



دانشگاه الزهرا (س) معاونت آموزشی و تحصیلات تکمیلی

گزارش علمی وضعیت بیماری کووید ۱۹

توسعه‌ی واکسن و داروی کووید ۱۹

کیمیا احدی عمندی^۱

مریم سادات شهیدی^۱

فاطمه صفاخواه^۱

سید ابوالقاسم قدمی^۲

دانشگاه الزهرا (س)

www.alzahra.ac.ir

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست فناوری - میکروبی ورودی ۱۳۹۸

^۲ استادیار گروه بیوتکنولوژی - دانشکده علوم زیستی

تشخیص مولکولی کووید ۱۹

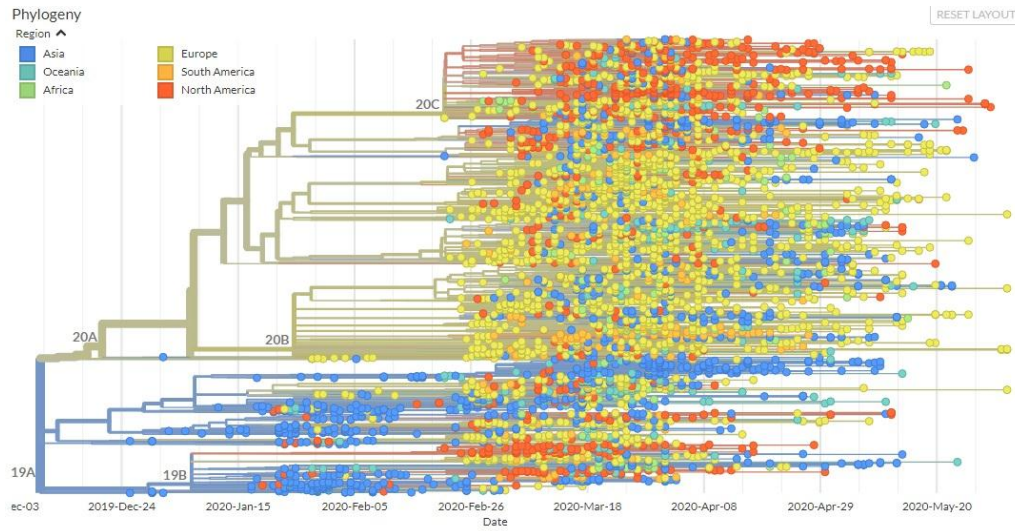
از آنجا که همه‌گیری کووید ۱۹ به سرعت در حال گسترش است، تقاضای فزاینده‌ای برای آزمایش سریع شناسایی ویروس وجود دارد. استاندارد فعلی برای تشخیص کووید ۱۹ به تشخیص ماده ژنتیکی ویروس RNA در یک نمونه خلط بستگی دارد. در حالی که این تکنیک حساس است و می‌تواند ویروس را در ابتدای عفونت تشخیص دهد، نیاز به واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دارد، فناوری‌ای که میزان مواد ژنتیکی را در سطوح قابل تشخیص تقویت می‌کند و چندین ساعت طول می‌کشد تا انجام شود. در هفته‌های اخیر، آزمایش‌های سریع مولکولی با استفاده از سیستم عامل‌های خودکار، تاییدیه‌های سریع را از طرف مقامات نظارتی دریافت کرده‌اند. این تست‌های خودکار زمانی در حدود ۴۵-۶۰ دقیقه زمان لازم دارد. برای شناسایی سویه‌های جهش یافته جدید، استفاده از توالی نسل بعدی برای شناسایی ژنوم ویروسی با جهش‌های خاص ضروری است. در حال حاضر، "تعیین توالی با روش سنتز" توسط شرکت Illumina و "ترتیب توالی نانوپورها" توسط Oxford Nanopore Technology برای شناسایی ژنوم ویروسی در سطح پایه استفاده می‌شود. فناوری توالی‌یابی نانو ممکن است به دلیل اندازه کوچک و جمع و جور بودن، برتری بیشتری نسبت به دیگر سیستم‌های ترتیب‌توالی داشته باشد، این امر باعث می‌شود انعطاف‌پذیری انجام توالی DNA/RNA در این زمینه در مکان‌های دور افتاده که فاقد آزمایشگاه‌های مرجع معتبر هستند، کامل باشد. علاوه بر هدف قرار دادن ژنوم، روش تشخیصی دیگری برای سارس-کووید-۲ با هدف شناسایی آنتی‌بادی‌های تولید شده توسط سیستم ایمنی بدن در برابر ویروس وجود دارد. چندین آزمایش "آنتی‌بادی" در طی چند هفته گذشته برای سارس-کووید-۲ گزارش شده است. اگرچه تست‌های مرتبط با آنتی‌بادی سریع‌تر هستند، استفاده از آنها برای تشخیص دارای خطا می‌باشد چرا که معمولاً چندین روز و تا دو هفته بعد از عفونت طول می‌کشد تا آنتی‌بادی قابل شناسایی باشد. بنابراین، آزمایش مبتنی بر آنتی‌بادی یک روش قابل اعتماد برای تشخیص کووید ۱۹ نیست. با این حال، آنها ممکن است برای آزمایش مبتنی بر جمعیت مفید باشد تا برآورد نسبت جمعیت با ایمنی و شناسایی افراد مستعد را برآورد کند. چنین اطلاعاتی ممکن است برای اقدامات بهداشت عمومی، از جمله پروتکل‌های تفکیک اجتماعی افراد مستعد نیز مفید باشد. نوع سوم آزمایش متکی به تشخیص پروتئین‌های ویروسی (آنتی‌ژن‌ها) است. احتمالاً مفید هستند زیرا به افزایش قابل تشخیص آنتی‌بادی‌های تولید شده بیمار بستگی ندارند. در سطح جهانی، چندین شرکت در تلاشند تا چنین مواردی را توسعه دهند. لیست کاملی از سنجش‌های تشخیصی مولکولی و ایمونولوژیکی تجاری شده و کسانی که در سطح جهان در حال توسعه‌ی این روش‌ها هستند را می‌توان در اینجا یافت:

<https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>

توسعه واکسن برای سارس-کووید-۲

در حال حاضر هیچ واکسنی برای جلوگیری از عفونت سارس-کووید-۲ وجود ندارد (۲۹ مارس ۲۰۲۰ - تاریخ تهیه این گزارش). با این حال، تلاش‌های زیادی در حال انجام است، از جمله واکسن‌های غیرفعال و ضعیف کلاسیک، واکسن‌های زیر واحد و ویروس مبتنی بر ویروس، و همچنین واکسن‌های جدیدتر مبتنی بر DNA و RNA هرکدام رویکرد مزایا و معایب خاص خود را دارند و همه‌ی رویکردها بطور همزمان توسعه می‌یابد تا یک واکسن موثر ایجاد شود. از بین چهار پروتئین ساختاری، پروتئین spike یا همان پروتئین‌های میله‌ای سطح ویروس بیشترین امیدبخشی را برای توسعه واکسن دارد از آنجایی که هم برای کرونا ویروس‌های مختلفی که با آن روبرو می‌شوند معمول است، و نیز در معرض سیستم ایمنی فرد قرار دارد و به بدن اجازه می‌دهد تا پاسخ ایمنی را فعال کرده و آن را برای محافظت در آینده به خاطر بسپارد. علاوه بر این، چنین واکسنی می‌تواند از ابتلا به عفونت جلوگیری

کند زیرا این امر باعث جلوگیری از ورود ویروس به سلول های مستعد می شود. با توجه به تجربه قبلی خود در زمینه تولید واکسن برای SARS در سال ۲۰۰۳ علیه سارس-کووید، دانشمندان شروع به استفاده از پروتئین S برای تولید واکسن کرده اند و یکی از این واکسن ها قبلاً وارد آزمایشات بالینی انسان شده است، در حالی که بقیه ی آنها نیز در راه هستند. با این حال ساخت واکسن به دلیل جهش های بسیاری که این ویروس دارد بنظر می رسد که بسیار دشوار باشد، شکل پایین که جهش های این ویروس از زمان ظهور تا تاریخ نگارش این نوشتار را نشان می دهد. برگرفته از وب سایت: <https://nextstrain.org/ncov/global> می باشد.



تاکنون اولین واکسنی که به آزمایشات بالینی وارد شده است واکسن mRNA-1273 است. این واکسن بر پایه RNA می باشد که از بخشی از کد ژنتیکی پروتئین spike تعبیه شده در نانوذرات لیپید خاص برای تزریق به بدن استفاده می کند. این واکسن توسط شرکت بیوتکنولوژی Moderna Therapeutics که قبلاً در مورد واکسن های سارس-کووید و مرس-کووید کار می کرده است و با سارس-کووید-۲ نیز سازگار شده است، ایجاد شده است. بخش RNA واکسن به سلول ها دستور می دهد پروتئین S را بیان کنند تا پاسخ ایمنی را برانگیزد. پس از نشان دادن پتانسیل در آزمایشات مربوط به حیوانات، اولین آزمایش بالینی فاز I این واکسن در ۱۶ مارس ۲۰۲۰ با همکاری NIH بر روی ۴۵ فرد سالم در سنین ۱۸-۵۵ سال آغاز شد. چندین واکسن مبتنی بر mRNA مانند CureVac، BNT162 توسط BioNTech & Pfizer در مراحل مختلف در حال توسعه هستند. واکسن mRNA مربوط به BioNTech ماینز آلمان اسید نوکلئیک را در نانوذرات خاص ۸۰ نانومتری یونیزل، گلیکول و لیپید قابل جدا شدن قرار می دهد. پیش بینی می شود آزمایش بالینی در آوریل سال ۲۰۲۰ آغاز شود.

تغییر هدف داروها برای کووید-۱۹

لزوم دستیابی به دارو برای درمان بیماران کووید-۱۹ در حداقل زمان، مسیر تغییر هدف داروهای ضدویروسی دیگر را برای درمان این بیماری نوظهور فراهم کرد. داروهایی که طی این مسیر مورد استفاده قرار گرفتند شامل lopinavir، ritonavir به صورت تنها و به همراهی اینترفرون بتا و داروهای دیگر چون chloroquine و remdesivir می شود. ترکیب دو داروی lopinavir و ritonavir (Kaletra) و نتایج آن مورد توجه قرار گرفته است، Kaletra دارویی برای درمان ایدز و شامل ترکیبی از lopinavir و ritonavir است. lopinavir یک مهارکننده ی پروتئازی است که مرحله ی آخر در تکثیر ویروس را مهار می کند، آنزیم ritonavir نیز با مهار آنزیم های کبدی CYP3A باعث کاهش سرعت تخریب lopinavir در کبد می شود و به این صورت به

جلوگیری از تکثیر ویروس توسط lopinavir کمک می‌کند. این دارو به همراه اینترفرون آلفا در چین، و به همراه chloroquine/hydroxychloroquine در کره‌ی جنوبی برای درمان کووید-۱۹ استفاده شد که با موفقیت‌هایی همراه بوده است اما تاثیرات مفید این دارو هنوز شک برانگیز است. داروی Favipiravir (Favilavir یا Avigan)، این دارو در واقع یک مهار کننده‌ی RNA پلیمرز وابسته به RNA است که دارویی موثر برای درمان عفونت‌های ویروسی مانند آنفلانزا بوده است. در شهرهای ووهان و شنزن Favipiravir را بر روی ۳۴۰ بیمار کرونایی امتحان کرده‌اند و نتایج مشرثری واقع شده است. کلروکوئین (Chloroquine/Hydroxychloroquine) به عنوان دارویی ارزان قیمت برای درمان مالاریا و داروی ضدالتهاب در درمان بیماری‌های خودایمنی نیز به کار می‌رود، در واقع به نظر می‌رسد که ویروس‌هایی مانند ابولا و مبرورگ که با افزایش pH اندوزومی تکثیر می‌شوند را مهار می‌کند. طبق مطالعات تاثیر ضدالتهابی این دارو می‌تواند ناشی از تنظیم افزایشی مهارکننده‌ی کینازهای وابسته به سایکلین‌ها مانند p21 باشد. مطالعات *in vitro* پتانسیل ضد ویروسی این دارو علیه کووید-۱۹ و تاثیر آن بر روی کاهش شدت ذات‌الریه را مشخص کرده است. Hydroxychloroquine آنالوگ Chloroquine است که دارای پایداری بیشتر و امنیت بالینی بالاتری بوده است، این آنالوگ باعث پاکسازی سریع‌تر بدن بیماران از ویروس می‌شود و همراه با آنتی‌بیوتیک آزیترومایسین با موفقیت استفاده شده است اما به هر روی مطالعات گسترده‌تری با طراحی کنترل شده برای این دارو لازم است تا بتوان آن را به طور گسترده برای درمان این بیماری به کار برد. داروی Remdesivir در واقع یک آنالوگ نوکلئوتیدی با طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضد ویروسی بر علیه بسیاری از RNA ویروس‌ها است که RNA پلیمرز وابسته به RNA را متوقف می‌کند. در مقایسه با داروهای مهارکننده‌ی پروتئازی که ویروس را در مراحل آخر تکثیر متوقف می‌کنند، Remdesivir باعث توقف ویروس در مراحل آغازی همانندسازی می‌شود. اما در حال حاضر این دارو در مرحله‌ی پژوهش بوده و هیچ تاییدیه‌ای برای درمان بیماری‌ها ندارد. داروی SNG001 یک داروی استنشاقی آزمایشی است که توسط شرکت بیوتکنولوژی انگلستان به نام Synairgen توسعه پیدا کرده است. ویژگی استنشاقی این دارو فرصت استفاده‌ی آسان از آن توسط یک مهپاش دستی را برای بیماران فراهم کرده است. دارو مورد نظر برای COPD یا بیماری شدید اختلال انسداد ریوی مزمن، توسعه پیدا کرده بود اما با توجه بحران کنونی کووید-۱۹، بررسی سریع این دارو روی ۱۰۰ بیمار برای مشخص کردن کارایی بالینی آن، در دستور کار قرار گرفته و به زودی آغاز می‌شود. داروی Tocilizumab که در موسسه‌ی وابسته به توکیو در سوییس مورد ساخت و بررسی قرار گرفت، در واقع یک داروی مهارکننده‌ی ایمنی علیه گیرنده‌ی اینترلوکین ۶ است که تولید اینترلوکین را در طول افزایش طوفانی سایتوکین‌ها، که در بیماران با شدت بالای بیماری مشاهده می‌شود، متوقف خواهد کرد.

کینازها: پروتئین کینازهای فعال کننده‌ی p12 (PAKs)، سرین/ترونین کینازهای سیتوزولی در مسیرهای پایین دست GTPase کوچک p21 هستند، که شامل اعضای Cdc42 و خانواده‌ی Ras می‌شوند. مطالعات مشخص کرده‌است که کیناز بیماری‌زای اصلی این گروه، PAK1، است که نقش اصلی را در ورود، تکثیر و پخش چندین ویروس مهم مانند آنفلانزا و HIV ایفا می‌کند. کروناویروس‌ها از ماکروپینوسیتوزیز برای ورود به سلول استفاده می‌کنند که این پروسه به فعالیت PAK1 وابسته است، در نتیجه هدف قرار دادن PAK1 برای درمان مداخله‌ای ضروری است. مهارکننده‌های PAK1 شامل کافئیک اسید و استر آن به نام پروپولیز، کتورولاک و تریپتولید هستند. متاسفانه تمام این مهارکننده‌ها با حلالیت و نفوذ سلولی دچار مشکل‌اند. گرچه، مهارکننده‌های جدید PAK1 مانند 15K که ۵۰۰ برابر پتانسیل بالاتری نسبت به ترکیب والد خود در مهار PAK1 دارد، Minnelide که در آن گروه هیدروکسیل تریپتولید فسفریله است تا حلالیت آن در آب را تا ۳۰۰۰ برابر بیشتر کند و فروندوزید، پتانسیل و ارزش احتمالی بیشتری در مهار تاثیرات ویروس دارند.

مداخله‌گرهای غیر دارویی: با توجه به در دسترس نبودن مداخله‌گرهای دارویی خاص و یا واکسن موثر برای مهار گسترش سارس کووید-۲ موثرترین پاسخ عمومی سلامت به این شیوع، پیروی از مداخله‌گرهای غیردارویی است. از جمله‌ی این مداخله‌گرها می‌توان تشخیص زودهنگام فرد بیمار و ایزوله کردن او، هوشیار بودن برای ردیابی کردن نمونه‌های ثانویه که با فرد اول در ارتباط بودند، محدودیت و یا ممنوعیت سفرها، سخت‌گیری در کاهش ارتباطات، فاصله‌گذاری اجتماعی و رعایت بهداشت و شست‌وشویی دست‌ها، اشاره کرد. این راهکارها نیازمند تعطیلی فضاها و امکانات عمومی غیرضروری، انتقال روش‌های معمول به روش‌های دیجیتال آموزشی برای موسسه‌های تحصیلی و دورکاری است. همکاری در استفاده از مداخله‌گرهای غیردارویی اگر سریعاً صورت بگیرد، موثرترین و سریع‌ترین روش مقابله با شیوع این بیماری است. استفاده از مداخله‌گرهای غیردارویی اقدامی موقت است تا زمانی که درک بهتری از ژنومیکس ویروسی صورت گرفته و اطلاعات به دست آمده با هم جمع شده تا مسیر توسعه‌ی مداخله‌گرهای دارویی به انتها برسد.

مسیرهای آینده برای تحقیقات مربوط به کووید-۱۹

جامعه‌ی جهانی برای مهار همه‌گیری کووید-۱۹ ابتدائاً با هدف کاهش تعداد افراد مبتلا، به حداقل رساندن محدودیت‌های بیش از حد بر روی سیستم‌های درمانی و کاهش تأثیرات اقتصادی و اجتماعی این همه‌گیری، در تلاش است. این تلاش‌ها به تعویق انداختن بیماری را در طول مدت موردنیاز برای توسعه، آزمایش و تایید یک واکسن موثر فراهم می‌کند. تا زمانی که واکسن موثر فراهم شود، مداخله‌گرهای غیردارویی خط اول دفاع برای مهار همه‌گیری باقی خواهند ماند. در نتیجه، داده‌های دقیق و به‌روز در رابطه با تعداد نمونه‌های تازه مبتلا شده و ویژگی‌های این نمونه‌ها می‌تواند برای مدل‌سازی و پیش‌بینی نمونه‌های جدید در آینده آگاهی لازم را فراهم آورد و برای ظرفیت درمانی پیش‌بینی شده برنامه‌ریزی لازم را اتخاذ کند. داده‌های دقیق و بهنگام از تخت‌های بیمارستانی و ظرفیت درمانی به همراه سرشماری روزانه برای این برنامه‌ریزی‌ها ضروری است. کووید-۱۹ تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر روی زیرساخت‌های اجتماعی، فرهنگی و اقتصادی جهان خواهد داشت که این تأثیرات ممکن است طولانی مدت بوده و برای جبران نیازمند سال‌ها زمان باشند. سیستم‌های درمانی باید اقدامات تنظیمی همگانی موثری برای مهار همه‌گیری‌های آینده در نظر داشته باشند. این درس حیاتی را کشورهایی که همه‌گیری سارس-کوویدهای گذشته را در کارنامه‌ی خود دارند آموخته‌اند و پاسخ آگاهانه‌ای به این همه‌گیری جهانی داده اند، از میان این کشورها می‌توان هنگ کنگ، سنگاپور، تایوان و غیره را نام برد. تشریح و بررسی‌های ژنومیک می‌تواند با بیماری‌زایی، سرایت و پاسخ به درمان در نمونه‌های ایزوله‌ی ویروسی یا جمعیت‌های منطقه ای یا جهانی، مرتبط باشد. درک آرایش ژنتیکی سویه‌های ویروسی نیز برای کشف دارو و طراحی واکسن موثر، ضروری است. برای آمادگی بهتر در مقابله با همه‌گیری بعدی، برنامه‌های هوش مصنوعی باید ارزشیابی شده تا بتوانند اثر عفونت را پیش از وقوع همه‌گیری تشخیص دهند. یک کمپانی هوش مصنوعی برای بیماری‌های عفونی در کانادا، به نام **Bluedot Inc**، فعالیت عفونی غیرمعمولی را در ووهان چین هشدار داده بود و پخش این بیماری را ۹ روز قبل از این‌که سازمان غذا و دارو شیوع را تایید کند گزارش کرده بود. در هنگام نمایان شدن این نوع عفونت‌های ویروسی، کمیته‌های جهانی باید با هم همکاری کرده و بهترین منابع تکنولوژیکی خود را برای مهار کردن این همه‌گیری کنونی بسیج کنند و از آمادگی‌های لازم برای روبرویی با همه‌گیری‌های آینده، اطمینان حاصل کنند.