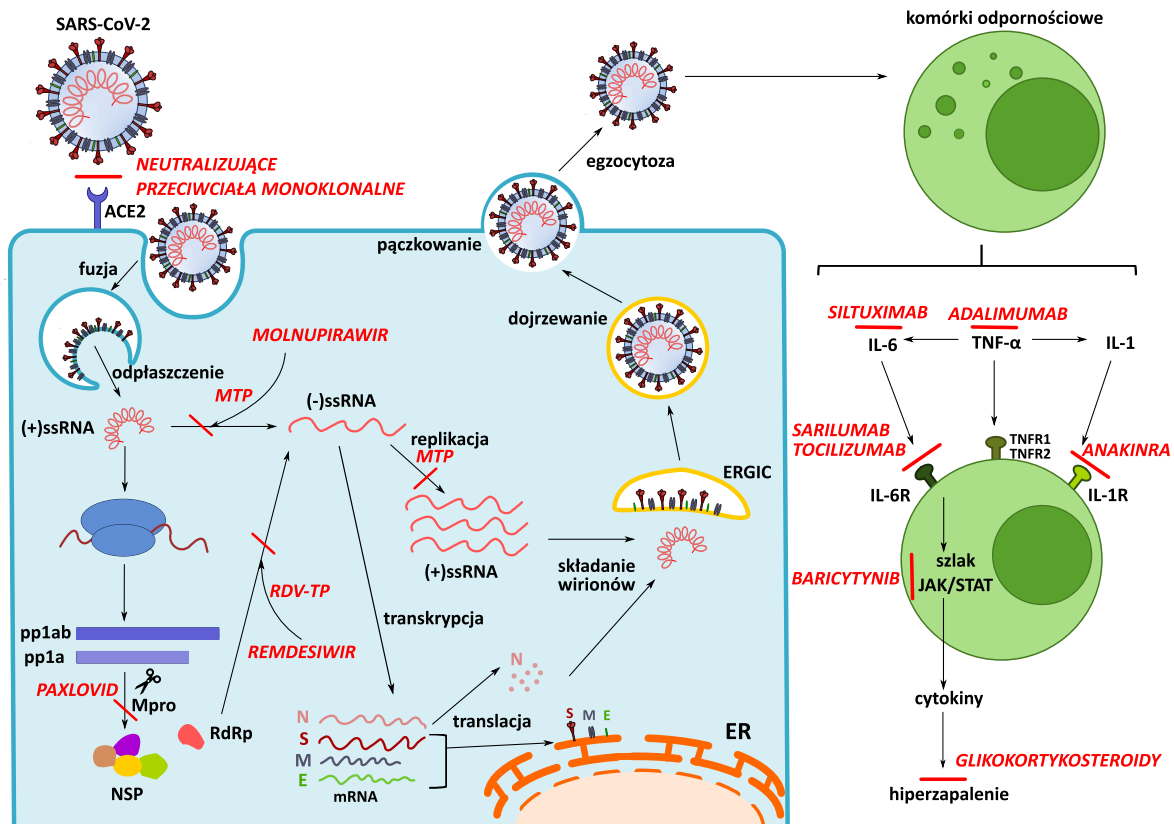
Do grupy neutralizujących przeciwciał monoklonalnych zatwierdzonych w terapii COVID-19 należą [15, 21]:

1. Ronapreve (REGN-COV2, Regeneron Ireland DAC) – połączenie dwóch przeciwciał monoklonalnych kasiriwimabu i imdewimabu;
2. Bamlanivimab i etesevimab (Eli Lilly and Company), stosowane w mono- i politerapii (bamlanivimab 700 mg + etesevimab 1400 mg);
3. Sotrowimab (Xevudy, Vir Biotechnology/Glaxo-SmithKline);
4. Regdanwimab (REGKIRONA, Celltrion Healthcare);
5. Evusheld (AstraZeneca) – połączenie dwóch przeciwciał monoklonalnych tiksagewimabu

### Leki hamujące namnażanie wirusa

Wszystkie leki tej grupy należy stosować jak najszybciej po zakażeniu, maksymalnie do 5–7 dni od wystąpienia objawów COVID-19.

**Remdesiwir (Veklury)**, nazywany potocznie „terminatorem łańcucha RNA”, został opracowany w 2014 roku przez firmę Gilead Sciences. Hamuje replikację wielu wirusów, m.in. Ebola, HIV, Marburg, SARS, MERS, SARS-CoV-2, HCV i RSV. Remdesiwir jest prolekiem, który w komórkach gospodarza ulega prze-



**Ryc. 1.** Cykl replikacyjny wirusa SARS-CoV-2 i punkty uchwytu leków stosowanych w leczeniu COVID-19. ACE2 – konwertaza angiotensyny typu 2; ER – siateczka śródplazmatyczna; E – białko osłonki; ERGIC – kompartment pośredni pomiędzy siateczką śródplazmatyczną a aparatem Golgiego; IL – interleukina; IL-R – receptor dla interleukiny; M – białko membranowe; Mpro – proteaza podobna do chemotrypsyny 3; MTP – trifosforan molnupirawiru; N – białko nukleokapsydu; NSP – białka niestrukturalne; pp1a – polipeptyd 1a, pp1ab – polipeptyd 1ab; RdRp – polimeraza RNA zależna od RNA; RDV-TP – trifosforan remdesiwiru; S – białko kolca; ssRNA – pojedyncza nici kwasu rybonukleinowego; TNF-α – czynnik martwicy nowotworów α; TNF-R – receptor dla czynnika martwicy nowotworów α.

i ciltgawimabu; WHO zaleca stosowanie tego leku w profilaktyce przedekspozycyjnej zakażenia SARS-CoV-2;

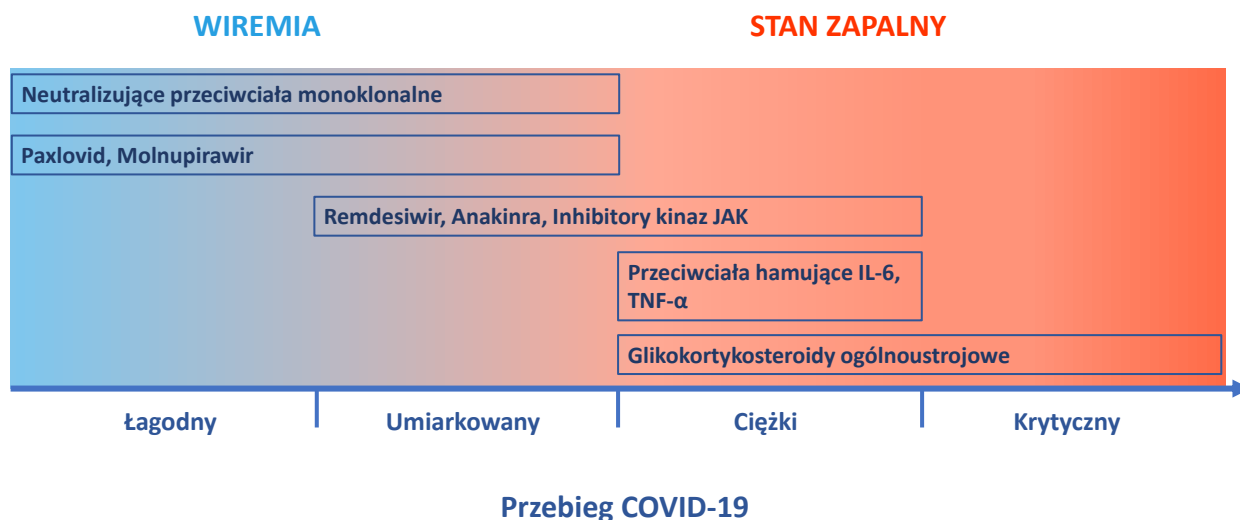
6. Bebtelowimab (Eli Lilly).

W stosunku do wariantu Omikron (B.1.1.529/BA.1 i B.1.1.529/BA.2) skuteczność kliniczną potwierdzono tylko dla sotrowimabu i połączenia tiksagewimabu z ciltgawimabem. WHO zaleca stosowanie bebtelowimabu w przypadku braku dostępności Paxlowidu i remdesiwiru lub przeciwskażeń do terapii tymi lekami przeciwwirusowymi [21].

kształceniu do aktywnej postaci - trifosforanu remdesiwiru (RDV-TP), strukturalnego analogu trifosforanu adenozy (ATP). Trifosforan remdesiwiru włącza się do nici RNA, uniemożliwiając przyłączenie naturalnego substratu – ATP. Działając jako fałszywy substrat RdRp, hamuje aktywność enzymu i blokuje dodawanie kolejnych ogniw do łańcucha RNA, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania replikacji wirusa. W październiku 2020 roku remdesiwir został zatwierdzony przez FDA do leczenia COVID-19 u dorosłych i dzieci powyżej 12 roku życia i wadze powyżej 40 kg. Lek jest podawany dożylnie [2, 5].

**Molnupirawir (Lagevrio)**, opracowany przez firmy Merck i Ridgeback Biotherapeutics ester izopropylowy  $\beta$ -D-N<sup>4</sup>-hydroksycytydyny (NHC). Molnupirawir to nowy lek o szerokim spektrum działania przeciwwirusowego (m.in. SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV, wirus grypy, RSV, HCV i Ebola). Jest to **pierwszy doustny lek** przeciw wirusowi SARS-CoV-2. Molnupirawir, podobnie jak remdesi-

**Paxlovid**, opracowany przez firmę Pfizer, to połączenie nirmatrelwiru z rytonawirem. Nirmatrelwir hamuje aktywność głównej proteazy (Mpro) i w ten sposób uniemożliwia cięcie polipeptydów wirusa na krótsze fragmenty niezbędne do powstania nowych cząstek wirusa. Niskie dawki rytonawiru, silnego inhibitora CYP3A4 i glikoproteiny P, hamując metabolizm nirmatrelwiru zwiększają jego stężenie we



Ryc. 2. Leki stosowane w terapii COVID-19 w zależności od ciężkości objawów.

wir, jest analogiem nukleozydowym. W organizmie NHC ulega przekształceniu do trifosforanu - MTP. MTP może być wykorzystywany przez RdRp jako substrat zamiast trifosforanu cytydyny lub trifosforanu urydyny. MTP zostaje włączony do rozrastających się nici RNA, gdzie sieje spustoszenie. Związek może zmieniać swoją konfigurację, czasami naśladując cytozynę, a czasami uracyl. Nici RNA z wbudowanym MTP stają się błędnymi kodami w następnej rundzie genomów wirusowych. Wszędzie tam, gdzie związek zostanie wstawiony do łańcucha RNA i nastąpi zmiana konformacyjna, pojawia się mutacja punktowa. Gdy nagromadzi się wystarczająca liczba mutacji, populacja wirusa załamuje się. To właśnie nazywamy śmiertelną mutagenezą; wirus zasadniczo mutuje się na śmierć [10, 14]. Ponieważ mutacje gromadzą się losowo, wirusom trudno jest wykształcić oporność na molnupirawir. W listopadzie 2021 roku Lagevrio został zarejestrowany w Wielkiej Brytanii do leczenia łagodnych postaci COVID-19 u osób dorosłych. W Polsce lek jest dopuszczony do leczenia pacjentów z grupy **osób najwyższego ryzyka rozwinienia ciężkiej postaci COVID-19**. Lek należy przyjmować przez pięć dni, dwa razy dziennie po cztery kapsułki (po 200 mg molnupirawiru). Szacowany koszt terapii dla jednego pacjenta wynosi ok. 700\$.

krwi i wydłużają czas jego działania. **Paxlovid jest pierwszym doustnym lekiem zarejestrowanym w leczeniu ambulatoryjnym dorosłych pacjentów z COVID-19 o łagodnym lub umiarkowanym przebiegu choroby** [12]. 22 kwietnia 2022 r. WHO wydała oświadczenie, w którym zaleca stosowanie Paxlovidu u pacjentów z łagodnym/umiarkowanym przebiegiem COVID-19, którzy są zaliczani do grup wysokiego ryzyka rozwoju ciężkiej postaci choroby i wymagają leczenia szpitalnego: osoby niezaszczone przeciwko SARS-CoV-2, w podeszłym wieku i z obniżoną sprawnością układu immunologicznego. Randomizowane badania kliniczne wykazały, że zastosowanie Paxlovidu zmniejszyło ryzyko hospitalizacji o 85%. Leczenie powinno trwać 5 dni.

### Leki immunomodulujące

U większości pacjentów przebieg COVID-19 ma charakter łagodny lub umiarkowany, u około 15% ciężki, ze śródmiąższowym zapaleniem płuc i z zespołem ostrej niewydolności oddechowej (ARDS), wymagającym nieinwazyjnej tlenoterapii, natomiast u 5% dochodzi do rozwoju stanu krytycznego, z wysokim ryzykiem zgonu. Pacjenci w stanie krytycznym wymagają podłączenia do respiratora, a w obrazie

klinicznym dominują ciężkie powikłania, takie jak niewydolność oddechowa, posocznica i wstrząs septyczny, choroba zakrzepowo-zatorowa i/lub niewydolność wielonarządowa, w tym ostre uszkodzenie nerek i serca [24]. Ciężki i krytyczny przebieg zakażenia SARS-CoV-2 manifestuje się gwałtowną i niekontrolowaną reakcją układu immunologicznego, z intensywną produkcją cytokin prozapalnych i wzrostem ich stężenia we krwi, czyli tzw. „burzą cytokinową”. W celu wyhamowania „burzy cytokinowej” i ograniczenia jej skutków stosuje się leki immunomodulujące.

### Glikokortykosteroidy

Namnażanie SARS-CoV-2 jest najbardziej intensywne we wczesnej fazie infekcji, a następnie ulega zmniejszeniu. Glikokortykosteroidy stosowane w okresie intensywnej replikacji wirusa, działając przeciwwzapalnie i immunosupresyjnie, mogą być szkodliwe, natomiast podawane w stanie ciężkim, w czasie agresywnej i patologicznej nadreaktywności układu immunologicznego, wywierają korzystny efekt terapeutyczny. Glikokortykosteroidy obniżają poziom chemokin i prozapalnych cytokin w osoczu i popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych, zmniejszają śmiertelność, skracają czas mechanicznej wentylacji i poprawiają saturację tlenem krwi u pacjentów z ARDS. Leki te są stosowane przez 5 do 14 dni, najczęściej nie dłużej niż przez 10 dni [24].

**Deksametazon** jest najczęściej stosowanym glikokortykosteroidem u pacjentów w ciężkim stadium COVID-19; zmniejsza czas pobytu na oddziale intensywnej terapii oraz śmiertelność. Aktywność i działanie immunosupresyjne deksametazonu jest około 30-krotnie wyższe niż endogennego hormonu – kortyzolu. Z drugiej strony deksametazon może zwiększać ryzyko wtórnej infekcji poprzez hamowanie dojrzałych komórek T i B, które są niezbędne do zwalczania patogenów. Zaburza również funkcje komórek NK (ang. *natural killers*) i makrofagów, które są odpowiedzialne za usuwanie patogenów z organizmu. Zamiast deksametazonu można stosować dożylnie **hydrokortyzon** (50 mg co 8 godzin) lub **metryloprednizolon** (10 mg co 6 godzin) albo doustnie **prednizon** (40 mg na dobę) [24].

### Leki przeciwcytokinowe

Cytokiny odgrywają kluczową rolę w patogenezie COVID-19, będąc zarówno biomarkerami pozwalającymi na ocenę progresji choroby, jak i strategicznymi celami terapii. U pacjentów z zapaleniem płuc

wywołanym przez SARS-CoV-2, u których dochodzi do „burzy cytokinowej”, obserwowano nadprodukcję cytokin prozapalnych przez monocyty oraz zmniejszenie liczby limfocytów T CD4+ i limfocytów B. „Burza cytokinowa” charakteryzuje się podwyższonym poziomem wielu cytokin, m.in. czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukiny 1 (IL-1) i interleukiny 6 (IL-6). W świetle powyższych danych uznano, że w leczeniu ciężkich stanów COVID-19 należy ograniczyć działanie tych cytokin prozapalnych [24]. W tym celu stosuje się trzy grupy leków:

- przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko wybranym cytokinom;
- przeciwciała monoklonalne blokujące receptory dla cytokin;
- inhibitory kinaz JAK.

### Przeciwciała monoklonalne, które hamują działania IL-6

Spośród leków antycytokinowych od początku pandemii najczęściej badano i stosowano inhibitory IL-6. Poziomy IL-6 we krwi i popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych pacjentów z COVID-19 progresywnie wzrastają wraz z nasileniem objawów choroby, osiągając najwyższe wartości u pacjentów w stanie krytycznym. Poziomy IL-6 koreluje z pogarszającą się wymianą tlenu w płucach pacjentów; są głównymi wskaźnikami progresji choroby i śmiertelności. U pacjentów z grupy niskiego ryzyka (tj. łagodna lub umiarkowana postać choroby) wynoszą poniżej  $< 20$  pg/ml, u pacjentów z grupy ryzyka progresji choroby (tj. postać umiarkowana do ciężkiej)  $> 35$  pg/ml, u pacjentów ze skomplikowanym przebiegiem COVID-19  $> 55$  pg/ml, natomiast u pacjentów z ciężką niewydolnością oddechową wymagających wentylacji mechanicznej i z wysokim ryzykiem zgonu wewnątrzszpitalnego (tj. choroba od ciężkiej do krytycznej)  $> 80$  pg/ml. W przypadku ciężkiej fazy COVID-19 stwierdzono, że podwyższone poziomy IL-6 są związane z wyższym mianem wirusa, limfopenią i neutrofilią, ogólnoustrojowym zapaleniem, hipoksemią, a także złym rokowaniem [26]. Terapeutyczna blokada IL-6 może zatem stanowić skuteczną strategię zapobiegania pogorszeniu niewydolności oddechowej i zmniejszenia ogólnej śmiertelności.

W płucach pacjentów z COVID-19 IL-6 może być uwalniana przez komórki nabłonka oddechowego zakażone SARS-CoV-2, a także w wyniku infiltracji monocytów, makrofagów i limfocytów T CD4+. IL-6 w znacznym stopniu przyczynia się do rozregulowania odpowiedzi immunologicznej w COVID-19



poprzez działanie dwukierunkowe: z jednej strony powoduje dysfunkcję cytotoksycznych limfocytów T CD8+ (tłumiąc w ten sposób obronę przeciwwirusową pacjenta), a z drugiej hamuje różnicowanie limfocytów T regulatorowych, prowadząc w ten sposób do niekontrolowanego hiperzapalenia [26].

Działania biologiczne IL-6 wynikają z pobudzenia specyficznych receptorów IL-6R: związanego z błoną komórkową (mIL-6R) i tzw. rozpuszczalnego (sIL-6R). Dotychczas zidentyfikowano trzy rodzaje receptorowego działania IL-6: (1) sygnalizację *cis* (klasyczną), w której IL-6 wiąże się z mIL-6R występującym m.in. na makrofagach, hepatocytach, megakariocytach, komórkach nabłonka jelit; (2) sygnalizację *trans*, w której kompleks utworzony przez IL-6 i sIL-6R wiąże się z glikoproteiną 130 (gp130), obecną np. w komórkach śródbłonka, limfocytach T CD4+, neutrofilach, monocytach, pneumocytach; (3) sygnalizację złożoną/kaskadową, w której IL-6 najpierw wiąże się z IL-6R jednej komórki (np. komórki dendrytycznej), a następnie powstały kompleks przyłącza się do gp130 innej komórki (np. limfocytu T CD4+). Różne rodzaje sygnalizacji odpowiadają za różne efekty działania IL-6. Sygnalizacja *cis* uczestniczy w ochronie gospodarza przed patogenami. Sygnalizacja *trans* bierze udział m.in. w prozapalnej aktywacji pneumocytów, neutrofilów i komórek śródbłonka naczyniowego. Z kolei sygnalizacja złożona promuje różnicowanie limfocytów T do patogennych komórek TH17. Sądzi się, że sygnalizacja *trans* i sygnalizacja złożona odpowiadają za patogenne działanie IL-6 w ciężkim postępującym COVID-19 [26].

Stężenie IL-6 we krwi pacjentów z COVID-19 jest najwyższe w zaawansowanych stadiach, średnio po drugim tygodniu choroby, a wzrostowi temu towarzyszą maksymalne stężenia IL-10 i białka C-reaktywnego (CRP). Sugeruje to, że w krytycznym stadium COVID-19 wysokie poziomy IL-6 (np. > 100–120 pg/ml) i CRP (np. > 160–200 mg/l) mogą odzwierciedlać wzmocnioną sygnalizację *cis*, która prowadzi do nasilenia immunosupresyjnego działania makrofagów M2. A zatem na tym etapie blokowanie błonowego receptora IL-6R jest niekorzystne. Ponadto, ponieważ sygnalizacja *cis* uczestniczy w obronie gospodarza przed patogenami oraz sprzyja wzrostowi i przeżyciu hepatocytów, megakariocytów i komórek nabłonka jelitowego, blokada błonowego receptora IL-6R może sprzyjać działaniom niepożądanym i powikłaniom, w tym poważnym infekcjom (np. ciężkiemu zapaleniu płuc), zwiększonej aktywności aminotransferaz, trombocytopenii i perforacji jelit. Leków blokujących działanie IL-6 nie stosuje się więc na wczesnych etapach COVID-19 (bezobja-

wowy, łagodny, umiarkowany), czyli wówczas, gdy wywiera ona efekt ochronny [26].

Podsumowując, w przypadku COVID-19 korzyści z terapeutycznej blokady IL-6 można uzyskać poprzez zakłócenie prozapalnej sygnalizacji *trans* i sygnalizacji złożonej, które dominują w ciężkim stadium choroby. Leczenie anty-IL-6 należy zatem stosować u pacjentów z ciężkim i szybko postępującym COVID-19 w ciągu drugiego tygodnia od wystąpienia objawów lub w ciągu pierwszego tygodnia hospitalizacji, czyli przed dalszym wzrostem poziomu IL-6 i CRP. Stosowanie leków, które hamują działanie IL-6 w ciągu 6 dni od rozpoczęcia hospitalizacji u pacjentów z ciężką postacią choroby może zatem stanowić właściwy moment do przzerwania kaskady procesów zapalnych i zapobieżenia wystąpienia śmiertelnie groźnej „burzy cytokinowej”. W przeciwieństwie do tego, hamowanie działania IL-6 jest nieskuteczne u pacjentów w stanie krytycznym, u których dominuje sygnalizacja *cis* IL-6, uczestnicząca w procesach immunosupresyjnych [26].

Do przeciwciał monoklonalnych, które hamują działania IL-6, należą leki z dwóch grup o różnym punkcie uchwytu:

- przeciwciała skierowane przeciwko IL-6 – siltuximab (Sylvant, EUSA Pharma);
- przeciwciała skierowane przeciwko receptorom dla IL-6 – tocilizumab (Actemra, Roche Pharma AG) i sarilumab (Kevzara, Regeneron Pharmaceuticals/Sanofi).

**Tocilizumab i sarilumab** są obecnie stosowane u hospitalizowanych pacjentów z COVID-19, którzy wymagają dodatkowego natlenowania, tlenu o wysokim przepływie, wentylacji nieinwazyjnej. W sytuacji, gdy pacjent wymaga inwazyjnej wentylacji mechanicznej, leki te są stosowane w połączeniu z deksametazonem [26].

### Przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko IL-1

**Anakinra** (Kineret, Orphan Biovitrum) to rekombinowane humanizowane przeciwciało monoklonalne, które wiąże się z receptorem dla IL-1 (IL-1R). Anakinra blokuje wiązanie IL-1 $\alpha$  i IL-1 $\beta$  z IL-1R, tym samym hamując prozapalne działanie tych cytokin. Lek jest wykorzystywany w terapii chorób autoimmunologicznych, np. choroby Still'a u dorosłych, ogólnoustrojowego młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów czy rodzinnej gorączki śródziemnomorskiej. Anakinra zmniejszała konieczność zastosowania wentylacji mechanicznej u pacjentów

przyjmowanych na oddziały intensywnej terapii z powodu ciężkiego przebiegu COVID-19, skracała czas pobytu w szpitalu oraz zmniejszała śmiertelność pacjentów zarówno w przypadku ciężkiej, jak i krytycznej postaci choroby. Podczas gdy zarówno inhibitory IL-6 i IL-1 istotnie wpływają na śmiertelność u pacjentów ze wskaźnikiem oksigenacji  $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2$  (ciśnienie parcjalne tlenu we krwi tętniczej w mmHg/% zawartość tlenu w mieszaninie oddechowej)  $\geq 100$  mmHg, tylko anakinra jest skuteczna u pacjentów ze stosunkiem  $\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 < 100$ . Obecnie prowadzone są badania kliniczne nad skutecznością anakinry w ograniczaniu skutków burzy cytokinowej, a w szczególności ostrej niewydolności oddechowej i uszkodzeń wielonarządowych w przebiegu COVID-19 [24].

### Przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko TNF- $\alpha$

Czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) produkują pobudzone monocyty i makrofagi w ramach wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. TNF- $\alpha$  występuje w postaci związanej ze specyficznym receptorem transbłonowym (*transmembrane TNF- $\alpha$* , tmTNF- $\alpha$ ) oraz w formie niezwiązanej z receptorem, tzw. postaci rozpuszczalnej (*soluble TNF- $\alpha$* , sTNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  wywiera swoje działania poprzez pobudzenie dwóch receptorów: TNFR1 i TNFR2. Receptory TNFR1 są pobudzane zarówno przez sTNF- $\alpha$ , jak i tmTNF- $\alpha$ , natomiast TNFR2 głównie przez tmTNF- $\alpha$ . Zabłokowanie działania TNF- $\alpha$  zaburza równowagę między efektorowymi a regulatorowymi komórkami T. Leki, które hamują działanie TNF- $\alpha$ , odgrywają kluczową rolę w terapii szeregu przewlekłych chorób zapalnych o podłożu autoimmunologicznym, takich jak łuszczyca, reumatoidalne zapalenie stawów, nieswoiste zapalenie jelit, zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, oporna na leczenie hemofagocytarna limfocytoza, ogólnoustrojowe młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, choroba Behceta, zapalenie skórno-mięśniowe i toczeń. Chociaż TNF- $\alpha$  koordynuje odpowiedź zapalną podczas ostrej fazy zapalenia, jego nadmiar w fazie progresji choroby może prowadzić do niekorzystnych skutków. W przypadku COVID-19 TNF- $\alpha$  nie tylko zwiększa produkcję cytokin prozapalnych (głównie IL-1 i IL-6), ale także nasila wiązanie SARS-CoV-2 do ACE2 [8].

Do grupy przeciwciał anty-TNF- $\alpha$  należą [8]:

- infliximab (Remicade, Janssen);
- adalimumab (Humira, AbbVie);
- certolizumab pegol (Cimzia, UCB); zawarte w leku przeciwciało monoklonalne jest „pegyłowane”, czyli związane z glikolem polietylenowym;

- golimumab (Simponi, Janssen);
- vedolizumab (Entyvio, Takeda).

W oparciu o dotychczasowe wyniki badań klinicznych przypuszcza się, że terapia anty-TNF- $\alpha$  może spowalniać progresję COVID-19, zwłaszcza w ciężkich postaciach choroby. Badania oparte na bazie danych SECURE-IBD wykazały, że leczenie przeciwciałami anty-TNF- $\alpha$  odgrywa istotną rolę ochronną i zmniejsza odsetek pacjentów z COVID-19 ze złym rokowaniem. Jednakże w związku z działaniem immunosupresyjnym przeciwciała anty-TNF- $\alpha$  mogą nasilać przebieg i objawy zakażeń bakteryjnych (w tym prątkami gruźlicy), a także reaktywować utajone infekcje, np. wirusowe zapalenie wątroby typu B i gruźlicę [24].

### Inhibitory kinaz JAK

Kinazy JAK (kinazy janusowe) to rodzina niereceptorowych kinaz tyrozynowych biorących udział w transdukcji sygnału w szlaku JAK-STAT (ang. *Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*). Do tej rodziny należą cztery enzymy: JAK1, JAK2, JAK3 oraz Tyk2. Działanie kinaz JAK opiera się na fosforylacji białek STAT, które odpowiadają za dalsze przekazywanie sygnału od receptora do jądra komórkowego i uruchomienie procesu transkrypcji szeregu genów, w tym genów kodujących syntezę cytokin prozapalnych. Zakłada się, że inhibitory kinaz JAK, hamując szlak JAK-STAT, mogą wywierać korzystne działanie terapeutyczne u ciężko chorych pacjentów z COVID-19 [13].

Inhibitory kinaz JAK wywierają wielokierunkowe działanie przeciwzapalne poprzez jednoczesne hamowanie sygnałów wewnątrzkomórkowych uruchamianych przez kilka cytokin. Hamowanie aktywności JAK1 może w szerokim zakresie zakłócać przekazywanie sygnałów powstałych w wyniku pobudzenia receptorów dla cytokin należących do rodziny gp130 (np. IL-6, IL-27), rodziny IFN (np. IFN $\gamma$ ), rodziny łańcuchów  $\gamma$  (np. IL-4, IL-9, IL-7) i innych (np. IL-13, GM-CSF). Hamowanie aktywności JAK2 specyficznym zakłóca sygnały GM-CSF, IL-23, IL-12 i IL-6, podczas gdy inhibicja JAK3 silniej hamuje efekty pobudzenia receptorów łańcucha  $\gamma$  [13].

Przypuszcza się, że w terapii COVID-19 mogą znaleźć zastosowanie różne inhibitory kinaz JAK, a mianowicie: (1) inhibitory JAK1/JAK2/TYK2 (ruk-solitynib i jego strukturalny analog baricytynib), (2) selektywne inhibitory JAK2 (fedratynib) i (3) inhibitory JAK1/JAK2/JAK3/TYK2 (tofacytynib). Prawdopodobnie, ze względu na ich zdolność do blokowania różnych szlaków uczestniczących w złożonym,

wieloletowym procesie zapalenia, inhibitory kinaz JAK mogą być skuteczne nie tylko w ciężkich postaciach COVID-19, ale także u pacjentów z umiarkowaną postacią choroby [7].

**Ruksolitynib** (Jakafi, Novartis Europharm) jest stosowany w leczeniu osób dorosłych z mielofibrozą, polycytemią vera lub pacjentów dorosłych i dzieci w wieku  $\geq 12$  lat z oporną na leczenie glikokortykosteroidami ostrą lub przewlekłą chorobą typu przeszczep przeciw gospodarzowi. Z kolei baricytynib (Olumiant; Eli Lilly) jest obecnie stosowany u osób dorosłych z reumatoidalnym zapaleniem stawów lub atopowym zapaleniem skóry [7].

**Baricytynib** został pierwotnie wytypowany jako potencjalny lek w terapii COVID-19 dzięki wykorzystaniu technik sztucznej inteligencji. Ze względu na zdolność do wiązania się z wysokim powinowactwem z niektórymi kluczowymi regulatorami endocytozy przebiegającej przy udziale klatryny, baricytynib przypuszczalnie hamuje wnikanie SARS-CoV-2 do komórek gospodarza i wewnątrzkomórkowe składanie cząstek wirusa. Zaletą baricytynibu jest dawkowanie raz dziennie i małe spektrum działań niepożądanych. Dodatkowo słabe wiązanie leku z albuminami osocza krwi oraz marginalna interakcja z enzymami cytochromu P450 i białkami transportującymi leki pozwalają na dobrze tolerowane, jednocześnie stosowanie baricytynibu z innymi lekami anty-COVID-19 [7]. WHO zaleca stosowanie baricytynibu w połączeniu z glikokortykosteroidami u pacjentów w ciężkim/krytycznym stadium COVID-19 [21]. Należy jednakże pamiętać, że stosowanie baricytynibu wiąże się ze zwiększoną liczbą zdarzeń zakrzepowo-zatorowych, co biorąc pod uwagę fakt, że pacjenci z COVID-19 są narażeni na ryzyko ich wystąpienia, wymaga szczególnej ostrożności i monitorowania parametrów hemostazy [7].

**Tofacytynib** jest silnym i selektywnym inhibitorem rodziny kinaz JAK. Wykazano, że tofacytynib hamuje aktywność JAK1, JAK2 i JAK3 oraz w mniejszym stopniu kinazy TYK2. Hamowanie kinaz JAK1 i JAK3 przez tofacytynib osłabia działanie interleukin IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-15 i IL-21, a także interferonu typu I i typu II, co skutkuje modulacją odpowiedzi immunologicznej. Tofacytynib (Xeljanz, Pfizer) jest wskazany do stosowania w reumatoidalnym zapaleniu stawów, łuszczykowym zapaleniu stawów oraz czynnej postaci wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. U hospitalizowanych pacjentów COVID z zapaleniem płuc tofacitinib zmniejszył ryzyko niewydolności oddechowej i zgonu [7].

**Fedratinib** (Irebic, Bristol-Myers Squibb) hamuje produkcję IL-17 i IL-22 przez komórki TH17.

Ponieważ nieprawidłowa aktywacja JAK2 jest związana z nowotworami mieloproliferacyjnymi, w tym mielofibrozą i czerwieńcą prawdziwą, pierwotnie lek ten został zatwierdzony w terapii mielofibrozy. Powikłania zakrzepowo-zatorowe często występują w COVID-19, zwłaszcza w zaawansowanych stadiach choroby. Zwiększone ryzyko tych powikłań z COVID-19 jest szczególnie niebezpieczne dla pacjentów z mielofibrozą ze względu na istniejące wcześniej ryzyko powikłań zakrzepowych i/lub krwotocznych związanych z tą chorobą. A zatem stosowanie fedratinibu u pacjentów z mielofibrozą i COVID-19 przynosi podwójne korzyści [7].

### **Leki stosowane w terapii innych chorób (*repurposing drugs*) badane pod kątem możliwości ich wykorzystania w COVID-19**

**Fluwoksamina i fluoksetyna** to dobrze znane i szeroko stosowane leki przeciwdepresyjne z grupy selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny (SSRI). Co ciekawe, obydwa leki są także ligandami receptorów sigma-1 (S1R). S1R to wielofunkcyjne białko opiekuńcze występujące w siateczce śródplazmatycznej. S1R ułatwia prawidłowe fałdowanie nowosyntetyzowanych białek i zapobiega nagromadzeniu się białek nieprawidłowo pofałdowanych; powyższe działania zwiększają przeżywalność komórki. Podczas infekcji wirusowej nadekspresja S1R pełni rolę ochronną, zmniejszając stres oksydacyjny i hamując czynniki proapoptotyczne. Ponadto oba leki mają właściwości lizosomotropowe - hamują aktywność kwaśnej sfgingomielinazy w endolizosomach. Zmiana pH w endolizosomach może potencjalnie zaburzać tworzenie się wirusowych kompleksów replikacyjnych, a także utrudniać transport cząstek wirusa i uwalnianie wirionów na drodze pączkowania. Wymienione powyżej „dodatkowe” działania fluwoksaminy i fluoksetyny mogą zatem być wykorzystane w terapii zakażenia SARS-CoV-2 [25].

**Plitidepsyna (Aplidin)** wykazuje działanie przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe i immunosupresyjne. Lek ten został zatwierdzony w Australii do leczenia pacjentów z opornym na farmakoterapię szpiczakiem mnogim. Plitidepsyna blokując białko eEF1A2 (*host cell's eukaryotic-translation-elongation-factor-1-alpha*), hamuje translację SARS-CoV-2 ORF1a i ORF1ab, co skutkuje zmniejszoną ekspresją polipeptydów pp1a i pp1ab. Ponadto lek ten hamuje translację subgenomowych mRNA, prowadząc do zmniejszenia syntezy wirusowych białek strukturalnych i pomocniczych [25].

**Nitazoksanid**, lek zatwierdzony przez FDA do leczenia infekcji pierwotniakami przewodu pokarmowego

(głównie *Giardia lamblia* i *Cryptosporidium parvum*), wykazywał szerokie spektrum działania przeciwwirusowego *in vitro*. Nitazoksanid może działać na wiele etapów cyklu życiowego SARS-CoV-2, w tym endocytozę i fuzję błon, syntezę genomu wirusa, uwalnianie wirionów i odpowiedź zapalną. Wyniki klinicznego badania pilotażowego wykazały, że leczenie nitazoksanidem skróciło czas hospitalizacji, przyspieszyło eliminację wirusa i obniżyło poziomy cytokin prozapalnych [25].

### Inhibitory transbłonowej proteazy serynowej typu 2 (TMPRSS2)

SARS-CoV-2 może wnikać do komórek gospodarza drogą endosomalną i nieendosomalną. Przyłączenie wirusa do ACE2 indukuje zmiany konformacyjne w podjednostce S1 białka kolca i odsłania miejsce rozszczepienia S2' w podjednostce S2. W zależności od drogi wejścia miejsce S2' jest cięte przez różne proteazy, głównie transbłonową proteazę serynową typu 2 (TMPRSS2), zlokalizowaną w błonie komórkowej, oraz występującą w endosomach katepsynę L, która do swojej aktywności wymaga kwaśnego środowiska. Cięcie w miejscu S2' odsłania fragment podjednostki S2, który odpowiada za fuzję otoczki wirusa z błoną komórkową (droga nieendocytarna) lub z błoną pęcherzyków endosomalnych. TMPRSS2 znajduje się głównie na komórkach nabłonka płuc. Hamowanie TMPRSS2 uniemożliwia zatem wejście wirusa do wnętrza pęcherzyków płucnych za pośrednictwem ACE2 i hamuje jego dalszy cykl replikacyjny. Z kolei wzrost pH we wnętrzu endosomów hamuje aktywność katepsyny L oraz uniemożliwia fuzję błony pęcherzyków endosomalnych z osłonką wirusa i dalej uwolnienie do cytoplazmy materiału genetycznego wirusa [25].

W oparciu o powyższe dane sądzi się, że związki hamujące aktywność TMPRSS2 oraz podwyższające pH w endosomach mogą skutecznie hamować

namnażanie SARS-CoV-2. Do badanych pod kątem zastosowania w COVID-19 inhibitorów TMPRSS2 należą **mesylan kamostatu** (związek stosowany w leczeniu zapalenia trzustki, raka płaskonabłonkowego jamy ustnej i dystroficznej epidermolizy) i jego metabolity, **nafamostat** (stosowany w Japonii w leczeniu ostrego zapalenia trzustki oraz podczas krążenia pozaustrojowego, ponieważ posiada właściwości przeciwwakrzepowe) oraz **otamixaban** (niekompetycyjny inhibitor czynnika krzepnięcia Xa) [25].

### Podsumowanie

W ciągu ostatnich dwóch lat w terapii COVID-19 stosowano wiele leków. Część z nich, wykorzystywana wkrótce po wybuchu pandemii, została wycofana ze względu na niską skuteczność potwierdzoną badaniami klinicznymi oraz wysokie ryzyko wystąpienia poważnych działań niepożądanych.

Obecnie rekomendowane leczenie zależy od stopnia zaawansowania choroby. Podczas pierwszych dni od zakażenia wirusem SARS-CoV-2 w przypadku łagodnego bądź umiarkowanego nasilenia objawów stosuje się leki ograniczające wnikanie i namnażanie się wirusa w komórkach gospodarza. W przypadku rozwoju ciężkiej postaci choroby konieczne jest podanie leków immunomodulujących, które wyciszają nadmierną reakcję zapalną organizmu.

Nie ustają badania nad opracowaniem skutecznej terapii COVID-19. Największym dotychczasowym osiągnięciem jest opracowanie neutralizujących przeciwciał monoklonalnych skierowanych precyzyjnie przeciwko białku S wirusa SARS-CoV-2, a także doustnych leków przeciwwirusowych. Jednakże opracowanie i wprowadzenie na rynek nowego leku wymaga prowadzenie długotrwałych badań, a tym samym bardzo wysokich nakładów finansowych, dlatego prowadzi się badania nad wykorzystaniem już zarejestrowanych leków stosowanych w terapiach innych chorób.

### Bibliografia:

1. Artusi C. A., Romagnolo A., Ledda C., Zibetti M., Rizzone M.G., Montanaro E., Bozzali M., Lopiano L. (2021) COVID-19 and Parkinson's Disease: What Do We Know So Far? *Journal of Parkinson's Disease*, 11: 445–454.
2. Beigel J.H. (2021) What is the role of remdesivir in patients with COVID-19? *Current Opinion in Critical Care*, 27: 487–492.
3. Brant A. C., Tian W., Majerciak V., Yang W., Zheng Z.-M. (2021) SARS-CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication. *Cell & Bioscience*, 11: 136.
4. Costanzo M., Caterino M., Fedele R., Cevenini A., Pontillo M., Barra L., Ruoppolo M. (2022) COVIDomics: The Proteomic and Metabolomic Signatures of COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 2414.

5. De Clercq E. (2021) Remdesivir: Quo vadis? *Biochemical Pharmacology*, 193: 114800.
6. Drożdżał S., Rosik J., Lechowicz K., Machaj F., Szostak B., Przybyciński J., Lorzadeh S., Kotfis K., Ghavami S., Łos M. J. (2021) An update on drugs with therapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) treatment. *Drug Resistance Updates*, 59: 100794.
7. Gajjela B. K., Zhou M.M. (2022) Calming the cytokine storm of COVID-19 through inhibition of JAK2/STAT3 signaling. *Drug Discovery Today*, 27: 390–400.
8. Guo Y., Hu K., Li Y., Lu C., Ling K., Cai C., Wang W., Ye D. (2022) Targeting TNF- $\alpha$  for COVID-19: Recent Advanced and Controversies. *Frontiers in Public Health*, 10: 833967.
9. Iturricastillo G., Avalos Pérez-Urría E., Couñago F., Landete P. (2021) Scientific evidence in the COVID-19 treatment: A comprehensive review. *World Journal of Virology*, 10: 217–228.
10. Khiali S., Khani E., B Rouy S. B., Entezari-Maleki T. (2022) Comprehensive review on molnupiravir in COVID-19: a novel promising antiviral to combat the pandemic. *Future in Microbiology*, 17: 377–391.
11. Kuczyńska K., Zawilska J. B., Badura J., Strehl B. (2021) Wirus SARS-CoV-2: Pochodzenie, budowa i cykl replikacyjny. *Farmacja Polska*, 77: 143–149.
12. Lamb Y. N. (2022) Nirmatrelvir Plus Ritonavir: First Approval. *Drugs* 82: 585–591.
13. Levy G., Guglielmelli P., Langmuir P., Constantinescu S. (2022) JAK inhibitors and COVID-19. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 10: e002838.
14. Malone B., Campbell E. A. (2021) Molnupiravir: coding for catastrophe. *Nature Structural & Molecular Biology*, 28: 706–708.
15. Niknam Z, Jafari A, Golchin A, Danesh Pouya F, Nemati M, Rezaei-Tavirani M, Rasmi Y. (2022) Potential therapeutic options for COVID-19: an update on current evidence. *European Journal of Medical Research*, 27: 6.
16. Prasad M., Seth T., Elavarasi A. (2021) Efficacy and Safety of Convalescent Plasma for COVID-19: A Systematic Review and Meta-analysis. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, 37: 347–365.
17. Rommasi F., Nasiri M. J., Mirsaedi M. (2022) Immunomodulatory agents for COVID-19 treatment: possible mechanism of action and immunopathology features. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 477: 711–726.
18. Salabei J. K., Fishman T. J., Asnake Z, T., Ali A., Iyer U. G. (2021) COVID-19 Coagulopathy: Current knowledge and guidelines on anticoagulation. *Heart Lung*, 50: 357–360.
19. Scavone C., Mascolo A., Rafaniello C., Sportiello L., Trama U., Zoccoli A., Bernardi F. F., Racagni G., Berriño L., Castaldo G., Coscioni E., Rossi F., Capuano A. (2022) Therapeutic strategies to fight COVID-19: Which is the status artis? *British Journal of Pharmacology*, 179: 2128–2148.
20. Toft-Bertelsen T. L., Jeppesen M. G., Tzortzini E., Xue K., Giller K., Becker S., Mujezinovic A., Bentzen B. H., Andreas L. B., Kolocouris A., Kledal T. N., Rosenkilde M. M. (2021) Amantadine has potential for the treatment of COVID-19 because it inhibits known and novel ion channels encoded by SARS-CoV-2. *Communications Biology*, 4: 1347.
21. World Health Organization (2022) Therapeutics and COVID-19: Living guideline 22 April 2022. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.3>
22. Wu C. R., Yin W. C., Jiang Y., Xu H. E. (2022) Structure genomics of SARS-CoV-2 and its Omicron variant: drug design templates for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1–13.
23. Yang P., Wang J., Zheng R., Tan R., Li X., Liu X., Li Y., Yuan Z., Wang Y., Chen Q., Yu J. (2022) Convalescent plasma may not be an effective treatment for severe and critically ill covid-19 patients: A Systematic Review & Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Heart & Lung*, 53: 51–60.
24. Zawilska J. B., Lagodzinski A., Berezinska M. (2021) COVID-19: From the structure and replication cycle of SARS-CoV-2 to its disease symptoms and treatment. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 72: 479–501.
25. Zhao L., Li S., Zhong W. (2022) Mechanism of Action of Small-Molecule Agents in Ongoing Clinical Trials for SARS-CoV-2: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 13: 840639.
26. Zizzo G., Tamburello A., Castelnovo L., Laria A., Mumoli N., Faggioli P. M., Stefani I., Mazzone A. (2022) Immunotherapy of COVID-19: Inside and Beyond IL-6 Signalling. *Frontiers in Immunology*, 13: 795315.